

LAPORAN AKHIR
HIBAH PENELITIAN KERJASAMA ANTAR PERGURUAN TINGGI
(PEKERTI) TAHUN PELAKSANAAN 2013



DOCKING MOLEKULAR SENYAWA TURUNAN 2-AMINOTHIENO[2,3-D]PYRIMIDINE SEBAGAI INHIBITOR Hsp90

Tahun Ke 2 dari rencana 2 tahun

La Ode Aman, S.Pd, M.Si (NIDN: 0021047704)
Prof. Dr. Daryono (NIDN: 00090766502)

UNIVERSITAS NEGERI GORONTALO
Oktober 2013

HALAMAN PENGESAHAN

Judul Kegiatan : Docking Molekuler Senyawa Turunan 2-Aminothieno (2,3 - D) -
Pyrimide Sebagai Inhibitor Hsp90

Peneliti / Pelaksana

Nama Lengkap : LA ODE AMAN S.Pd, M.Si

NIDN : 0021047704

Jabatan Fungsional :

Program Studi : Pendidikan Kimia

Nomor HP : 081321781245

Surel (e-mail) : laode_aman@ung.ac.id

Anggota Peneliti (1)

Nama Lengkap : Dr. DARYONO HADI TJ

NIDN : 0009076502

Perguruan Tinggi : INSTITUT TEKNOLOGI BANDUNG

Institusi Mitra (jika ada)

Nama Institusi Mitra :

Alamat :

Penanggung Jawab :

Tahun Pelaksanaan : Tahun ke 2 dari rencana 2 tahun

Biaya Tahun Berjalan : Rp. 70.000.000,00

Biaya Keseluruhan : Rp. 150.000.000,00

Mengetahui
Dekan FMIPA UNG

(Drs. Asri Arbie, M.Si (Pjs))
NIP/NIK 196304171990031003

Gorontalo, 10 - 11 - 2013,
Ketua Peneliti,

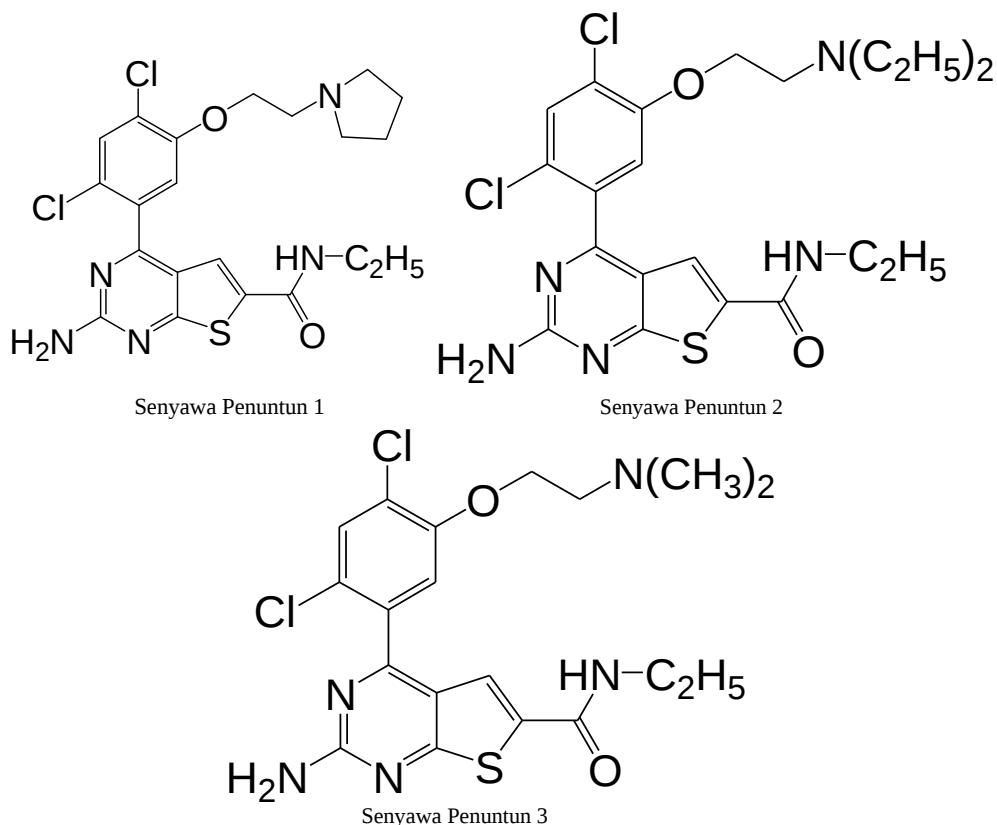
(LA ODE AMAN S.Pd, M.Si)
NIP/NIK

Menyetujui,
Ketua Lembaga UNG

(Dr. Feryane Eihawa, M.Si)
NIP/NIK 196912091993032001

RINGKASAN

Penelitian yang dilaksanakan adalah usaha penemuan senyawa baru turunan 2-aminthieno [2, 3-d] pyrimidine sebagai kandidat antikanker yang bekerja melalui penghambatan fungsi Hsp90. Senyawa baru dimaksud merupakan pengembangan tiga senyawa penuntun (lead compound) yaitu Senyawa Penuntun 1, Senyawa Penuntun 2 dan Senyawa Penuntun 3.



Tujuan penelitian adalah mendesain senyawa baru turunan 2-aminthieno [2,3-d]pyrimidine sebagai inhibitor Hsp90 yang didasarkan kepada informasi QSAR.

Hubungan kuantitatif struktur dan aktivitas senyawa turunan 2-Aminothieno[2,3-d]pyrimidine menerangkan tiga prediktor yang berpengaruh terhadap aktivitas senyawa, yakni koefisien partisi (logP), kelarutan (logS), dan energi LUMO (E-LUMO), dengan persamaan QSAR terbaik:

$$\text{FP IC}_{50} = 3.487(\pm 0.477) - 0.58(\pm 0.214) * E_{\text{LUMO}} + 0.672(\pm 0.105) * \log S + 0.367(\pm 0.076) * \log P, \text{ dengan } n = 14, r = 0.918, r^2 = 0.842, q^2 = 0.472172, F = 17.749 \text{ dan Sig.} = 0.000.$$

Diperoleh sebelas senyawa baru turunan 2-Aminothieno[2,3-d] pyrimidine yang memiliki aktivitas teoritis lebih baik dan mendekati senyawa penuntun yang terdiri dari 4 senyawa baru turunan senyawa penuntun 1, 5 senyawa baru turunan senyawa penuntun 2 dan 2 senyawa baru turunan senyawa penuntun 3. Secara lengkap diuraikan pada tabel berikut:

No	Senyawa	X	Y	Aktivitas
1	Senyawa Penuntun 1	Cl	Cl	0.058
2	Senyawa 1-8	CF ₃	Cl	0.008
3	Senyawa 1-63	F	CF ₃	0.046
4	Senyawa 1-17	Cl	CH ₃	0.057
5	Senyawa 1-24	CF ₃	CH ₃	0.061
6	Senyawa Penuntun 2	Cl	Cl	0.056
7	Senyawa 2-25	C ₄ H ₉	Y=Cl	0.105
8	Senyawa 2-02	Cl	H	0.136
9	Senyawa 2-58	CF	H	0.057
10	Senyawa 2-62	CF ₃	NO ₂	0.146
11	Senyawa 2-07	Cl	F	0.149
12	Senyawa Penuntun 3	Cl	Cl	0.056
13	Senyawa 3-27	C ₄ H ₉	CH ₃	0.002
14	Senyawa 3-31	C ₄ H ₉	F	0.108

Manfaat yang diperoleh dari penelitian ini adalah TPP memiliki keahlian dan kompetensi untuk melaksanakan penelitian secara mandiri berbasis Kimia Komputasi di Laboratorium Kimia Komputasi, Jurusan Pendidikan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Negeri Gorontalo. Selain itu, TPP dapat memiliki kapasitas untuk mengelola Laboratorium Kimia Komputasi di Jurusan Pendidikan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Negeri Gorontalo.

Kata Kunci: QSAR, 2-aminthioeno[2,3-d]pyrimidine, Hsp90, Docking Molekular

PRAKATA

Atas berkat rahmat Tuhan yang maha kuasa, kegiatan penelitian dengan judul “Docking Molekular Senyawa Turunan 2-aminothieno[2,3-d]pyrimidine sebagai Inhibitor Hsp90 telah selesai dilaksanakan. Penelitian ini merupakan upaya pengembangan senyawa antikanker dengan senyawa target Heat Shock Protein (Hsp90), suatu protein sel yang terutama banyak ditemukan pada sel kanker. Adapun senyawa penuntun yang digunakan merupakan senyawa turunan 2-aminothieno[2,3-d]pyrimidine. Sebelumnya, senyawa ini sudah dipelajari tentang kemampuannya sebagai antikanker dengan mekanisme kerja sebagai inhibitor Hsp90.

Melalui kesempatan ini, Tim Peneliti mengucapkan terima kasih atas kesempatan waktu dan biaya penelitian kepada kami untuk melaksanakan penelitian ini, sebagai berikut:

- Direktorat Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat, Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan.
- Rektor Universitas Negeri Gorontalo;
- Ketua Lembaga Penelitian (Lemlit) Universitas Negeri Gorontalo;
- Dekan Fakultas MIPA Universitas Negeri Gorontalo;
- Ketua Jurusan Kimia FMIPA Universitas Negeri Gorontalo; dan
- Kepala Laboratorium Kimia Jurusan Kimia FMIPA Universitas Negeri Gorontalo.

Semoga dukungan dan kerjasama yang diberikan sehingga penelitian ini dapat terlaksana beroleh nilai ibadah di sisi Tuhan yang maha Kuasa. Amin
Demikian, terima kasih.

Gorontalo, Oktober 2013
Ketua Tim Peneliti

La Ode Aman, S.Pd, M.Si

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
RINGKASAN	iii
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL.....	vi
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR LAMPIRAN	vii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
BAB 3. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	22
BAB 4. METODE PENELITIAN	24
BAB 5. HASIL DAN PEMBAHASAN	29
BAB 6. KESIMPULAN DAN SARAN	56
DAFTAR PUSTAKA	58
LAMPIRAN	59

DAFTAR TABEL

Tabel 1	Aktivitas antikanker beberapa senyawa turunan 2-aminothieno[2,3- <i>d</i>]pyrimidine	2
Tabel 2	Harga π Beberapa Substituen	14
Tabel 3	Daftar Deskriptor	25
Tabel 4	Hasil Perhitungan Deskriptor	31
Tabel 5	Daftar Model dengan Rasio F_{hitung} terhadap $F_{\text{tabel}} \geq 1$	33
Tabel 6	Model Kombinasi Prediktor dengan Nilai $RMSE \leq 1$	34
Tabel 7	Hasil perhitungan kuadrat validasi silang LOO (q^2).....	35
Tabel 8	Analisis \$Z\$-SCORE model 84	36
Tabel 9	Analisis \$Z\$-SCORE model 84 dihitung tanpa data senyawa 12.....	37
Tabel 10	Aktivitas teoritis Turunan 2-aminothieno[2,3- <i>d</i>]pyrimidine dengan Senyawa Induk 1	41
Tabel 11	Senyawa baru dengan aktivitas teoritis lebih baik atau mendekati Senyawa Induk 1	43
Tabel 12	Aktivitas teoritis Turunan 2-aminothieno[2,3- <i>d</i>]pyrimidine dengan Senyawa Induk 2	44
Tabel 13	Senyawa baru dengan aktivitas teoritis lebih baik atau mendekati Senyawa Induk 2	45
Tabel 14	Aktivitas teoritis Turunan 2-aminothieno[2,3- <i>d</i>]pyrimidine dengan Senyawa Induk 3	47
Tabel 15	Senyawa baru dengan aktivitas teoritis lebih baik atau mendekati Senyawa Induk 3	48
Tabel 16.	Perhitungan parameter docking senyawa uji terhadap reseptor Hsp90 α	54

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1 Struktur molekul turunan 2-aminothieno[2,3- <i>d</i>]pyrimidine	2
Gambar 2 Harga logP	14
Gambar 3 Efek Elektronik	18
Gambar 4 Ilustrasi halangan sterik	19
Gambar 5 Hidrogenasi cincin aromatik menurunkan interaksi van der waals dengan daerah hidrofobik flat situs ikatan reseptor	19
Gambar 6 Ikatan Rangkap	20
Gambar 7 Tipe Reseptor	21
Gambar 8 Senyawa Penuntun	27
Gambar 9 Skema Topliss	28
Gambar 10 <i>Scatter plot</i> FP IC ₅₀ eksperimen <i>versus</i> FP IC ₅₀ prediksi model 84 setelah data senyawa 12 dan senyawa 04 dikeluarkan	38
Gambar 11 Senyawa penuntun 1	40
Gambar 12 Senyawa penuntun 2 dan 3	40
Gambar 13 Visualisasi struktur molekul reseptor Hsp90α pada Arguslab. Tampak <i>native ligand</i> (warna kuning) berada didalamnya	49
Gambar 14 Visualisasi struktur molekul <i>native ligand</i> reseptor Hsp90α setelah atom-atom lain dari semua residu disembunyikan (<i>hide</i>)	50
Gambar 15 Visualisasi native ligand (render mode: ballcylinder) berada diantara binding site reseptor Hsp90α (render mode: wireframe). Atom-atom lain dari molekul Hsp90α disembunyikan (<i>hide</i>).	52
Gambar 16 Interaksi senyawa 08 dengan binding site Hsp90α	52
Gambar 17 Interaksi senyawa 63 dengan binding site Hsp90α	53
Gambar 18 Interaksi senyawa 17 dengan binding site Hsp90α	53
Gambar 19 Interaksi senyawa 08 dengan binding site Hsp90α	54
Gambar 20 Labeling atom penyusun senyawa uji	55

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Personalia Tenaga Peneliti	60
Lampiran 2 Manuskrip Makalah untuk Seminar/Konferensi Internasional.....	61
Lampiran 3 Draft Publikasi Jurnal.....	73
Lampiran 4 Korespondensi (e-mail) sebagai progress Publikasi Jurnal	81
Lampiran 5 Registrasi pada The 3 rd International Conference on Computational for Science and Technology (ICCST-2) in Islamic Azad University, Iran, 6-8 Juli 2014	82
Lampiran 6 Dokumentasi ketika mempresentasikan hasil penelitian Docking Molekular Senyawa Turunan 2-aminothieno[2,3-d]pyrimidine sebagai Inhibitor Hsp90” pada the 2nd International Conference on Computational for Science and Technology (ICCST-2) yang dilaksanakan di Nigde University, Nigde, Turkey tanggal 9 sampai 11 Juli 2012 (Penelitian Tahun 1).....	86

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Uraian Umum

Brough P.A., dkk. (2009) telah berhasil mensintesis dan menguji aktivitas antikanker sejumlah senyawa turunan geldanamycin (GM) dan radicicol (RD), yakni beberapa turunan 2-aminothieno[2,3-d]pyrimidine sebagaimana ditunjukkan pada Gambar 1 dengan variasi substituen R seperti ditunjukkan pada Tabel 1. Mekanisme kerja senyawa turunan 2-aminothieno[2,3-d]pyrimidine sebagai antikanker adalah dengan penghambatan fungsi Hsp90 (Heat Shock Protein 90).

Hsp90 merupakan salah satu protein sel yang jumlahnya sangat melimpah mencapai 1 sampai 2% dari total protein sel. Hsp90 berperan melindungi sel ketika mendapatkan tekanan (stressing) dengan kenaikan temperatur. Ketika sel mengalami pemanasan atau suhu sel naik, jumlah Hsp90 bisa meningkat mencapai 4 sampai 8% dari total protein seluler.

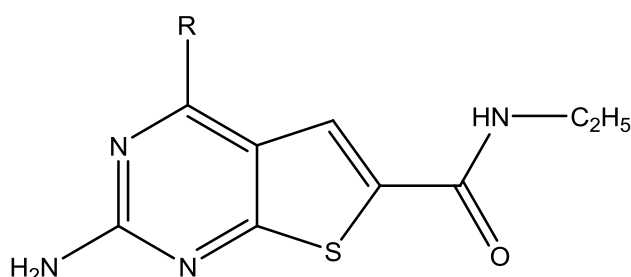
Hsp90 berperan penting didalam sel karena berfungsi mengontrol konformasi, stabilitas, aktivasi, disposisi intraseluler serta penggantian proteolitik sejumlah protein penting yang terlibat dalam pertumbuhan, diferensiasi dan kelangsungan hidup sel. Dengan kata lain, Hsp90 berperan mencegah terjadinya denaturasi protein sel.

Berbagai fungsi Hsp90 terhadap kelangsungan hidup sel, tidak hanya terdapat sel normal tetapi juga pada sel kanker. Di dalam sel unstressed (sel normal), Hsp90 memiliki peranan seperti membantu folding protein, transport intraseluler, perawatan (maintanance) dan degradasi protein, serta memfasilitasi signal sel. Pada sel kanker, Hsp90 dapat menstabilkan protein PI3K dan AKT. Dengan kata lain, penghambatan (inhibition) fungsi Hsp90 pada sel kanker berarti mencegah terjadinya apoptosis dengan penghambatan jalur signal PI3K/AKT.

Fakta lain menunjukkan bahwa Hsp90 yang jumlahnya mendominasi sel kanker mampu berikatan dengan inhibitor Hsp90 dengan kekuatan ikatan 100 kali lebih rapat dibanding dengan Hsp90 dari sel normal. Di samping itu, banyak protein lain yang bertanggungjawab terhadap munculnya gejala kanker memiliki hubungan ketergantungan dengan Hsp90 (Hsp90 dependent), seperti beberapa enzim kinase (ERBB2, B-RAF, C-RAF, dan CDK4), reseptor hormon (reseptor androgen dan estrogen) dan berbagai protein lain (seperti mutan p53, dan subunit katalitik hTERT).

Oleh karena itu, Hsp90 telah menjadi target utama dalam pengembangan kemoterapi kanker. Banyak sel kanker yang mengalami penggandaan molekular apabila diberikan penghambatan (inhibition) fungsi Hsp90 akan mengalami pengendalian proliferasi sel.

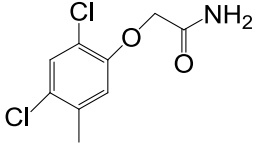
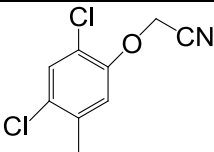
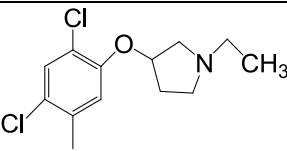
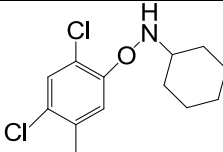
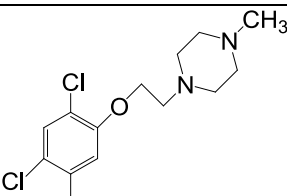
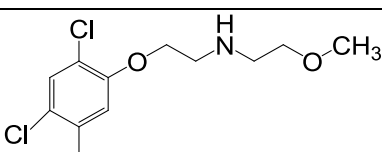
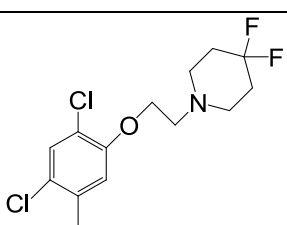
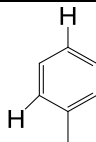
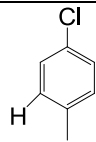
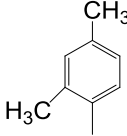
Sekarang ini, pendekatan docking molekular telah rutin digunakan dalam perancangan obat modern untuk membantu memahami interaksi obat-reseptor. Banyak referensi menunjukkan bahwa tehnik komputasi interaksi obat-reseptor sangat membantu dalam perancangan kandidat obat baru dengan potensi penghambatan yang lebih baik. Di sisi lain, sejauh pengamatan peneliti, belum ada penelitian dengan menerapkan metode docking molekular dalam mempelajari senyawa turunan 2-aminothieno[2,3-*d*]pyrimidine sebagai inhibitor Hsp90.

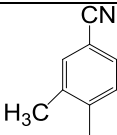
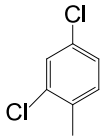


Gambar 1. Struktur molekul turunan 2-aminothieno[2,3-*d*]pyrimidine

Tabel 1. Aktivitas antikanker beberapa senyawa turunan 2-aminothieno[2,3-*d*]pyrimidine

Senyawa	R	FP IC ₅₀ Eksperimen
Senyawa 01		0.056
Senyawa 02		0.058
Senyawa 03		0.127
Senyawa 04		0.08

Senyawa 05		0.029
Senyawa 06		0.080
Senyawa 07		0.176
Senyawa 08		0.087
Senyawa 09		0.102
Senyawa 10		0.084
Senyawa 11		0.058
Senyawa 12		5.7
Senyawa 13		0.72
Senyawa 14		0.34

Senyawa 15		0.30
Senyawa 16		0.23

1.2 Lokasi Penelitian

Penelitian ini dikerjakan di Laboratorium Kimia Komputasi Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Negeri Gorontalo.

1.3 Hasil Yang Diharapkan

Hasil yang diharapkan dari penelitian ini adalah adanya senyawa baru turunan 2-aminthieno [2,3-d]pyrimidine yang diprediksi memilih kemampuan sebagai antikanker yang bekerja melalui penghambatan fungsi Hsp90.

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kanker

Pada bagian ini, sebagai pengantar memuat perkembangan penyakit kanker. Selanjutnya disajikan pengertian tentang kanker dan sel kanker, penyebab terbentuknya sel kanker, mekanisme pembentukan sel kanker, jenis-jenis penyakit kanker, pengobatan kanker, dan terakhir cara kerja obat antikanker.

2.1.1 Pengantar

Persatuan Bangsa-Bangsa (PBB) melalui organisasi kesehatan dunia atau World Health Organization (WHO) telah memberikan perhatian yang serius terhadap penanganan penyakit kanker. Dengan program pengawasan kanker nasional (*national cancer control programme*), WHO merancang program dalam rangka pengurangan kasus kanker dan resiko kematian akibat penyakit ini (www.who.int). Penyakit kanker telah menjadi persoalan kesehatan yang menjadi perhatian berbagai negara. Ini disebabkan kontribusi penyakit kanker terhadap angka kematian penduduk menunjukkan posisi yang tinggi. International Agency for Research Cancer (IARC), lembaga riset kanker di bawah naungan WHO melaporkan bahwa pada tahun 2008 jumlah kejadian penyakit kanker di seluruh dunia mencapai 12.667.500 penderita atau sekitar 0.19% dari total penduduk bumi. Dari seluruh kejadian kanker tersebut, sebanyak 7.571.500 orang atau sekitar 59.77% diantaranya meninggal dunia (www.iarc.fr). Data yang dilaporkan oleh *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC)—sebuah lembaga kesehatan di Amerika Serikat—kanker merupakan penyebab kematian nomor 2 di negara tersebut setelah penyakit jantung. Di Eropa terdapat tiga juta kasus kanker baru tiap tahun dengan angka kematian sebesar dua juta. Di Indonesia, kanker menjadi penyumbang kematian ketiga terbesar (www.who.int, www.id.wikipedia.org).

2.1.2 Pengertian

Kanker didefinisikan sebagai penyakit yang ditandai dengan kelainan pertumbuhan sel, yaitu sel mengalami pembelahan yang tidak terkendali. Sel-sel tersebut kemudian memiliki kemampuan menyerang jaringan biologis di dekatnya (invasi), dan juga mampu bermigrasi ke jaringan tubuh yang lain (metastasis). Tumor adalah istilah kedokteran lain—selain kanker—yang merujuk pada massa jaringan tubuh yang tidak normal yang dikarenakan pertumbuhan sel yang tidak terkendali. Tumor yang dalam bahasa latin berarti “pembengkakan”, dapat berupa “tumor ganas” sehingga dikategorikan bersifat kanker, dan “tumor jinak” sehingga dikategorikan “tidak bersifat kanker”. Tumor jinak tidak selalu mengancam jiwa karena tidak mengalami metastasis, sedangkan tumor ganas (kanker) mampu

menyerang jaringan lain dengan bermetastasis. Kanker atau tumor juga sering dikenal dengan istilah “neoplasma” (Foye, W.O., 1996, <http://id.wikipedia.org>).

Dalam pertumbuhan sel, dikenal istilah daur sel. Daurl sel adalah jangka waktu mulai lahirnya sel baru sampai sel tersebut mampu membelah diri. Dalam pembelahan sel, duplikasi DNA merupakan peristiwa paling penting karena bahan genetik DNA harus dijiplak dengan tepat sehingga setiap sel anak menerima versi lengkap. Dalam inti sel, replikasi DNA terjadi hanya selama satu bagian khas dari daurl sel yang disebut S (dari kata Sintesis). Antara dimulainya pembelahan dan S, ada periode yang disebut G_1 (Gap 1). Selama periode ini, sel tumbuh tetapi tidak membentuk DNA. Selama G_1 disintesis banyak molekul, seperti enzim-enzim. Periode lain disebut G_2 , yaitu berlangsung antara S dan periode mitosis (M). Pada periode G_2 ini, kedua jiplakan DNA memisah. Pada sel jaringan, terdapat sel-sel yang dalam keadaan tumbuh yaitu menempuh daurl sel, tetapi terdapat pula sel-sel yang dalam keadaan istirahat, yaitu sel-sel yang terus mempergunakan energi tetapi tidak membentuk replikasi DNA dan tidak membelah diri. Keadaan istirahat ini disebut G_0 . Sel memasuki keadaan G_0 (keadaan istirahat) dari periode G_1 , tetapi bukan dari keadaan S atau G_2 . Sel yang dalam keadaan istirahat sama dengan sel dalam periode G_1 , keduanya mengandung DNA dalam jumlah yang sama. Ini menunjukkan bahwa keadaan G_1 mempunyai mekanisme khusus tertentu apakah akan melanjutkan daurl sel atau pindah ke keadaan G_0 . Sel dapat pindah dari G_0 ke G_1 apabila dipasok dengan apa-apa yang menjadi kekurangannya, atau dikurangi dari apa-apa yang menjadi kelebihan mereka yang menjadikannya memasuki keadaan istirahat (Foye, W.O., 1996).

Pada sel kanker, mekanisme daurl sel tidak berjalan sebagaimana mestinya. Apabila sel normal dapat memasuki keadaan G_0 atau istirahat sehingga terjadi kontrol perkembangan sel jaringan dimana terdapat saat sel mengalami pembelahan, dan ada saat berada dalam kondisi istirahat. Tetapi pada sel kanker yang terjadi adalah perkembangan sel akan terus berada dalam daurl sel sehingga pembelahan sel akan terjadi terus-menerus. Memang, daurl sel kanker dapat pula dihentikan, tetapi keadaan berhenti pertumbuhan sel kanker dapat terjadi dalam keadaan mana saja dalam daurl sel, tidak dalam keadaan istirahat. Akibatnya sel akan berada dalam keadaan yang tidak normal (Foye, W.O., 1996).

2.1.3 Penyebab Terbentuknya Sel Kanker

Zat yang memicu terbentuknya sel kanker dinamakan karsinogen. Karsinogenesis adalah sebuah proses berjenjang terbentuknya sel kanker sebagai akibat paparan karsinogen. Terdapat empat jenjang karsinogenesis berdasarkan paparan karsinogen, yaitu (i) *initiating agent*, yaitu karsinogen yang mampu menginisiasi terbentuknya sel kanker, tetapi belum tentu menjadi sel kanker, (ii) *promoting agent*, yaitu karsinogen yang mampu mengekspansi sel terinisiasi, (iii) *progressor agent*, yaitu

karsinogen yang mampu merubah sel terinisiasi atau sel terpromosi menjadi sel yang potensial menjadi sel kanker, dan (iv) *complete carcinogen*, yaitu karsinogen yang mampu merubah sel normal menjadi sel kanker (Foye, W.O., 1996).

Faktor-faktor yang dapat memicu terbentuknya sel kanker (Foye, W.O., 1996) dibagi dalam 3 (tiga) kelompok, yaitu:

- (a) Virus
- (b) Zat-zat Kimia
- (c) Zat Radioaktif

2.1.4 Mekanisme Pembentukan Sel Kanker

Beberapa mekanisme pembentukan sel kanker (Foye, W.O., 1996), adalah sebagai berikut:

- (d) Mutasi. Mutasi adalah proses hilangnya, penggantian atau penyusunan kembali DNA dalam sel. Mutasi terjadi karena paparan mutagen, dan mutagen sendiri merupakan zat yang dapat memicu terjadinya mutasi. Hubungan mutagen dan karsinogen adalah bahwa semua zat atau bahan karsinogen merupakan mutagen (menyebabkan mutasi), tetapi tidak semua mutagen merupakan karsinogen.
- (e) Penambahan bahan genetik baru, yaitu pembentukan sel kanker atau tumor akibat penyuntikan virus penyebab tumor ke dalam gen sel.
- (f) Epidegentik, adalah mekanisme pembentukan sel kanker seperti pembentukan sel dari sel tunggal dan terus melakukan pembelahan sehingga membentuk jenis sel khusus yang berbeda-beda yang disebut diferensiasi.

2.1.5 Jenis-jenis Penyakit Kanker

Terdapat 10 (sepuluh) jenis kanker yang banyak ditemukan dan mematikan (NCI, www.cancer.gov) yaitu:

- (a) Kanker Paru-paru dan Bronkial. Penyebab utama kanker paru-paru dan bronkial adalah kebiasaan merokok dan penggunaan produk tembakau. Ada dua jenis utama kanker paru-paru yaitu kanker paru-paru non-sel kecil (paling umum) dan kanker paru-paru sel kecil (menyebarkan lebih cepat).
- (b) Kanker Colon dan Rektum. Kanker usus besar tumbuh di jaringan usus besar, sedangkan kanker rektum tumbuh beberapa inci dari usus besar dekat anus. Kebanyakan kasus dimulai dari sel jinak berupa gumpalan kecil atau disebut polip yang dari waktu ke waktu menjadi kanker.
- (c) Kanker Payudara. Kanker ini biasanya terbentuk di dalam saluran yang membawa susu ke kelenjar susu yang menghasilkan susu pada wanita.

- (d) Kanker Pankreas. Kanker pankreas dimulai di jaringan-jaringan pankreas yang membantu pencernaan dan regulasi metabolisme. Deteksi dan intervensi awal sulit karena seringkali perkembangan sel kankernya sulit diduga dan cepat.
- (e) Kanker Prostat. Kanker ini merupakan penyebab utama kedua kematian pada pria, setelah kanker paru-paru dan bronkial. Kanker prostat biasanya mulai tumbuh perlahan-lahan di kelenjar prostat, yang memproduksi air mani untuk mengangkut sperma.
- (f) Leukemia. Ada banyak jenis leukemia, tetapi semua mempengaruhi darah terutama jaringan pembentukan tubuh seperti sumsum tulang dan sistem limfatik. Dan mengakibatkan overproduksi dari sel darah putih yang abnormal. Jenis Leukemia diklasifikasikan berdasarkan seberapa cepat perkembangan selnya dan bagian sel mana yang mempengaruhi.
- (g) Non-Hodgkin Lymphoma. Kanker ini mempengaruhi limfosit (sejenis sel darah putih) dan ditandai oleh kelenjar getah bening yang membesar, demam dan penurunan berat badan. Ada beberapa jenis Non-Hodgkin lymphoma, berdasarkan seberapa cepat kanker itu tumbuh dan jenis limfosit yang terkena dampak.
- (h) Kanker Hati dan Saluran Empedu Intrahepatic. Sebagian besar kanker hati dimulai di tempat lain dan kemudian menyebar ke hati. kanker hati berkaitan erat terkait dengan kanker saluran empedu intrahepatic, yang terjadi di saluran yang membawa empedu dari liver ke usus kecil.
- (i) Kanker Ovarium. Usia rata-rata perempuan didiagnosis terkena kanker ovarium sekitar 63 tahun. Kanker ini lebih mudah untuk diobati tapi sulit dideteksi pada tahap awal. Gejala-gejalanya adalah ketidaknyamanan perut, desakan untuk buang air kecil dan nyeri panggul.
- (j) Kanker Esophageal. Kanker ini dimulai pada sel yang melapisi esofagus (saluran yang membawa makanan dari tenggorokan ke perut) dan biasanya terjadi di bagian bawah kerongkongan.

2.1.6 *Pengobatan Kanker*

Ada tiga macam cara pengobatan atau perawatan akibat penyakit kanker (Foye, 1996) yaitu operasi atau pembedahan, radioterapi, imunoterapi dan kemoterapi.

Pembedahan merupakan salah satu solusi dalam pengobatan kanker. Namun demikian penanganan kanker dengan pembedahan umumnya hanya berhasil kepada sel kanker yang belum yang mengalami metastasis. Tetapi, apabila sudah menyebar (mengalami metastasis) ke organ-organ lain, tidak dapat dilakukan dengan pembedahan. Penanganan beberapa atau bahkan semua jenis penyakit kanker biasanya dilakukan bersama-sama secara kombinasi cara pembedahan atau operasi, dan cara pengobatan lainnya, radioterapi/kemoterapi.

Radioterapi adalah penggunaan radioaktif untuk menghancurkan sel tumor. Keuntungan cara pengobatan kanker secara radioterapi adalah hanya menyebabkan kerusakan sekecil mungkin terhadap jaringan normal di sekitarnya. Gabungan terapi pembedahan dan radiasi dapat lebih memberi keuntungan karena radioterapi dapat menghancurkan sel kanker mikroskopik yang dapat tersisa setelah pembedahan. Selain itu, *treatment* radiasi dapat memperkecil tumor besar, menurunkan kambuh setempat, dan dapat menurunkan kemungkinan metastasis. Cara radioterapi dapat mempertahankan fungsi organ, atau mengurangi efek perusakan akibat prosedur pembedahan sampai sekecil mungkin. Jenis-jenis sinar radiasi yang biasa digunakan untuk terapi kanker adalah Sinar Gamma (γ) dari Kobalt-60 (Co-60), dan Sinar-X.

Imunoterapi adalah pengobatan kanker melalui pemanfaatan reaksi imun di dalam tubuh penderita untuk menghancurkan sel kanker. Biasanya digunakan melalui kombinasi dengan cara perawatan kanker lain, pembedahan dan radioterapi. Cara imunoterapi merupakan pengobatan lanjutan karena dapat menanggungkan munculnya kembali sel kanker untuk jangka waktu yang lama. BCG (*Bacillus Calmette Guérin*) sebagai turunan bakteri *Mycobacterium bovis* yang telah dilemahkan, merupakan zat imunoterapi karena meningkatkan secara aktif respon kekebalan umum dan merangsang makrofag (sel yang dapat bergerak dan mampu menetralkan sel yang menyerang). BCG bersifat nonspesifik karena tidak mempergunakan antigen unik untuk jenis sel kanker tertentu.

Kemoterapi, adalah pengobatan kanker melalui penggunaan agen kimia (obat anti kanker). Berbeda dengan pembedahan dan radioterapi, kemoterapi tidak dibatasi oleh metastasis. Akan tetapi, obat antikanker tetap tidak mampu menghancurkan semua sel kanker di dalam tubuh penderita, sehingga masih harus dikombinasi dengan cara pengobatan lain seperti imunoterapi. Persyaratan obat antikanker yang baik masih sulit ditentukan karena perbedaan sel kanker dan sel normal cukup kecil menurut pengetahuan saat ini. Seorang penderita ketika diberikan obat antikanker, maka obat tersebut tidak hanya berinteraksi dengan sel kanker tetapi juga sel normal, sehingga tentunya akan memberikan efek samping.

2.1.7 Kemoterapi: Cara Kerja Obat

Obat antikanker membunuh sel lebih baik pada fase sintesis DNA (fase S) dan selama pembedahan aktif, artinya lebih aktif pada sel yang sedang berada dalam berdaur, dari pada sel yang sedang tidak berdaur. Ketika tumor masih muda, kebanyakan selnya sedang membuat DNA. Ini disebut bagian pertumbuhan yang besar. Pada keadaan ini merupakan saat yang baik bekerjanya obat karena kebanyakan sel sedang membuat DNA dan membelah diri. Semakin tua, bagian pertumbuhan tumor semakin menurun dan kepekaannya terhadap obat berkurang. Tumor yang dapat disembuhkan

biasanya ditemukan pada saat masih muda dan bagian pertumbuhannya 30% sampai 100% dari seluruh sel.

2.2 Hsp90

Hsp90 adalah protein sel yang jumlahnya sangat melimpah mencapai 1% sampai 2% dari total protein sel. Hsp90 berperan melindungi sel ketika mendapatkan tekanan (stressing) akibat kenaikan temperatur. Ketika sel mengalami pemanasan atau suhu sel naik, jumlah Hsp90 bisa meningkat mencapai 4% sampai 6% dari total protein seluler. Karena itulah sel ini dinamakan Hsp90, dimana Hsp merupakan singkatan dari Heat Shock Protein. Angka “90” menunjukkan bobot molekul protein ini yaitu sekitar 90 kiloDalton (kDa).

2.2.1 Struktur

Struktur keseluruhan Hsp90 mirip dengan protein lain dalam struktur sekunder yaitu, terdiri dari α -heliks, β -sheet dan koil acak. Hsp90 memiliki sembilan α -heliks dan delapan β -sheet yang bergabung membentuk lapisan α -heliks/ β -sheet. Tiga heliks membentuk sekitar 11% residu asam amino protein yang jauh lebih tinggi dibanding rata-rata 4% protein lain.

Hsp90 memiliki empat domain struktur yaitu (i) NTD (N-Terminal Domain) dengan bobot molekul sekitar 25 kD, (ii) satu daerah “penghubung bermuatan” (charged linker) yang menghubungkan N-Terminal dengan domain tengah, (iii) domain tengah atau Middle Domain (MD) dengan bobot molekul sekitar 40 kDa, dan (iv) CTD (C-Terminal Domain) dengan bobot molekul sekitar 40 kDa.

NTD menunjukkan kesamaan tidak hanya dengan sesama anggota kelompok Chaperone Hsp90 yang lain, tetapi juga menunjukkan kesamaan dengan anggota superfamily ATPase/kinase GHKL (Gyrase, Hsp90, Histidine Kinase, MutL).

Secara umum, sisi ikatan ATP dan inhibitor Geldanamycin terjadi pada NTD. Asam amino yang secara langsung berikatan dengan ATP adalah Leu34, Asn37, Asp79, Asn92, Lys98, Gly121, dan Phe 124. Sebagai tambahan, ion Mg^{2+} dan beberapa molekul air membentuk jembatan elektrostatik dan berinteraksi secara ikatan hidrogen antara Hsp90 dengan ATP.

MD dibagi dalam 3 daerah, yaitu (i) tiga lapisan α - β - α , (ii) tiga belokan α -heliks dengan loops tak teratur, dan (iii) enam belokan α -heliks. MD juga terlibat dalam ikatan protein klien. Sebagai contoh, protein diketahui berikatan dengan MD Hsp90 seperti PKB/Akt1, eNOS, Aha1, dan Hch1. Pengikatan substrat pada MD juga diketahui mampu meningkatkan aktivitas ATPase Hsp90.

CTD memposisikan diri sebagai alternatif binding site ATP yang dapat menjadi akses ketika N-Terminal pocket berpasangan.

2.2.2 Fungsi Hsp90

Dalam sel normal, Hsp90 memainkan sejumlah peranan penting, diantaranya mencakup membantu proses folding (pelipatan) rantai protein, transpor intraseluler, pemeliharaan dan pengrusakan protein.

Protein folding. Hsp90 dikenal berasosiasi dengan struktur non-native banyak protein yang dapat mensyaratkan bahwa Hsp90 terlibat dalam pelipatan protein. Hsp90 telah menunjukkan sebagai penekan berbagai macam substrat protein dan karenanya bertindak sebagai pelindung.

Protein degradation. Eukariotik protein yang tidak diperlukan atau gagal melipat atau rusak biasanya ditandai dengan rusaknya jalur polyubiquitination. Protein diakui terdegradasi oleh proteasome 26S. Oleh karena itu proteasome 26S merupakan bagian integral dari mekanisme sel untuk mendegradasi protein. Selanjutnya pasokan konstan Hsp90 fungsional diperlukan untuk mempertahankan struktur tersier proteasome. Hsp90 dianggap bertanggung jawab terhadap sebagian besar aktivitas ATPase dari proteasome.

Interaksi dengan reseptor steroid. Reseptor glukokortikoid (GR) adalah contoh yang paling baik untuk mempelajari reseptor steroid yang tergantung pada interaksinya dengan Hsp90. Diagram skematis translokasi reseptor glukokortikoid (GR) dari sitoplasma ke dalam inti dibantu oleh Hsp90. Pada sitoplasma, GR dikomplekskan dengan Hsp90 dan immunophilin FKBP51. Pengikatan hormon untuk GR menyebabkan perubahan konformasi kompleks yang menghasilkan pertukaran FKBP51 untuk FKBP52. FKBP52 pada gilirannya mengikat dynein (dyn) protein motor yang menempel pada sitoskeleton dan mengangkut kompleks GR ke inti sel. Setelah di nukleus, kompleks terpecah dan melepaskan GR yang dimerizes dan mengikat DNA sehingga memfasilitasi transkripsi DNA menjadi mRNA.

sel-sel kanker lebih menunjukkan sejumlah protein, reseptor faktor pertumbuhan seperti EGFR, dan protein transduksi sinyal seperti PI3K dan Akt (Penghambatan protein ini dapat memicu apoptosis). Hsp90 menstabilkan reseptor faktor pertumbuhan dan beberapa molekul sinyal termasuk protein PI3K dan Akt, maka penghambatan Hsp90 dapat menginduksi apoptosis melalui penghambatan jalur sinyal PI3K/AKT dan sinyal faktor pertumbuhan umum.

Peran penting lainnya dari Hsp90 pada kanker adalah stabilisasi protein mutan seperti v-Src, penggabungan oncogene Bcr/Abl dan bentuk mutan yang muncul selama transformasi sel. Disini Hsp90 bertindak sebagai "pelindung" protein kurang stabil yang dihasilkan oleh mutasi DNA.

Hsp90 juga diperlukan untuk induksi faktor pertumbuhan endotel vaskular (VEGF) dan oksida nitrat sintase (NOS). Keduanya adalah penting untuk angiogenesis novo de yang diperlukan untuk pertumbuhan tumor melebihi batas jarak difusi oksigen dalam jaringan. Hal ini juga mempromosikan langkah invasi metastasis dengan membantu MMP2 metaloproteinase matriks. Hsp90 berpartisipasi dalam banyak proses kunci oncogenesis seperti sinyal pertumbuhan sendiri, stabilisasi protein mutan, angiogenesis dan metastasis.

2.3 Analisis QSAR

Awalnya pemahaman hubungan struktur dan aktivitas dikonsiderasikan bahwa aktivitas biologis merupakan fungsi dari struktur kimia. Tetapi kemudian mengalami perluasan aktivitas biologis sebagai fungsi fisikokimia (struktur fisika dan kimia). Artinya suatu seri sifat-sifat fisika dan kimia suatu molekul dapat menerangkan aktivitas biologis senyawa tersebut. Berbagai parameter sifat fisika dan kimia dikuantifikasi dan aktivitas biologis pun demikian dapat dirumuskan secara kuantitatif, maka kemudian hubungan struktur dan aktivitas lebih dikembangkan lagi menjadi Hubungan Kuantitatif Struktur dan Aktivitas atau Quantitative Structure and Activity Relationship atau QSAR (Wolff, 1994).

Secara umum, senyawa kimia yang memberikan efek biologis dibagi 2 kelompok, yaitu senyawa kimia yang secara struktur beraneka ragam, dan yang secara struktur mirip atau hampir sama. Hubungan struktur dan aktivitas dilakukan terhadap seri senyawa kimia yang memiliki struktur yang mirip. Hal ini berangkat dari pemahaman bahwa struktur yang hampir sama atau mirip akan melibatkan interaksi yang spesifik dengan reseptor yang umum (Wolff, 1994).

Setelah suatu seri senyawa dipelajari hubungan antara struktur dan aktivitasnya, maka dapat diketahui sifat-sifat fisika dan kimia apa saja yang berkontribusi terhadap aktivitas biologis senyawa tersebut. Lebih dari itu, dapat dikuantifikasi pula seberapa besar kontribusi dari setiap parameter terhadap aktivitas biologis senyawa. Setelah diperoleh suatu rumusan matematis yang mengkuantifikasi hubungan, maka dapat dibuat prediksi tentang faktor penting apa saja yang berperan terhadap distribusi atau mekanisme kerja obat. Melalui kuantifikasi tersebut, maka terhadap suatu seri senyawa analog dapat dikelompokkan mana yang termasuk senyawa-senyawa yang memiliki aktivitas dan mana yang termasuk kelompok senyawa yang harus dibuang. Seri analog yang diprediksi memiliki aktivitas itulah yang diteruskan untuk dipelajari atau diuji lebih lanjut.

Inilah tujuan pengembangan obat melalui pendekatan QSAR. Meskipun tahapan perancangan obat hanya tahapan awal dari seluruh rangkaian yang panjang dan kompleks dari pengembangan obat, namun perancangan obat cukup menyita waktu, tenaga dan biaya apabila hanya dilakukan secara trial and error (mencoba-coba). Tetapi sebaliknya, perancangan obat dengan pendekatan yang rasional

yaitu QSAR, maka akan memberikan manfaat efisiensi dan efektivitas kerja dari totalitas tahapan pengembangan obat.

Aktivitas dari suatu senyawa adalah fungsi dari tiga faktor terpisah yaitu efek hidrofobik, efek elektronik dan efek sterik.

2.3.1 Efek hidrofobik

Sifat hidrofobik obat adalah krusial untuk menjelaskan bagaimana suatu molekul dapat dengan mudah melewati membran sel, dan juga bagaimana berinteraksi dengan reseptornya. Perubahan substituen pada obat bisa memberikan efek yang signifikan terhadap sifat hidrofobik molekulnya sehingga ikut mempengaruhi aktivitas biologi dari molekul tersebut.

Efek hidrofobik suatu obat dapat diukur secara eksperimen melalui pengujian distribusi relatif suatu obat ke campuran oktanol-air. Molekul hidrofob akan terlarut dalam lapisan oktonol, sedangkan lapisan hidrofil akan terlarut dalam lapisan air. Distribusi relatif senyawa obat pada pelarut oktanol dan pada pelarut air dikenal sebagai koefisien partisi (P) dengan rumusan sebagai berikut:

$$P = \frac{\text{Concentration of drug in octanol}}{\text{Concentration of drug in aqueous solution}}$$

Senyawa hidrofobik akan memberikan harga P yang lebih tinggi, sedangkan senyawa hidrofilik akan memiliki P yang lebih rendah.

Koefisien partisi suatu analog ikut dipengaruhi oleh kontribusi rantai samping R. Kontribusi ini dikenal sebagai konstanta hidrofobik substituen (π). Konstanta hidrofobik substituen adalah ukuran seberapa besar hidrofobik substituen relatif terhadap Hidrogen. Apabila koefisien partisipasi suatu senyawa tanpa substituen (X) adalah π_x sehingga diperoleh persamaan sebagai berikut:

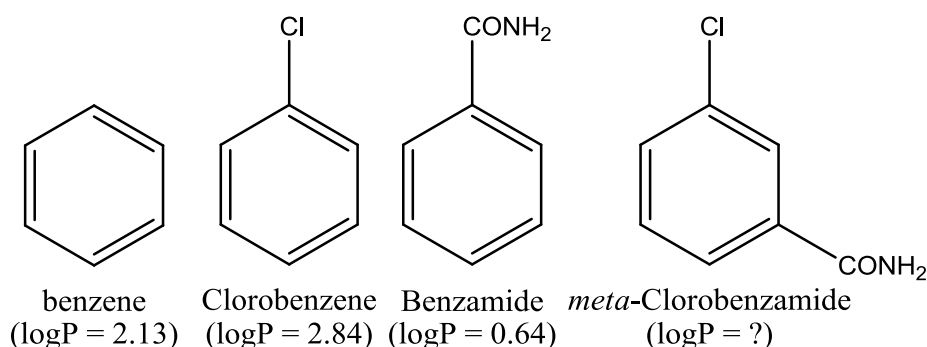
$$\pi_x = \log P_x - \log P_H$$

Dimana P_H adalah koefisien partisi senyawa standar, dan P_x adalah koefisien partisi senyawa standar dengan substituen X. Nilai π positif menunjukkan substituen lebih hidrofobik dari hidrogen, dan nilai π negatif menunjukkan substituen kurang hidrofobik dari substituen. Harga π untuk berbagai substituen ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Harga π Beberapa Substituen

Gugus	CH ₃	But	OH	OCH ₃	CF ₃	Cl	Br	F
π (alifatik substituen)	0.50	1.68	-1.16	0.47	1.07	0.39	0.60	-0.17
π (aromatik substituen)	0.52	1.68	-0.67	-0.02	1.16	0.71	0.86	0.14

Sebagai contoh, berikut disajikan harga log P untuk benzena (logP = 2.13), clorobenzena (logP = 2.84), dan benzamide (logP = 0.64) dengan struktur molekul masing-masing ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Harga logP

Harga logP untuk metaclorobenzamide dapat dihitung dari data logP benzamide, logP clorobenzamide dan logP benzamide, menurut hubungan sebagai berikut:

$$\begin{aligned}
 \log P(\text{chlorobenzamide}) &= \log P(\text{benzene}) + \pi(\text{Cl}) + \pi(\text{CONH}_2) \\
 &= 2.13 + 0.71 + (-1.49) \\
 &= 1.35
 \end{aligned}$$

Dari hasil percobaan eksperimen, harga logP adalah 1.51.

Selain logP (logP²), beberapa sifat fisikokimia yang termasuk dalam kelompok efek hidrofobik adalah konstanta hidrofobik substituen (π , π^2), harga R_M dalam kromatografi cair (log P = log R_M + log C), waktu elusi dalam kromatografi cair tekanan tinggi atau HPLC (log P = log k^1 + log C), kelarutan (S, log S), tetapan fragmentasi Rekker—Mannhold (f), tetapan fragmentasi Hansch-Leo (f) (Wolff, M.E., 1994, Siswandono & Soekardjo, 2009).

2.3.2 Efek Elektronik

Efek elektronik berbagai jenis substituen memiliki efek terhadap ionisasi atau polaritas. Hal ini bisa memiliki efek seberapa mudah suatu obat dapat melewati membran sel atau seberapa kuat suatu obat

dapat berikatan pada reseptor. Ukuran pengaruh efek elektronik dari suatu substituen pada cincin aromatik dikenal sebagai konstanta substitusi Hammet (σ). Konstanta substitusi Hammet (σ) adalah ukuran kekuatan tarikan elektron atau sumbangan elektron substituen dan ditentukan melalui pengukuran disosiasi seri senyawa benzoic tersubstitusi dibandingkan dengan disosiasi asam benzoic.

Selain itu Konstanta substitusi Hammet (σ), Siswandono & Soekardjo (dalam Aswad, 2009) menyatakan parameter elektronik juga berkaitan dengan tetapan ionisasi (pK_a) dan berhubungan dengan bentuk terionkan dan tak terionkan dari suatu senyawa pada pH tertentu. Penetapan menggunakan persamaan Henderson–Hasselbalch. Juga sifat oksidasi–reduksi atau reaktivitas senyawa, yang perhitungannya menggunakan perhitungan mekanika kuantum dari energi orbital.

Siswandono & Soekardjo (dalam Aswad, 2009) mengelompokkan parameter elektronik yang digunakan sebagai prediktor untuk studi hubungan kuantitatif struktur dan aktivitas dalam 3 kelompok, yaitu parameter percobaan, parameter semi teoritis, dan parameter teori orbital molekul. Parameter percobaan meliputi: negatif logaritma tetapan ionisasi ($-pK_a$), perubahan negatif tetapan ionisasi senyawa induk ke senyawa tersubstitusi (ΔpK_a), tetapan kesetimbangan reaksi ($\log K$), parameter reaksi ($t^{1/2}$), potensial ionisasi (I), polarisabilitas molar elektronik (PE), momen dipol elektronik (μ), pergeseran kimia spektrum NMR (Δppm), pergeseran kimia spektrum IR (ΔV), potensial redoks (E). Kelompok parameter semi teoritis adalah tetapan elektronik Hammet (σ , σ^2), efek elektronik substituen posisi *para* (σ^p), efek elektronik substituen posisi *meta* (σ^m), tetapan induktif alifatik (σ_I), tetapan substituen molat Taft (σ^*), tetapan induktif field (F), tetapan resonansi (R), dan tetapan reaksi Homolitik (ER). Kelompok parameter teori orbital molekul meliputi energi total elektron dalam molekul (E_{tot}), kemampuan donor total elektron molekul (E_{HOMO}), kemampuan akseptor total elektron molekul (LUMO), kerapatan muatan atom (ϵ), muatan elektronik atom (q) dan koefisien orbital atom (c).

2.3.3 Efek Sterik

Bulky, ukuran dan bentuk molekul obat bisa berpengaruh terhadap interaksi obat dengan reseptor atau enzim. Sebagai contoh, bulky substituent bisa bekerja seperti perisai dan penghalang pada interaksi obat-reseptor. Selain itu, bulky substituent bisa membantu orientasi obat untuk berikatan maksimum dengan reseptor dan meningkatkan aktivitasnya. Pengaruh bulky, ukuran dan bentuk molekul terhadap interaksi obat-reseptor disebut efek sterik. Kuantifikasi sifat-sifat sterik lebih sulit daripada kuantifikasi efek hidrofobik dan efek elektronik (Patrick, 1995).

Tetapan sterik yang sering digunakan dalam hubungan struktur–aktivitas antara lain tetapan E_s Taft, tetapan E_{sc} Hancock, tetapan dimensi van der waal's, tetapan U Charton dan tetapan sterimol Verloop. Karena data tetapan sterik di atas tidak tersedia untuk banyak tipe substituen, parameter sterik yang dihitung secara teoritis juga digunakan dalam hubungan struktur–aktivitas. Parameter sterik tersebut

antara lain adalah berat molekul (BM), refraksi molar dan paraklor (Siswandono & Soekardjo, dalam Aswad., 2009).

2.4 Analisis Statistik

Analisis statistik yang sering digunakan untuk mempelajari hubungan struktur dan aktivitas suatu molekul obat adalah analisis regresi multilinear. Beberapa program komputer yang digunakan untuk memudahkan perhitungan regresi multilinear antara berbagai kombinasi prediktor dengan aktivitas suatu seri senyawa diantaranya adalah MICROSAT, BSAT, QSAR, STATGRAPHIC, STATISTICA, SIGMASTAT, SPSS atau program statistik lainnya.

Dalam analisis regresi, independen variabel (X) mencakup parameter fisikokimia molekul dan dependen variabel (Y) adalah aktivitas biologis. Analisis regresi merupakan prosedur matematik, sebab korelasi yang diperoleh dari data eksperimen mengandung error.

Rumusan matematik regresi linier dinyatakan melalui persamaan berikut:

$$y = ax + b$$

Dimana y : aktivitas biologis (variabel tergantung)
 x : parameter kimia fisika (variabel tidak tergantung)
 a, b : konstanta

Persamaan di atas apabila sifat fisikokimia yang mempengaruhi aktivitas biologis (Y) hanya mengandung satu parameter (X). Apabila terdiri dari dua parameter, maka persamaan regresinya adalah:

$$y = ax_1 + ax_2 + c,$$

dan apabila terdiri dari tiga parameter atau tiga prediktor memenuhi persamaan regresi sebagai berikut:

$$y = ax_1 + bx_2 + cx_3 + d$$

Dengan x_1, x_2, x_3 adalah parameter 1, 2 dan 3.

Keabsahan persamaan yang diperoleh dan arti perbedaan parameter yang digunakan dalam hubungan struktur–aktivitas dapat dilihat dengan beberapa kriteria statistik, seperti r , r^2 , F , t dan s . Arti dari setiap kriteria statistik tersebut dikemukakan sebagai berikut:

- a) Nilai r (koefisien korelasi) menunjukkan tingkat hubungan antara data aktivitas biologis pengamatan percobaan dengan data hasil perhitungan berdasarkan persamaan yang diperoleh dari analisis regresi. Koefisien korelasi adalah angka yang bervariasi mulai dari 0 sampai 1. Semakin tinggi nilainya semakin baik hubungannya. Untuk mendapatkan nilai koefisien korelasi yang dapat diterima tergantung jumlah data penelitian. Semakin banyak jumlah data penelitian semakin rendah koefisien korelasi atau nilai r yang dapat diterima. Dalam penelitian hubungan struktur–aktivitas dicoba dicapai suatu nilai r yang lebih besar dari 0,9.
- b) Nilai r^2 menunjukkan berapa % aktivitas biologis yang dapat dijelaskan hubungannya dengan parameter sifat kimia fisika yang digunakan.
Contoh: suatu hubungan yang mempunyai nilai koefisien korelasi (r) = 0,99 berarti dapat menjelaskan $(0,99)^2 \times 100\% = 98\%$ dari variasi antar data.
- c) Nilai F menunjukkan makna hubungan bila dibandingkan dengan tabel F . makin besar nilai F makin besar derajat kemaknaan hubungan. Nilai F adalah indikator bilangan untuk menunjukkan bahwa hubungan yang dinyatakan oleh persamaan yang didapat, adalah benar atau merupakan kejadian kebetulan. Semakin tinggi nilai F semakin kecil kemungkinan hubungan tersebut adalah kebetulan.
- d) Nilai t menunjukkan perbedaan koefisien regresi a , b , c dan d dari persamaan regresi bila dibandingkan dengan tabel t .
- e) Nilai s (simpangan baku) menunjukkan nilai variasi kesalahan dalam percobaan.

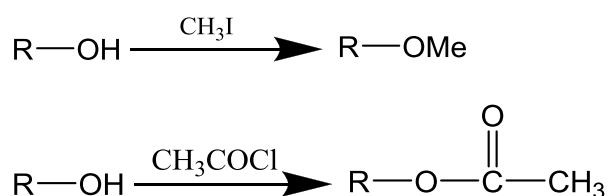
Alasan untuk menggunakan logaritma pada respons biologis mempunyai dasar termodinamik. Energi bebas yang diberikan oleh suatu molekul, dianggap merupakan jumlah energi bebas dari gugus-gugus substituen. Sebagai contoh, kelebihan energi bebas dari ionisasi pada asam p-metilbenzoat terhadap asam benzoat adalah sama dengan sumbangan dari gugus p-metil. Persamaan yang menggunakan $\log (K_x/K_o)$ termasuk energi bebas karena penetapan keseimbangan adalah logaritma yang berhubungan dengan energi bebas. Ini merupakan logika mengapa dalam hubungan struktur–aktivitas digunakan logaritma parameter-parameter respon biologis (Siswandono & Soekardjo, dalam Aswad, 2009).

2.5 Perancangan Obat Baru

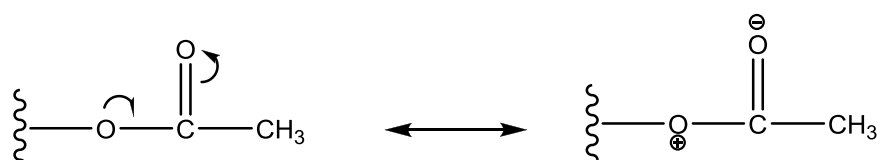
Ketika struktur suatu molekul yang memiliki aktivitas biologis diketahui, maka pekerjaan lanjutan seorang Kimiawan Medisinal adalah mempelajari hubungan struktur dan aktivitas senyawa tersebut. Tujuannya adalah apakah bagian-bagian (atom atau gugus fungsi substituen R) dari molekul tersebut berkaitan dengan aktivitas biologis atau tidak. Berikut ini akan dikemukakan sejumlah gugus fungsi

atau atom yang menjadi substituen atau rantai samping molekul obat. Secara umum, bagian (gugus/atom) dari struktur kimia obat yang dapat melakukan interaksi dengan situs ikatan (binding site) reseptor adalah:

Gugus Hidroksil. Gugus Hidroksil (-OH) dari suatu molekul obat secara umum terlibat dalam interaksi obat-reseptor melalui ikatan hidrogen. Perubahan gugus hidroksil menjadi metil-eter, atau metil-ester (Gambar 3) biasanya akan merusak atau melemahkan ikatan. Penjelasan yang dapat diberikan bahwa gugus hidroksil akan terlibat dalam pembentukan ikatan hidrogen dengan reseptor sehingga jika gugus ini dikeluarkan maka ikatan hidrogen akan hilang. Memang, kemampuan ikatan hidrogen dari etil-eter atau etil-ester tidak hilang total, tetapi secara jelas menjadi lebih lemah dibanding hidroksil. Dari segi sifat elektronik, antara ester dan alkohol memberikan perbedaan penting. Senyawa Gugus karboksil dapat menarik elektron dari oksigen tetangga sehingga memberikan struktur resonansi (gambar 4). Dengan demikian, pasangan elektron bebas yang terlibat dalam interaksi tersebut tidak dapat mengambil bagian secara efektif dalam sebuah ikatan hidrogen.

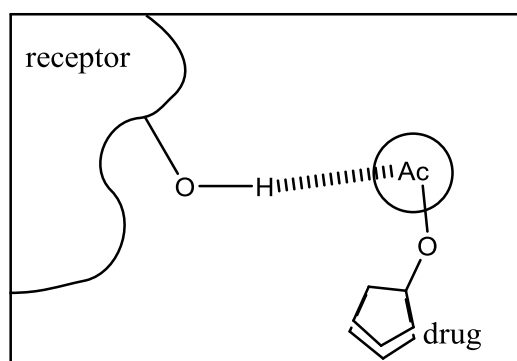


Gambar 3. Konversi Gugus -OH



Gambar 3. Efek Elektronik

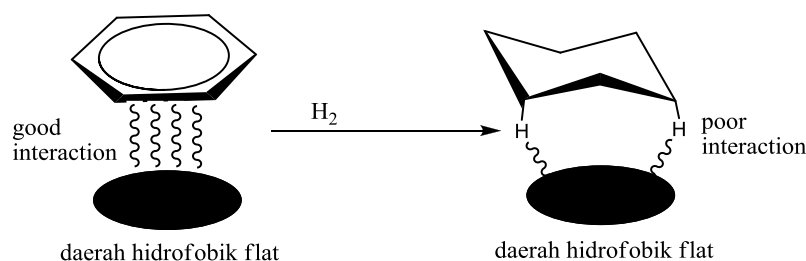
Dari aspek efek sterik, penggantian gugus hidroksil oleh Asil juga akan merusak kemampuan ikatan hidrogen gugus hidroksil. Hal ini dapat dijelaskan bahwa *bulky* gugus acyl akan menghambat capaian interaksi yang dapat terbentuk tanpa kehadiran gugus Acyl (Gambar 5). Ini dinamakan halangan sterik. Halangan sterik juga dapat menjelaskan bagaimana metil- eter dapat mengganggu ikatan hidrogen.



Gambar 4. Ilustrasi halangan sterik

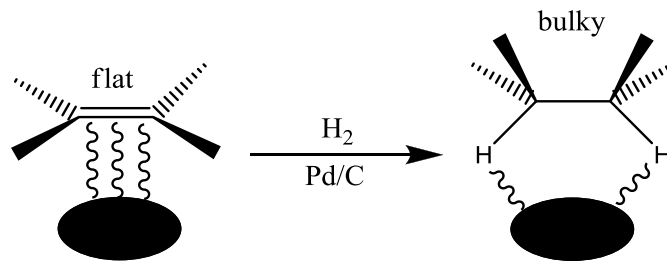
Gugus Amino. Gugus amino ($-\text{NH}_2$) dapat terlibat dalam ikatan hidrogen dan ikatan ion, meskipun ikatan ion lebih umum. Perubahan Amino menjadi Amida ($-\text{CONH}_2$) akan mencegah pasangan elektron bebas nitrogen ambil bagian dalam ikatan hidrogen atau membentuk ion.

Cincin Aromatik. Cincin aromatik dapat terlibat dalam interaksi van der Waals dengan daerah *flat* hidrofobik situs ikatan reseptor. Jika cincin terhidrogenasi membentuk cincin sikloheksana, struktur menjadi tidak flat dan interaksi menjadi lemah. Penggantian cincin aromatik dengan gugus alil juga besar dapat menurunkan kekuatan interaksi van der Waals.



Gambar 5. Hidrogenasi cincin aromatik menurunkan interaksi van der Waals dengan daerah hidrofobik flat situs ikatan reseptor.

Ikatan Rangkap. Tidak seperti cincin aromatik, ikatan rangkap dapat dengan mudah mengalami reduksi dan memberikan efek yang sangat signifikan pada permukaan molekul pada bagian ini. Reduksi ikatan rangkap akan menyebabkan ikatan rangkap planar yang dapat terlibat dalam ikatan van der Waals—sama untuk ikatan kelompok senyawa alkena, menjadi lemah karena proses reduksi membentuk gugus alkyl bulky. Ilustrasi perhatikan Gambar 7.



Gambar 6. Ikatan Rangkap

Perancangan obat baru bertujuan untuk mendapatkan senyawa analog baru dengan sifat-sifat: (i) aktivitas meningkat (lebih tinggi), (ii) efek samping menurut (lebih rendah), dan (iii) lebih mudah dan efisien dalam ketika pemberian ke pasien dibanding obat sebelumnya.

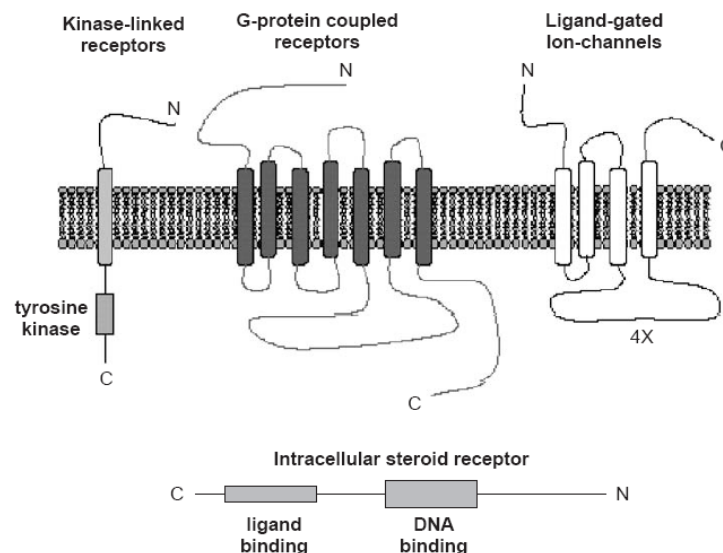
Beberapa strategi terkini dalam perancangan senyawa baru adalah: (i) variasi substitusi, (ii) perpanjangan struktur, (iii) pemanjangan/pemendekan rantai, (iv) pengembangan/ pemendekan cincin, (v) variasi cincin, (vi) isosteres, (vii) penyederhanaan struktur, dan (viii) rigidifikasi struktur.

2.6 Interaksi Obat-Reseptor

Berdasarkan kemampuan memberikan efikasi dan melakukan interaksi dengan reseptor, obat dibagi dua kelompok, yaitu agonis dan antagonis. Agonis adalah obat yang mengaktifkan reseptor dengan sifat-sifat seperti: agonis dapat berbeda dalam afinitas dan efikasi, agonis efikasi tinggi adalah full agonist karena mengeluarkan efek maksimal, agonis efikasi rendah adalah agonis parsial karena tidak dapat mengeluarkan efek maksimal pada reseptor meskipun pada konsentrasi tinggi. Agonis langsung bekerja pada reseptor, sedangkan agonis tak langsung memfasilitasi kerja agonis endogen. Antagonis adalah obat yang tidak dapat mengaktifkan reseptor yang memiliki fitur: antagonis juga mampu mengaktivasi reseptor tetapi secara esensial antagonis tidak memberikan efikasi (zero efficacy). Antagonis kompetitif berikatan dengan situs ikatan yang sama dengan agonis dan karena itu berkompetisi (bersaing) dengan agonis untuk berikatan dengan situs ikatan reseptor. Antagonis non kompetitif memiliki situs ikatan dengan berbeda dengan agonis, dan karena itu tidak berkompetisi dengan agonis. Beberapa antagonis memiliki situs ikatan melalui *ion-channel associated* dengan kompleks reseptor.

Tipe Reseptor. Ada empat tipe reseptor, yaitu ligand-gated ion channel, G-protein (guanine nucleotide-regulatory protein), Tyrosine Kinase-linked Protein, dan Intracellular receptor regulating gene transcription. Posisi keempat tipe reseptor tersebut pada sel diilustrasikan pada Gambar 8. Ligan-gated

ion channel berada pada reseptor batas membran, secara langsung berhubungan pada ion channel. Juga dikenal sebagai ionotropik reseptor. G-protein berada pada reseptor batas membran bergandengan dengan G-protein. Setelah aktivasi G-protein, suatu jalur transduksi signal biokimia dapat teraktivasi. Beberapa mesengger kimia seperti hormon dan neurotransmitter, bekerja melalui reseptor G-protein coupled. Tyrosine kinase-linked receptor adalah reseptor batas membran dan memuat fungsi enzimatik intrinsik (tyrosine kinase activity) dalam domain intraselulernya.



Gambar 7. Tipe Reseptor

Untuk memulai respons biologis, suatu obat harus membentuk ikatan dengan permukaan reseptor. Perbedaan type kekuatan ikatan yang bisa ada dalam interaksi obat-reseptor adalah sebagai berikut:

- **Interaksi kovalen.** Ikatan kovalen merupakan ikatan kimia yang tidak dapat balik atau irreversible. Karena interaksi obat dan reseptor merupakan ikatan dapat balik atau reversible, maka apabila terbentuk ikatan kovalen maka akan memberikan efek toksik.
- **Interaksi ionik.** Kebanyakan molekul obat mengandung gugus asam atau gugus fungsional amine yang terionisasi pada pH fisiologis. Ikatan ionik terbentuk melalui atraksi situs reseptor yang memiliki muatan dengan gugus terion molekul obat. Interaksi ini merupakan interaksi elektrostatik yang sangat kuat (5 – 19 kcal/mol) dan bertanggung jawab terhadap orientasi relatif obat pada situs ikatan.
- **Ikatan Hidrogen,** adalah interaksi non ionik/netral. Interaksi polar-polar adalah interaksi antar muatan yang saling berlawanan. Reaksi obat-reseptor merupakan pertukaran ikatan hidrogen yang sangat potensial antara molekul obat, lingkungan air, dan situs reseptor. Kekuatan ikatan hidrogen berada pada rentang 5 – 7 kcal/mol.

- Interaksi van der Waals. Karakteristik interaksi ini adalah: (i) interaksi pada jarak yang dekat, (ii) lebih sering terjadi dibanding kekuatan hidrofobik, (iii) interaksi lebih lemah (sekitar 0.5 sampai 1 kcal/mol) dibanding interaksi elektrostatik. Kontak yang dekat (kekuatan atraktif) mencakup luas area yang besar. Permukaan ligan dan situs ikatan memiliki kontribusi pengikatan.
- Interaksi lipofilik/hidrofobik. Interaksi hidrofobik terbentuk antara gugus hidrokarbon non polar pada obat dengan situs reseptor. Ikatan ini sangat tidak spesifik tetapi interaksi berlangsung tanpa molekul air. Kebanyakan molekul obat memiliki bagian non polar (gugus alkil atau aril) yang berkombinasi dengan bagian non polar situs reseptor melalui interaksi hidrofobik. Interaksi ini sangat lemah, tetapi sangat penting dalam interaksi obat-reseptor.

BAB 3 TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

3.1 Tujuan Penelitian

Secara umum, tujuan penelitian ini adalah untuk mendesain senyawa baru turunan 2-aminthioeno [2,3-d]pyrimidine sebagai antikanker yang bekerja melalui penghambatan Hsp90. Adapun tujuan khusus penelitian adalah:

- 3 Menentukan hubungan kuantitatif antara struktur dan aktivitas senyawa turunan 2-aminthioeno [2,3-d]pyrimidine sebagai inhibitor Hsp90.
- 4 Mendesain senyawa baru turunan 2-aminthioeno [2,3-d]pyrimidine secara komputasi (in silico) yang diprediksi memiliki kemampuan penghambatan terhadap fungsi Hsp90.
- 5 Mempelajari interaksi senyawa baru turunan 2-aminthioeno [2,3-d]pyrimidine dengan reseptor target Hsp90 dengan pendekatan docking molekular (molecular docking) yang dikerjakan secara komputasi (in silico).

3.2 Manfaat Penelitian

Manfaat yang dapat diperoleh dari kegiatan penelitian ini adalah:

1. Tumbuhnya kemampuan melaksanakan penelitian dengan pendekatan komputasi (in silico) yang dapat dilaksanakan secara mandiri.
2. Bergairahnya penggunaan Laboratorium Kimia Komputasi Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Negeri Gorontalo untuk melaksanakan penelitian-penelitian yang sesuai dan relevan.

BAB 4 METODE PENELITIAN

Senyawa yang menjadi obyek dan digunakan dalam penelitian ini adalah 16 (enam belas) senyawa turunan 2-aminothieno[2,3-d]pyrimidine dengan aktivitas biologis sebagai antikanker yang dikembangkan, disintesis dan diujiaktivitas oleh Brough, P.A., dkk. (2009). Aktivitas antikanker merujuk kepada harga FP IC₅₀ (FP = fluorescence polarization Inhibiting Concentration 50%) yang diukur menggunakan Fluorescence Polarization Assay.

4.1 Pemodelan Struktur Molekul

Struktur molekul dimodelkan dengan menggunakan HyperChem® Release 8.0. Pertama-tama membuat model struktur dua dimensi (2D) setiap molekul, kemudian dilakukan penambahan atom H dan pembentukan model molekul tiga dimensi (3D) dengan menggunakan perintah Add H & Model Build dari program HyperChem® Release 8.0.

4.2 Optimasi Geometri

Setiap model molekul yang telah dibuat dalam bentuk 3D kemudian dioptimasi struktur molekulnya secara semi empiris dengan metode AM1 dengan gradient 0,01 kkal/A°. Selanjutnya setiap model molekul disimpan dalam format *.mol.

4.3 Perhitungan Deskriptor

Perhitungan prediktor dengan menggunakan aplikasi Molecular Operating Environment (MOE 2009.10). Tabel yang memuat daftar prediktor yang digunakan dalam studi QSAR ini ditunjukkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Daftar Deskriptor

NO	Prediktor	Simbol umum	Simbol pada software
1.	Koefisien partisi	$\log P, (\log P)^2$	$\log P(o/w), (\log P(o/w))^2$
2.	Logaritma kelarutan (solubility)	S, logS	S, logS
3.	Energi Total	E_{Tot}	AM1_E
4.	Energi Elektronik	E_{Ele}	AM1_Eele
5.	Energi HOMO	E_{HOMO}	AM1_HOMO
6.	Energi LUMO	E_{LUMO}	AM1_LOMO
7.	momen dipol total	μ	AM1_dipol
8.	Panas pembentukan	HF	AM1_HF
9.	Volume van der waals	Vw	vol
10.	Globularitas	GLOB	glob
11.	Refraktivitas molar	MR	mr
12.	Luar permukaan hidrofobik	A	ASA_H
13.	Polarisabilitas atom total		Polarizability

4.4 Analisis Statistik

Analisis statistik dilakukan secara regresi multi linear menggunakan IBM SPSS Statistics 19 Software Trial. Variabel terikat (Y) adalah FP IC₅₀ setiap senyawa percobaan dan variabel bebas (Xi) adalah nilai setiap prediktor. Regresi multilinear dilakukan antara FP IC₅₀ dengan kombinasi 2, 3 dan 4 prediktor.

Dari analisis regresi tersebut diperoleh model-model kombinasi prediktor yang menerangkan hubungan struktur dan aktivitas senyawa turunan 2-aminothieno [2,3-d]pyrimidine. Setiap model akan memberikan kriteria statistik masing-masing. Pada penelitian ini, model kombinasi prediktor yang diteruskan untuk pengujian lebih lanjut setelah perhitungan koefisien regresi (r dan r^2) adalah model dengan $r \geq 0.7$. Setelah analisis regresi, analisis statistik lain yang dilakukan adalah membandingkan F hitung (F_{hit}) dan F tabel (F_{tab}) setiap model molekul. Model yang memberikan $(F_{hit}) \geq (F_{tab})$ dipilih sebagai model untuk diteruskan pada pengujian tahapan selanjutnya.

Analisis statistik lain yang juga diperlukan untuk seleksi model kombinasi prediktor adalah nilai RMSE (*root mean squared error*). Model terbaik adalah model yang memiliki RMSE rendah dan r tinggi.

4.5 Validasi Model

Validasi bertujuan untuk mendapatkan persamaan regresi (persamaan QSAR) terbaik. Persamaan regresi menunjukkan hubungan kuantitatif antara struktur dan aktivitas antikanker (FP IC₅₀) senyawa turunan 2-aminothieno [2,3-d] pyrimidine dimana aktivitas antikanker adalah variabel terikat (Y) dan prediktor-prediktor sebagai variabel bebas (X).

Validasi menggunakan teknik validasi silang (*cross validasi*). Cara pengujiannya dengan menerapkan validasi silang (*cross validation*) teknik Leave One Out (LOO). Dengan pendekatan LOO, setiap senyawa terprediksi dihilangkan data aktivitas eksperimennya dalam analisis regresi linear. Kuadrat validasi silang LOO (q^2) menjadi indikator *performance* dan stabilitas model (JinCan, C., 2008), dan dihitung menurut rumus berikut:

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

Dimana, y_i = aktivitas eksperimen
 $\hat{y}_i$ = aktivitas eksperimen rata-rata
 $\hat{y}_i$ = aktivitas prediksi validasi silang senyawa ke-i

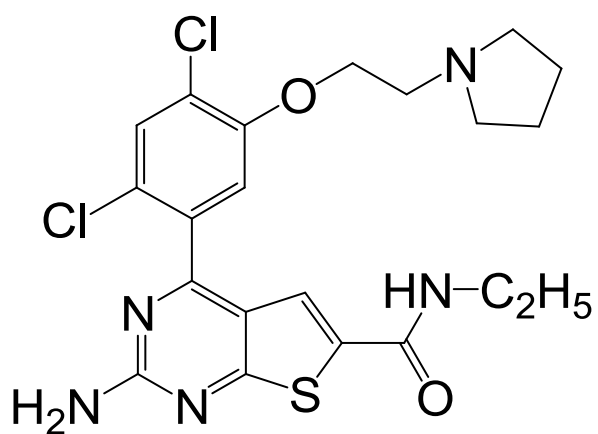
Aktivitas prediksi validasi silang senyawa ke-i ($\hat{y}_i$) dihitung setelah senyawa ke-i dihilangkan dalam analisis regresi. Misal, aktivitas prediksi validasi silang senyawa 01, dihitung dari persamaan QSAR terpilih yang diperoleh dari kelompok senyawa uji tanpa ada senyawa 01. Begitu seterusnya untuk aktivitas prediksi validasi silang setiap senyawa uji lainnya.

Dengan validasi metode LOO akan diperoleh model terpilih. Namun persamaan QSAR terbaik harus kriteria statistik signifikan yaitu memiliki $r^2 \geq 0.8$, dan $q^2 \geq 0.5$. Cara mendapatkannya adalah dengan mengeluarkan data senyawa uji yang memiliki bias yang besar (*outlier*) dalam analisis regresi linear.

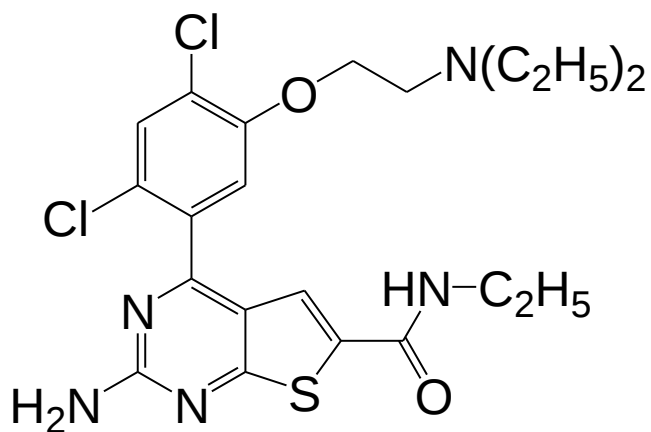
4.6 Desain Senyawa Baru

Ada tiga tindakan dalam desain senyawa baru, yakni (i) menentukan senyawa induk, (ii) memilih bagian rantai samping atau substituen (R) senyawa induk untuk digantikan oleh substituen baru, dan (iii) menentukan daftar substituen baru yang tentu saja harus berbeda dengan substituen senyawa induk.

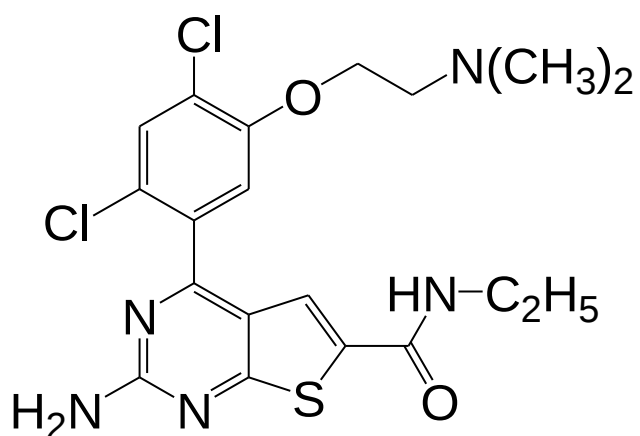
Senyawa induk yang digunakan dalam penelitian ini terdiri atas tiga macam sebagaimana ditunjukkan pada Gambar 9a (senyawa penuntun 1), Gambar 9b (senyawa penuntun 2), dan Gambar 9c (senyawa penuntun 3)..



Gambar 8a. Senyawa Penuntun 1

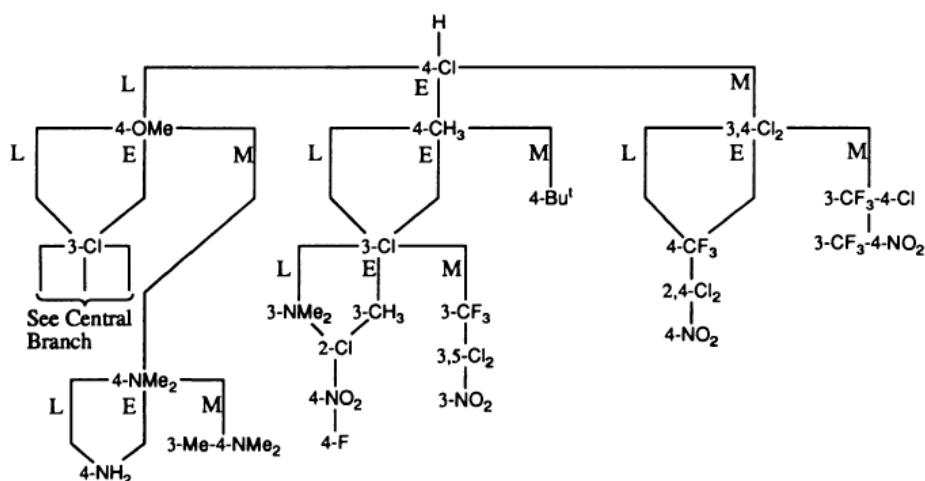


Gambar 8b. Senyawa Penuntun 2



Gambar 8c. Senyawa Penuntun 3

Adapun penentuan substituen pengganti Cl dalam merancang senyawa baru digunakan pendekatan Skema Topliss (Gambar 10). Desain senyawa baru dilakukan melalui penggantian atom -Cl oleh 8 macam substituen yakni -Cl (substituen senyawa induk), -H, -CH₃, -C₄H₉, -N(CH₃)₂, -NO₂, -F, dan -CF₃. Modifikasi dilakukan secara kombinatorial pada kedua posisi substituen Cl senyawa induk.



Gambar 9. Skema Topliss

4.7 Docking Molekular

Interaksi senyawa percobaan dengan reseptor Hsp90 α dipelajari dengan menggunakan tehnik docking molekular. Docking molekular dikerjakan dengan menggunakan program Arguslab 4.0.1. Ada dua parameter yang diamati dalam docking molekular yaitu ΔG (perubahan energi bebas), dan ikatan hidrogen yang terbentuk antara ligan dengan reseptor. Berkaitan ikatan hidrogen diamati panjang dan jumlah ikatan.

BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Kajian Hubungan Struktur dan Aktivitas

Struktur molekul dan data aktivitas (FP IC₅₀) senyawa turunan 2-aminothieno [2,3-d] pyrimidine sebagaimana ditunjukkan pada Gambar 1 dan Tabel 1.

Enam belas senyawa percobaan dibuat dalam struktur 2D dan kemudian dibentuk 3D menggunakan program Hyperchem. Setelah semua model molekul dibentuk, selanjutnya disimpan (*save as*) dalam ekstensi *.mol. Sebelum perhitungan nilai prediktor, senyawa uji terlebih dahulu dimasukkan dalam daftar molecular data base (mdb) dari software Molecular Operating Environment (MEO) 2009.10.

Daftar senyawa uji dalam mdb dimunculkan pada jendela *Databae Viewer* program MOE 2009.10. Selanjutnya dilakukan perhitungan nilai prediktor dengan urutan perintah *Compute >> Descriptors*. Sebanyak 12 prediktor dihitung dengan program MOE tersebut, yaitu AM1_dipole (momen dipole total), AM1_E (energi total), AM1_HF (panas pembentukan, AM1_HOMO (Energi HOMO), AM1_LUMO (Energi LUMO), logS (kelarutan), mr (refaktivitas molar), glob (globularitas), vol (volume van der Walls), logP(o/w) (koefisien partisi pada pelarut oktanol-air), dan ASA_H (luas permukaan hidrofobik). Prediktor polarizabilitas dihitung menggunakan Hyperchem 8.0 dengan urutan perintah: *Compute >> QSAR Properties >> Polarizability*.

Hasil perhitungan deskriptor ditunjukkan pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Perhitungan Deskriptor

Name	AM1_dipole	AM1_E	AM1_Eele	AM1_HF	AM1_HOMO
Senyawa01	4.3565531	-130275.570	-1027129.30	6.8818002	-8.8428497
Senyawa02	5.3639083	-129640.360	-1018718.10	12.2683900	-8.7886000
Senyawa03	4.6448340	-123092.950	-921965.94	24.8727300	-8.8506203
Senyawa04	5.2030125	-126686.860	-965031.50	8.8037996	-8.8872004
Senyawa05	6.8801641	-119060.300	-806354.25	8.0148602	-8.8601303
Senyawa06	5.4421854	-111020.270	-736790.06	68.6060710	-9.0018702
Senyawa07	3.4325776	-129639.730	-1008405.70	12.9025100	-8.8765697
Senyawa08	3.9415109	-129625.610	-1016535.10	27.0641800	-8.7843199
Senyawa09	4.1876926	-138309.310	-1143463.30	25.6717300	-8.8526802
Senyawa10	3.8756957	-134080.810	-1003479.30	-2.2076900	-8.7949400
Senyawa11	5.6159124	-158574.840	-1268689.60	-96.8239210	-8.9163198
Senyawa12	3.3085051	-79664.6020	-519878.09	60.9185490	-8.7097502
Senyawa13	3.8161345	-87969.8590	-562717.56	50.0847820	-8.7938995
Senyawa14	3.5651898	-86850.8050	-612474.69	51.5552600	-8.6670198
Senyawa15	5.8079662	-90650.5230	-628539.44	81.7217330	-8.9422503
Senyawa16	3.3420410	-96272.680	-617765.25	44.4690510	-8.8297501

Tabel 4. Hasil Perhitungan Prediktor (...lanjutan)

Name	AM1_LUMO	logS	mr	glob	vol
Senyawa01	-0.97125	-7.96800	12.76728	0.04032	434.625
Senyawa02	-0.92193	-7.86596	12.56212	0.04613	424.375
Senyawa03	-1.00112	-7.31358	11.80632	0.04048	397.375
Senyawa04	-0.99607	-7.51535	12.28271	0.04809	417.250
Senyawa05	-1.45662	-7.65868	10.44030	0.00392	344.875
Senyawa06	-1.16951	-7.75749	10.19783	0.06054	332.625
Senyawa07	-1.03342	-7.99140	12.53999	0.06529	425.875
Senyawa08	-0.95341	-8.58412	12.55217	0.03953	422.125
Senyawa09	-0.99978	-7.36031	13.31695	0.06403	453.125
Senyawa10	-0.92104	-7.32527	12.50855	0.04684	424.375
Senyawa11	-1.10043	-8.77107	13.61675	0.05026	461.125
Senyawa12	-0.97603	-5.89673	8.46532	0.00588	278.625
Senyawa13	-1.07202	-6.63102	8.96126	0.00586	295.000
Senyawa14	-0.93222	-6.84457	9.37057	0.00910	315.875
Senyawa15	-1.03779	-6.72158	9.49949	0.09404	314.375
Senyawa16	-0.94163	-7.36531	9.42800	0.06317	306.000

Tabel 4. Hasil Perhitungan Prediktor (...lanjutan)

Name	logP(o/w)	ASA_H	Polarizabilitas	FP-	
				IC_50_eksperimen	
Senyawa01	3.7660000	775.36823	67.993828	0.056	
Senyawa02	3.6159999	752.96277	66.660240	0.058	
Senyawa03	3.0840001	723.57019	61.806652	0.127	
Senyawa04	3.5260000	756.88019	64.900238	0.080	
Senyawa05	2.4719999	623.04041	51.994308	0.029	
Senyawa06	2.8940001	630.08264	49.858723	0.080	
Senyawa07	3.6359999	766.47394	66.660240	0.176	
Senyawa08	4.9089999	742.21100	66.660240	0.087	
Senyawa09	2.6090000	774.17816	71.520615	0.102	
Senyawa10	2.7340000	800.68237	65.702240	0.084	
Senyawa11	5.0759201	775.74426	72.627823	0.058	
Senyawa12	1.9970000	537.57013	43.837101	5.700	
Senyawa13	2.5890000	564.07275	45.350307	0.720	
Senyawa14	2.6280000	591.01227	50.024273	0.340	
Senyawa15	1.9900000	590.25140	49.123894	0.300	
Senyawa16	3.2160001	579.83484	46.863518	0.230	

Setelah diperoleh nilai seluruh prediktor untuk setiap senyawa, selanjutnya dilakukan analisis statistik yaitu analisis regresi multilinear. Dalam analisis regresi multilinear, data eksperimen aktivitas antikanker (FP IC₅₀) senyawa turunan 2-aminothieno[2,3-*d*]pyrimidine bertindak sebagai variabel terikat (Y), dan kombinasi beberapa prediktor sebagai variabel bebas (Xi). Analisis regresi multilinear dilakukan melalui kombinasi 2, 3 dan 4 prediktor. Dari analisis regresi multilinear diperoleh daftar model regresi yang berbeda-beda dalam hal koefisien regresi r (dan r^2), standar error (SE) dan kriteria Fischer (F_{hitung}). Koefisien regresi dari setiap model regresi kemudian di-rangking dari yang tertinggi sampai yang terendah. Model terpilih memiliki $r \geq 0.7$. Dengan kriteria $r \geq 0.7$, maka diperoleh 40 model kombinasi.

Tahapan penyaringan model kombinasi selanjutnya adalah membandingkan F_{hitung} dengan F_{tabel} dengan kriteria F_{hitung} lebih besar dari F_{tabel} ($F_{hitung} \geq F_{tabel}$). Dengan kriteria ini diperoleh 36 model regresi sebagaimana ditunjukkan pada Tabel 5.

Tabel 5. Daftar Model dengan Rasio F_{hitung} terhadap $F_{\text{tabel}} \geq 1$

No	Model Kombinasi	R	df	F_{hitung}	F_{Tabel}	$F_{\text{Hit}}/F_{\text{Tab}}$
118	AM1_Eele, AM1_LUMO, logP(o/w), logS	0.787	4	4.474	3.490295	1.28184
117	AM1_E, AM1_LUMO, logP(o/w), logS	0.786	4	4.445	3.490295	1.273531
121	mr, AM1_LUMO, logP(o/w), logS	0.783	4	4.347	3.490295	1.245454
116	AM1_dipole, logP(o/w), AM1_LUMO, logS	0.782	4	4.329	3.490295	1.240296
125	Polarizabilitas, AM1_LUMO, logP(o/w), logS	0.782	4	4.328	3.490295	1.24001
123	vol, AM1_LUMO, logP(o/w), logS	0.781	4	4.308	3.490295	1.23428
124	ASA_H, AM1_LUMO, logP(o/w), logS	0.78	4	4.269	3.490295	1.223106
120	AM1_HOMO, logP(o/w), AM1_LUMO, logS	0.778	4	4.216	3.490295	1.207921
119	AM1_HF, AM1_LUMO, logS, logP(o/w)	0.777	4	4.184	3.490295	1.198753
84	AM1_LUMO, logS, logP(o/w)	0.776	3	6.044	3.805565	1.5882
122	glob, logP(o/w), AM1_LUMO, logS	0.776	4	4.163	3.490295	1.192736
130	AM1_HOMO, logP(o/w), glob, logS	0.761	4	3.785	3.490295	1.084436
127	AM1_E, glob, logP(o/w), logS	0.76	4	3.763	3.490295	1.078132
128	AM1_Eele, glob, logP(o/w), logS	0.759	4	3.728	3.490295	1.068105
129	AM1_HF, glob, logP(o/w), logS	0.758	4	3.713	3.490295	1.063807
86	glob, logP(o/w), logS	0.756	3	5.322	3.805565	1.398478
133	ASA_H, glob, logP(o/w), logS	0.756	4	3.676	3.490295	1.053206
126	AM1_dipole, logP(o/w), glob, logS	0.756	4	3.67	3.490295	1.051487
131	mr, glob, logP(o/w), logS	0.756	4	3.661	3.490295	1.048909
132	vol, glob, logP(o/w), logS	0.756	4	3.659	3.490295	1.048336
134	Polarizabilitas, glob, logP(o/w), logS	0.756	4	3.659	3.490295	1.048336
141	ASA_H, logP(o/w), AM1_HF, logS	0.755	4	3.652	3.490295	1.04633
140	vol, logP(o/w), AM1_HF, logS	0.752	4	3.578	3.490295	1.025128
142	Polarizabilitas, logP(o/w), AM1_HF, logS	0.752	4	3.571	3.490295	1.023123
139	mr, logP(o/w), AM1_HF, logS	0.751	4	3.552	3.490295	1.017679
82	AM1_HF, logS, logP(o/w)	0.747	3	5.06	3.805565	1.329632
80	AM1_E, logP(o/w), logS	0.744	3	4.973	3.805565	1.30677
88	ASA_H, logP(o/w), logS	0.744	3	4.956	3.805565	1.302303
81	AM1_Eele, logP(o/w), logS	0.742	3	4.913	3.805565	1.291004
79	AM1_dipole, logP(o/w), logS	0.742	3	4.912	3.805565	1.290741
87	vol, logP(o/w), logS	0.742	3	4.893	3.805565	1.285749
89	Polarizabilitas, logP(o/w), logS	0.742	3	4.893	3.805565	1.285749
61	logP(o/w), logS	0.741	2	7.921	4.60011	1.721915
85	mr, logP(o/w), logS	0.741	3	4.883	3.805565	1.283121
83	AM1_HOMO, logP(o/w), logS	0.741	3	4.879	3.805565	1.28207
90	AM1_dipole, glob, logS	0.7	3	3.848	3.805565	1.011151

Kriteria lain yang dapat diterapkan untuk seleksi model regresi adalah nilai RMSE (*root mean squared error*). Perhitungan nilai RMSE menggunakan program Molecular Operating Environment (MOE 2007.09) pada sub program QuaSAR Model. Model terbaik adalah model yang memiliki RMSE rendah dan r tinggi. Karena r semua model regresi hampir sama, maka apabila model dengan $RMSE \geq 1$ dikeluarkan dapat diperoleh 30 model kombinasi prediktor sebagaimana dirangkum pada Tabel 6.

Tabel 6. Model Kombinasi Prediktor dengan Nilai RMSE ≤ 1

	Model Kombinasi	R	Std. Error of the Estimate	df	F_Hit/F_Tab	RMSE
121	mr, AM1_LUMO, logP(o/w), logS	0.783	1.012989	4	1.245454	0.839926
116	AM1_dipole, logP(o/w), AM1_LUMO, logS	0.782	1.014323	4	1.240296	0.841032
125	Polarizabilitas, AM1_LUMO, logP(o/w), logS	0.782	1.014372	4	1.240001	0.841073
123	vol, AM1_LUMO, logP(o/w), logS	0.781	1.015806	4	1.23428	0.842262
120	AM1_HOMO, logP(o/w), AM1_LUMO, logS	0.778	1.022491	4	1.207921	0.847804
119	AM1_HF, AM1_LUMO, logS, logP(o/w)	0.777	1.024894	4	1.198753	0.849797
122	glob, logP(o/w), AM1_LUMO, logS	0.776	1.026417	4	1.192736	0.85106
84	AM1_LUMO, logS, logP(o/w)	0.776	0.983282	3	1.5882	0.851547
130	AM1_HOMO, logP(o/w), glob, logS	0.761	1.055714	4	1.084436	0.875352
126	AM1_dipole, logP(o/w), glob, logS	0.756	1.065075	4	1.051487	0.883113
131	mr, glob, logP(o/w), logS	0.756	1.06588	4	1.048909	0.883781
86	glob, logP(o/w), logS	0.756	1.020617	3	1.398478	0.88388
134	Polarizabilitas, glob, logP(o/w), logS	0.756	1.065999	4	1.048336	0.88388
141	ASA_H, logP(o/w), AM1_HF, logS	0.755	1.066559	4	1.04633	0.884344
140	vol, logP(o/w), AM1_HF, logS	0.752	1.072803	4	1.025128	0.889521
142	Polarizabilitas, logP(o/w), AM1_HF, logS	0.752	1.073396	4	1.023123	0.890013
139	mr, logP(o/w), AM1_HF, logS	0.751	1.074992	4	1.017679	0.891336
129	AM1_HF, glob, logP(o/w), logS	0.758	1.061546	4	1.063807	0.895976
82	AM1_HF, logS, logP(o/w)	0.747	1.035303	3	1.329632	0.896599
133	ASA_H, glob, logP(o/w), logS	0.756	1.06459	4	1.053206	0.901178
88	ASA_H, logP(o/w), logS	0.744	1.041298	3	1.302303	0.90179
79	AM1_dipole, logP(o/w), logS	0.742	1.043848	3	1.290741	0.903999
132	vol, glob, logP(o/w), logS	0.756	1.065989	4	1.048336	0.904264
87	vol, logP(o/w), logS	0.742	1.044939	3	1.285749	0.904944
89	Polarizabilitas, logP(o/w), logS	0.742	1.044953	3	1.285749	0.904956
85	mr, logP(o/w), logS	0.741	1.045547	3	1.283121	0.90547
83	AM1_HOMO, logP(o/w), logS	0.741	1.045812	3	1.28207	0.905699
61	logP(o/w), logS	0.741	1.005031	2	1.721915	0.905923
124	ASA_H, AM1_LUMO, logP(o/w), logS	0.78	1.018652	4	1.223106	0.916621
90	AM1_dipole, glob, logS	0.7	1.112347	3	1.011151	0.96332

Tabel 6 memperlihatkan bahwa pada 7 (tujuh) model dengan nilai r tertinggi (model 121, 116, 125, 123, 120, 119 dan 122) memiliki 4 prediktor dengan 3 prediktor yang sama yaitu logP, logS, dan E_{LUMO} (AM1_LUMO). Hanya 1 prediktor yang membedakan. Model ke-8 (model 84) memiliki 3 prediktor yakni logP, logS dan E_{LUMO} . Ini berarti 3 prediktor, yaitu logP, logS dan E_{LUMO} yang memiliki kecenderungan memberikan pengaruh paling kuat terhadap aktivitas antikanker (FP IC_{50}) 2-aminothieno[2,3-d]pyrimidine karena seluruh r memberikan nilai yang hampir sama. Dengan mempertimbangkan pendapat Kubinyi (1993) bahwa persamaan QSAR “terbaik” terdiri dari 3 (tiga) prediktor, maka dapat dipilih model 84 dengan prediktor logP, logS dan E_{LUMO} sebagai model terbaik. Namun untuk membuktikan diperlukan validasi model.

Validasi bertujuan untuk menetapkan apakah model terpilih benar-benar merupakan model terbaik yang diuji dengan menerapkan validasi silang secara leave one out (LOO). Parameter yang teramati

pada validasi silang secara LOO adalah kuadrat validasi silang LOO (q^2) menjadi indikator *performance* dan stabilitas model.

Hasil perhitungan kuadrat validasi silang LOO (q^2) setiap model kombinasi prediktor dirangkum pada Tabel 7.

Tabel 7. Hasil perhitungan kuadrat validasi silang LOO (q^2)

Model	Kombinasi Prediktor	RMSE	R^2	RMSE _{CV}	R^2_{CV}	q^2_{CV}
121	mr, AM1_LUMO, logP(o/w), logS	0.83993	0.61254	1.49984	0.04011	-0.235490000
116	AM1_dipole, logP(o/w), AM1_LUMO, logS	0.84103	0.61152	1.49410	0.04917	-0.226037600
125	Polarizabilitas, AM1_LUMO, logP(o/w), logS	0.84107	0.61148	1.49969	0.04124	-0.235227413
123	vol, AM1_LUMO, logP(o/w), logS	0.84226	0.61038	1.54463	0.04468	-0.310365679
120	AM1_HOMO, logP(o/w), AM1_LUMO, logS	0.84780	0.60524	1.51924	0.03623	-0.267639724
119	AM1_HF, AM1_LUMO, logS, logP(o/w)	0.84980	0.60338	1.49986	0.04695	-0.235503032
122	glob, logP(o/w), AM1_LUMO, logS	0.85106	0.60220	1.51941	0.03862	-0.267930844
84	AM1_LUMO, logS, logP(o/w)	0.85155	0.60174	1.47001	0.04817	-0.186818787
130	AM1_HOMO, logP(o/w), glob, logS	0.87535	0.57917	1.58163	0.03432	-0.373893772
126	AM1_dipole, logP(o/w), glob, logS	0.88311	0.57167	1.57370	0.03429	-0.360153479
131	mr, glob, logP(o/w), logS	0.88378	0.57102	1.55529	0.03485	-0.328523271
86	glob, logP(o/w), logS	0.88388	0.57093	1.52208	0.03839	-0.272395750
134	Polarizabilitas, glob, logP(o/w), logS	0.88388	0.57093	1.55452	0.03574	-0.327197659
141	ASA_H, logP(o/w), AM1_HF, logS	0.90118	0.55397	1.50719	0.03648	-0.247608116
140	vol, logP(o/w), AM1_HF, logS	0.88952	0.56543	1.55646	0.03895	-0.330522778
142	Polarizabilitas, logP(o/w), AM1_HF, logS	0.89001	0.56495	1.55994	0.03904	-0.336481251
139	mr, logP(o/w), AM1_HF, logS	0.89134	0.56366	1.56243	0.03844	-0.340747000
129	AM1_HF, glob, logP(o/w), logS	0.89598	0.55910	1.53624	0.03707	-0.296181022
82	AM1_HF, logS, logP(o/w)	0.89660	0.55849	1.53715	0.03696	-0.297705983
133	ASA_H, glob, logP(o/w), logS	0.90118	0.55397	1.50719	0.03648	-0.247608116
88	ASA_H, logP(o/w), logS	0.90179	0.55336	1.50807	0.03648	-0.249071537
79	AM1_dipole, logP(o/w), logS	0.90400	0.55117	1.52406	0.03367	-0.275707924
132	vol, glob, logP(o/w), logS	0.90426	0.55091	1.51292	0.03490	-0.257123465
87	vol, logP(o/w), logS	0.90494	0.55023	1.51377	0.03488	-0.258539234
89	Polarizabilitas, logP(o/w), logS	0.90496	0.55022	1.51479	0.03519	-0.260222863
85	mr, logP(o/w), logS	0.90547	0.54971	1.51628	0.03418	-0.262717061
83	AM1_HOMO, logP(o/w), logS	0.90570	0.54948	1.55551	0.02940	-0.328902822
61	logP(o/w), logS	0.90592	0.54926	1.48691	0.03684	-0.214271882
124	ASA_H, AM1_LUMO, logP(o/w), logS	0.91662	0.53855	1.51963	0.03262	-0.268289335
90	AM1_dipole, glob, logS	0.96332	0.49033	1.53746	0.01817	-0.298233035

Dari Tabel 7 terlihat bahwa model 84 dengan prediktor logP, logS dan E_{LUMO} merupakan model yang memiliki kuadrat validasi silang LOO (q^2) terbesar dibanding model kombinasi prediktor lainnya. Oleh karena itu, model tersebut dapat dinyatakan sebagai model terbaik yang menerangkan hubungan kuantitatif struktur dan aktivitas senyawa turunan 2-Aminothieno[2,3-*d*]pyrimidine sebagai inhibitor Hsp90 dengan persamaan QSAR:

$$FP\ IC_{50} = 16.033 (\pm 3.986) - 3.02 (\pm 2.401) * E_{LUMO} + 3.254 (\pm 0.923) * \log S + 1.792 (\pm 0.752) * \log P, \text{ dengan } r = 0.776, r^2 = 0.602, n = 16, F = 0.009, \text{ dan } q^2 = -0.186818787 \dots \dots \dots (\text{pers. 1})$$

Persamaan 1 memperlihatkan bahwa persamaan QSAR tersebut tidak memenuhi kriteria statistik yang signifikan bahwa $r^2 \geq 0.8$ dan $q^2 \geq 0.5$. Oleh karena itu, diperlukan tindakan lebih lanjut untuk

memperoleh persamaan QSAR dengan kualitas statistik yang lebih baik, yaitu deteksi data senyawa uji yang memiliki bias yang besar atau *outlier* dan mengeluarkannya dalam analisis regresi. Dalam QSAR Tutorial MOE 2007.09 disebutkan bahwa data outlier adalah data yang memiliki nilai \$Z-SCORE ≥ 2.5 . Analisis \$Z-SCORE model 84 dirangkum pada Tabel 8.

Tabel 8. Analisis \$Z-SCORE model 84

Molekul	FP_IC_50_Eksp	\$PRED	\$RES	\$Z-SCORE	\$XPRED	\$XRES	\$XZ-SCORE
Senyawa01	0.056	-0.20829	0.264287	0.310361	-0.24312	0.299121	0.341279
Senyawa02	0.058	-0.29407	0.352067	0.413444	-0.36137	0.419371	0.479907
Senyawa03	0.127	0.788759	-0.66176	0.777126	0.837824	-0.71082	0.825138
Senyawa04	0.08	0.909231	-0.82923	0.973793	1.003118	-0.92312	1.086065
Senyawa05	0.029	-0.05547	0.084471	0.099197	-0.32016	0.349163	0.397519
Senyawa06	0.08	-0.48758	0.567579	0.666527	-0.63476	0.714756	0.827301
Senyawa07	0.176	-0.32969	0.505686	0.593844	-0.38885	0.56485	0.650315
Senyawa08	0.087	-0.21816	0.305156	0.358355	-0.36444	0.451444	0.516386
Senyawa09	0.102	-0.21866	0.320658	0.37656	-0.30331	0.40531	0.463459
Senyawa10	0.084	-0.11839	0.202386	0.237668	-0.1828	0.2668	0.304072
Senyawa11	0.058	-0.08329	0.141291	0.165922	-0.20757	0.265565	0.302449
Senyawa12	5.7	3.374575	2.325425	2.730825	0.759407	4.940593	56.88878
Senyawa13	0.72	2.336413	-1.61641	1.898208	2.985188	-2.26519	3.113309
Senyawa14	0.34	1.289372	-0.94937	1.114879	1.442472	-1.10247	1.314239
Senyawa15	0.3	0.864834	-0.56483	0.663303	1.000984	-0.70098	0.811008
Senyawa16	0.23	0.677396	-0.4474	0.525392	0.722979	-0.49298	0.565943

Tabel 8 memperlihatkan bahwa senyawa **12** memiliki \$Z-SCORE lebih dari 2.5 yakni 2.730825. Oleh karena itu, senyawa **12** merupakan data yang memberikan bias terlalu besar atau outlier sehingga tindakan yang diperlukan untuk memperbaiki kualitas statistik model 84 adalah dengan mengeluarkan senyawa **12** dari analisis regresi linear.

Persamaan QSAR model 84 setelah senyawa 12 dikeluarkan adalah sebagai berikut:

$$FP\ IC_{50} = 3.190(\pm 0.563) + 0.31682(\pm 0.089) * \log P + 0.605(\pm 0.605) * \log S - 0.519(\pm 0.259) * E_{LUMO}, \text{ dengan } n = 15, r = 0.864, r^2 = 0.747, q^2 = 0.268837, F = 10.815, \text{ dan } sig. = 0.001 \dots\dots\dots (\text{pers. 2})$$

Persamaan 2 memperlihatkan bahwa persamaan QSAR setelah senyawa 12 dikeluarkan memberikan kualitas statistik yang lebih baik (nilai r^2 dan q^2 lebih besar) dibanding persamaan 1. Akan tetapi persamaan 2 belum memiliki kriteria statistik signifikan ($r^2 \geq 0.8$, $q^2 \geq 0.5$). Oleh karena itu dilakukan deteksi data senyawa uji yang memiliki bias paling besar, dan kemudian mengeluarkannya. Hasil perhitung \$Z-SCORE model 84 dengan senyawa 12 dikeluarkan ditunjukan pada Tabel 9.

Tabel 9. Analisis \$Z-SCORE model 84 dihitung tanpa data senyawa 12.

Molekul	FP_IC_50_Eksp	\$PRED	\$RES	\$Z-SCORE	\$XPRED	\$XRES	\$XZ-SCORE
Senyawa01	0.056	0.063652	-0.00765	0.088107	0.064724	-0.00872	0.097074
Senyawa02	0.058	0.052313	0.005687	0.065487	0.05114	0.00686	0.076323
Senyawa03	0.127	0.259191	-0.13219	1.522121	0.272815	-0.14582	1.780851
Senyawa04	0.08	0.274475	-0.19447	2.239294	0.305289	-0.22529	3.201622
Senyawa05	0.029	0.092663	-0.06366	0.733053	0.294248	-0.26525	3.19904
Senyawa06	0.08	0.017637	0.062363	0.718077	-0.00079	0.080794	0.919469
Senyawa07	0.176	0.040547	0.135453	1.559683	0.022656	0.153344	1.887909
Senyawa08	0.087	0.043588	0.043412	0.499874	0.022205	0.064795	0.729923
Senyawa09	0.102	0.079722	0.022278	0.256519	0.073563	0.028437	0.317232
Senyawa10	0.084	0.099694	-0.01569	0.180713	0.104803	-0.0208	0.231749
Senyawa11	0.058	0.059565	-0.00157	0.018024	0.060952	-0.00295	0.032838
Senyawa13	0.72	0.552289	0.167711	1.931125	0.33581	0.38419	6.513864
Senyawa14	0.34	0.362875	-0.02287	0.263394	0.369087	-0.02909	0.324528
Senyawa15	0.3	0.289946	0.010054	0.11577	0.28706	0.01294	0.144025
Senyawa16	0.23	0.238844	-0.00884	0.10183	0.239928	-0.00993	0.11048

Terlihat pada Tabel 9 bahwa seluruh senyawa uji (setelah senyawa 12 dikeluarkan dari perhitungan) memiliki \$Z-SCORE dibawah 2.5. Namun karena model 84 belum memberikan persamaan QSAR dengan kualitas statistik yang signifikan, maka dapat dipilih satu senyawa percobaan nilai \$Z-SCORE paling tinggi sebagai data outlier. Data senyawa uji yang memberikan \$Z-SCORE paling tinggi adalah senyawa 04 dengan \$Z-SCORE = 2.239294. Oleh karena itu, untuk mendapatkan persamaan QSAR dengan kualitas statistik yang lebih baik, maka data senyawa **04** dikeluarkan dari analisis regresi linear model 84.

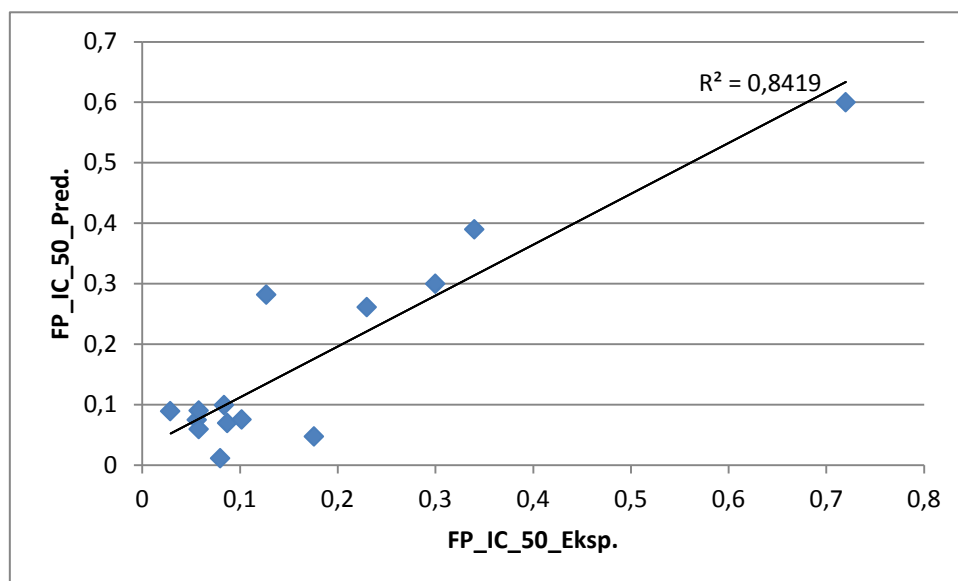
Persamaan QSAR yang diperoleh setelah senyawa **12** dan senyawa **04** dikeluarkan adalah sebagai berikut:

$$FP\ IC_{50} = 3.487(\pm 0.477) - 0.58(\pm 0.214) * E_{LUMO} + 0.672(\pm 0.105) * \log S + 0.367(0.076) * \log P, \text{ dengan } n = 14, r = 0.918, r^2 = 0.842, q^2 = 0.472172, F = 17.749, \text{ dan } Sig. = 0.000 \dots\dots\dots (\text{pers. 3})$$

Persamaan 3 memperlihatkan bahwa persamaan QSAR setelah senyawa **12** dan senyawa **04** dikeluarkan memberikan kriteria statistik yang signifikan dimana kuadrat koefisien regresi (r^2) lebih besar dari 0.8 yakni 0.842, dan harga q^2 dapat dibulatkan menjadi 0.5.

Dengan demikian persamaan QSAR tersebut merupakan persamaan terbaik untuk mempelajari hubungan kuantitatif struktur dan aktivitas senyawa turunan 2-aminothieno[2,3-d]pyrimidine sebagai

inhibitor Hsp90. Plot hubungan FP IC₅₀ eksperimen dan FP IC₅₀ prediksi yang diperoleh dari persamaan persamaan 3 ditunjukkan pada Gambar 11.



Gambar 10. *Scatter plot* FP IC₅₀ eksperimen versus FP IC₅₀ prediksi model 84 setelah data senyawa **12** dan senyawa **04** dikeluarkan.

Dari persamaan QSAR terbaik dapat diketahui bahwa prediktor yang paling mempengaruhi aktivitas antikanker (FP IC₅₀) senyawa turunan 2-aminothieno[2,3-*d*]pyrimidine adalah koefisien partisi (logP), kelarutan (logS), dan energi LUMO (E_{LUMO}). Dari tanda koefisien setiap prediktor dapat diketahui pengaruh setiap prediktor terhadap aktivitas antikanker. Prediktor logP dan logS bertanda positif (+) berarti bahwa dengan peningkatan logP dan logS akan meningkatkan harga FP IC₅₀ atau menurunkan aktivitas antikanker, sedangkan E_{LUMO} bertanda negatif (-) berarti peningkatan energi LUMO akan menurunkan FP IC₅₀ atau meningkatkan aktivitas.

Harga setiap prediktor, koefisien partisi (logP), kelarutan (logS), dan energi LUMO (E_{LUMO}) adalah berkaitan dengan kontribusi substituen R. Dengan demikian dapat dirancang senyawa baru dengan memvariasikan atau modifikasi substituen R. Karena tujuan dari perancangan senyawa baru adalah untuk memperoleh aktivitas yang lebih baik dari senyawa sebelumnya, maka modifikasi dilakukan pada R yang memberikan zona paling aktif.

Dari hasil studi hubungan kuantitatif struktur dan aktivitas senyawa turunan 2-Aminothieno[2,3-*d*]pyrimidine terlihat bahwa dua prediktor yang paling mempengaruhi aktivitas senyawa-senyawa yakni logP dan logS merupakan kelompok efek hidrofobik, sedangkan Energi LUMO merupakan kelompok efek elektronik.

Koefisien partisi (logP) suatu obat merupakan rasio kesetimbangan kadar/konsentrasi obat dalam pelarut oktanol dan dalam pelarut air pH 7.4. Besarnya harga logP setiap senyawa ikut dipengaruhi oleh substituen atau gugus fungsi yang membentuk molekul obat. Koefisien partisi akan mempengaruhi cara pemberian obat (misalnya melalui suntik atau secara oral sehingga melalui saluran cerna). Karena biasanya obat disebarkan oleh darah, maka obat harus menembus dan melintasi sejumlah sel untuk mencapai sisi kerja. Obat yang sangat larut dalam air mungkin tidak mampu menembus sawar (barrier) lipid untuk mencapai organ lipid, misalnya otak dan jaringan syaraf lain. Namun senyawa dapat melintasi sawar darah-otak (brain-blood barrier) dengan cara berdifusi dari fase air (darah) ke yang lain (serebrospinal). Sebaliknya, senyawa yang sangat lipid akan terperangkap pada jaringan lemak sehingga tidak mampu meninggalkan tempat untuk mencapai sasaran (Nogrady, T., 1992).

Kelarutan atau logS yang menjadi parameter fisikokimia dalam studi hubungan kuantitatif struktur dan aktivitas senyawa turunan 2-aminothieno [2,3-d]pyrimidine dalam penelitian ini adalah merujuk kepada kelarutan senyawa dalam pelarut air. Sebagaimana dipahami bahwa seberapa besar struktur hidup terdiri atas air, dan semua reaksi biokimia yang melibatkan molekul kecil adalah terlarut dalam air, atau makromolekul yang terdispersi pada fase air. Sifat kelarutan molekul adalah sangat penting secara farmakologi karena dalam larutan saja molekul obat dapat berinteraksi dengan sel atau subsel yang mengandung reseptor obat sehingga dapat memicu timbulnya efek farmakologis. Kemampuan air membentuk ikatan hidrogen dengan ion atau dengan senyawa nonionik polar seperti gugus—OH, —NH, —SH, dan —C=O, atau dengan pasangan elektron tak berikatan pada atom O atau N, menyebabkan pula pentingnya peranan sifat kelarutan senyawa obat dalam air (Nogrady, T., 1992). Brough P.A., dkk. (2009) mengemukakan bahwa salah satu mekanisme interaksi senyawa turunan 2-aminothieno [2,3-d]pyrimidine dengan reseptor target (Hsp90α) adalah melalui ikatan hidrogen dengan mediasi molekul air. Hal ini membuktikan salah satu peranan penting sifat kelarutan molekul obat dalam air dalam menunjang aktivitas farmakologisnya.

Energi LUMO (*Lowest Unoccupied Molecular Orbital*) merupakan parameter elektronik sebagai salah satu sifat fisikokimia yang turut mempengaruhi aktivitas molekul obat. Parameter Energi LUMO yang dimiliki oleh suatu molekul menunjukkan kemampuan molekul tersebut melakukan interaksi elektronik secara ionik atau interaksi dipol-dipol antara obat dengan reseptor.

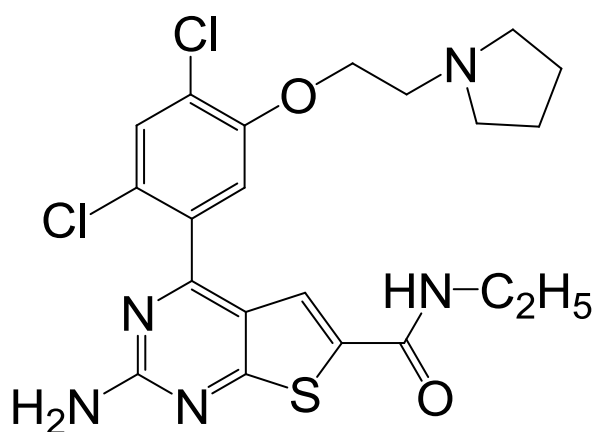
5.2 Kajian Desain Senyawa Baru

Desain senyawa baru ditujukan untuk mendapatkan senyawa yang memiliki aktivitas lebih baik dari senyawa sebelumnya. Desain senyawa baru dapat dilakukan dengan mempertimbangkan hasil analisis

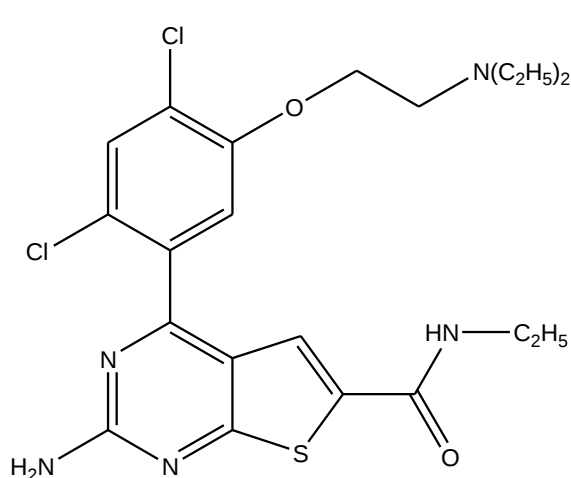
QSAR terhadap molekul-molekul sebelumnya, yaitu parameter yang berpengaruh terhadap aktivitas biologik senyawa.

Dengan berdasarkan kajian hubungan kuantitatif struktur dan aktivitas anti kanker senyawa turunan 2-aminothieno[2,3-*d*]pyrimidine, maka dapat diperoleh bahwa terdapat tiga parameter yang mempengaruhi aktivitas senyawa turunan 2-aminothieno[2,3-*d*]pyrimidine, yakni koefisien partisi atau logP, kelarutan (logS) dan energi LUMO (E_{LUMO}). Parameter-parameter ini berkaitan dengan substituen R.

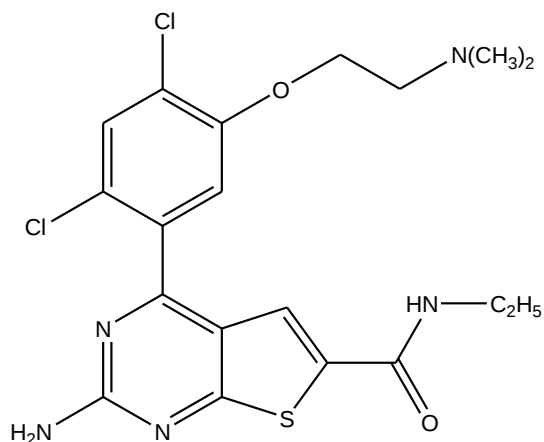
Sebagaimana disebutkan sebelumnya bahwa tiga tindakan dalam desain senyawa baru, yaitu menentukan senyawa induk, memilih bagian substituen R senyawa penuntun untuk digantikan substituen baru, dan menentukan daftar substituen baru. Penelitian tahun pertama menggunakan senyawa penuntun 1 (Gambar 11) dan penelitian tahun kedua menggunakan dua senyawa penuntun yaitu senyawa penuntun B (Gambar 12A) dan senyawa penuntun C (Gambar 12B).



Gambar 11. Senyawa penuntun 1



Gambar 12A. Senyawa Penuntun 2



Gambar 12B. Senyawa Penuntun 3

Dari Skema Topliss dapat disarankan bahwa pengembangan senyawa obat baru dapat dilakukan melalui substitusi atom Cl dengan substituen lain. Skema Topliss merekomendasikan adanya pengaruh aktivitas biologis senyawa apabila atom Cl yang terikat pada suatu cincin aromatik tersubstitusi oleh substituen lain.

Oleh karena itu, perancangan molekul baru senyawa turunan 2-aminothieno[2,3-d]pyrimidine dapat dilakukan melalui modifikasi substituen Cl. Penyusunan seri senyawa baru dilakukan dengan pendekatan Skema Topliss (Gambar 4). Dengan Skema Topliss, daftar substituen dalam perancangan molekul baru adalah -Cl, -H, -CH₃, -C₄H₉, -N(CH₃)₂, -NO₂, -F, dan -CF₃. Substituen-substituen ini disusun secara kombinatorial pada posisi X dan Y. Kombinasi 8 (delapan) substituen pada dua posisi rantai samping (X dan Y) maka diperoleh 64 (8 x 8) senyawa dengan 63 senyawa baru dan 1 senyawa induk dengan X = Cl, dan Y = Cl untuk setiap senyawa induk (lead compound).

Sama dengan untuk keperluan analisis QSAR, seluruh model molekul senyawa baru dalam model molekul 2D menggunakan Hyperchem 8, kemudian dengan menggunakan perintah *Add H & Model Build* dari program HyperChem® Release 8.0 diperoleh model molekul 3D. Setiap model molekul kemudian dioptimasi geometri secara semi empiris metode AM1 dengan gradient 0,01 kkal/A° yang terdapat pada program HyperChem® Release 8.0. Seluruh model molekul selanjutnya disimpan dalam ekstensi *.mol.

Tahapan berikutnya adalah perhitungan besaran parameter yaitu mencakup tiga prediktor yang terdapat pada persamaan QSAR yang diperoleh sebelumnya yakni koefisien partisi (logP), kelarutan (logS) dan energi LUMO (E_{LUMO}). Ketiga parameter ini dihitung menggunakan program MOE 2007.09. Dengan diperolehnya data besaran ketiga prediktor tersebut selanjutnya dapat dihitung parameter aktivitas teoritis setiap seri senyawa baru.

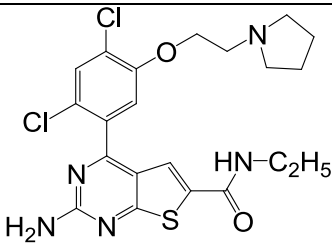
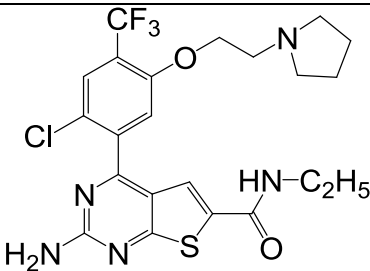
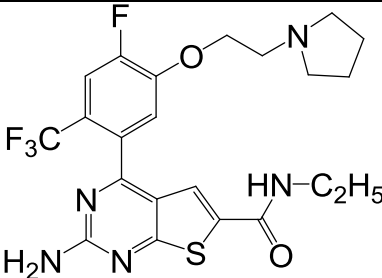
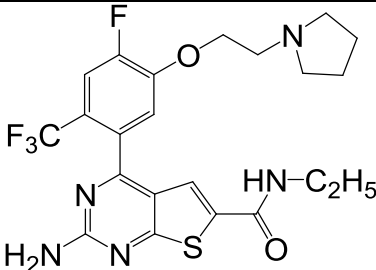
Hasil perhitungan aktivitas teoritis senyawa turunan 2-aminothieno [2,3-d]pyrimidine yang merupakan modifikasi dari Senyawa Penuntun 1 (Gambar 11) ditunjukkan pada Tabel 10.

Tabel 10. Aktivitas teoritis Senyawa Baru Turunan 2-aminothieno[2,3-*d*]pyrimidine dari Senyawa Penuntun 1

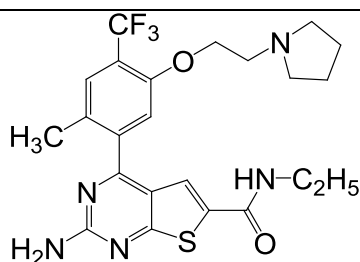
Senyawa	X	Y	logP	logS	E_LUMO	FP IC ₅₀ Pred.
8	-CF ₃	-Cl	4.17676	-8.41332	-1.10724	0.008319
63	F	-CF ₃	3.73776	-7.97401	-0.94047	0.045696
17	Cl	-CH ₃	3.54	-7.83069	-0.91915	0.057063
24	CF ₃	-CH ₃	3.88276	-8.15295	-1.08190	0.060692
7	F	-Cl	3.395	-7.65175	-0.91880	0.123893
61	N(CH ₃) ₂	-CF ₃	3.49976	-7.60644	-0.80841	0.128762
49	Cl	F	3.395	-7.65175	-0.94671	0.140081
58	H	CF ₃	3.54976	-7.67903	-0.91217	0.158512
59	CH ₃	CF ₃	3.88276	-7.8395	-0.89143	0.160858
56	CF ₃	F	3.73776	-7.97401	-1.17375	0.180998
2	H	Cl	3.207	-7.35677	-0.80472	0.186957
23	F	CH ₃	3.101	-7.39138	-0.91829	0.190668
5	N(CH ₃) ₂	Cl	3.157	-7.28418	-0.78060	0.203398
40	CF ₃	N(CH ₃) ₂	3.49976	-7.60644	-0.94362	0.207184
3	CH ₃	Cl	3.54	-7.51724	-0.82720	0.214371
33	Cl	N(CH ₃) ₂	3.157	-7.28418	-0.80716	0.218803
18	H	CH ₃	2.913	-7.0964	-0.81728	0.261313
21	N(CH ₃) ₂	CH ₃	2.863	-7.02381	-0.77398	0.266629
41	Cl	NO ₂	2.302	-7.21433	-1.35881	0.271914
19	CH ₃	CH ₃	3.246	-7.25687	-0.82731	0.281505
9	Cl	H	3.207	-7.35677	-0.98356	0.290684
55	F	F	2.956	-7.21244	-1.01601	0.314378
22	NO ₂	CH ₃	2.008	-6.95396	-1.31755	0.315054
6	NO ₂	Cl	2.302	-7.21433	-1.44570	0.32231
16	CF ₃	H	3.54976	-7.67903	-1.19988	0.325384
48	CF ₃	NO ₂	2.64476	-7.53659	-1.60842	0.325922
39	F	N(CH ₃) ₂	2.718	-6.84487	-0.77713	0.335489
62	NO ₂	CF ₃	2.64476	-7.53659	-1.63200	0.339598
42	H	NO ₂	1.675	-6.48004	-1.03078	0.34499
50	H	F	2.768	-6.91746	-0.85061	0.347677
47	F	NO ₂	1.863	-6.77502	-1.28763	0.364733
51	CH ₃	F	3.101	-7.07793	-0.85974	0.367347
53	N(CH ₃) ₂	F	2.718	-6.84487	-0.85674	0.381662
45	N(CH ₃) ₂	NO ₂	1.625	-6.40745	-1.06105	0.392978
34	H	N(CH ₃) ₂	2.53	-6.54989	-0.68317	0.410223
37	N(CH ₂)	N(CH ₃) ₂	2.48	-6.4773	-0.63134	0.410591

Tabel 10 menunjukkan bahwa terdapat 46 senyawa baru yang diprediksi memiliki aktivitas antikanker. Tabel 10 juga memperlihatkan senyawa **8** dan **63** memiliki aktivitas lebih baik dibanding senyawa induk (FP IC₅₀ Senyawa induk = 0.058). Senyawa **17** dan **24** memiliki aktivitas mendekati senyawa induk. Seri senyawa lainnya memiliki aktivitas lebih rendah dibanding senyawa induk. Secara lengkap struktur molekul keempat senyawa ini ditunjukkan pada Tabel 11.

Tabel 11. Senyawa baru dengan aktivitas lebih baik atau mendekati senyawa induk 1

Senyawa	Struktur	Aktivitas
Senyawa Penuntun 1		0.058 (experiment)
Senyawa 1-08		0.008 (perhitungan)
Senyawa 1-63		0.046 (perhitungan)
Senyawa 1-17		0.057 (perhitungan)

Senyawa 1-24

0.061
(perhitungan)

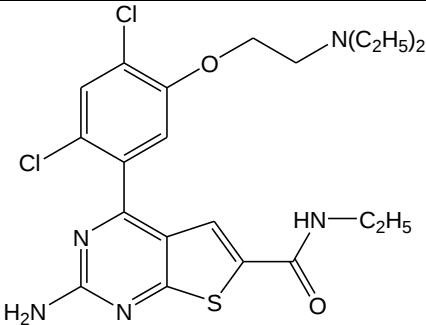
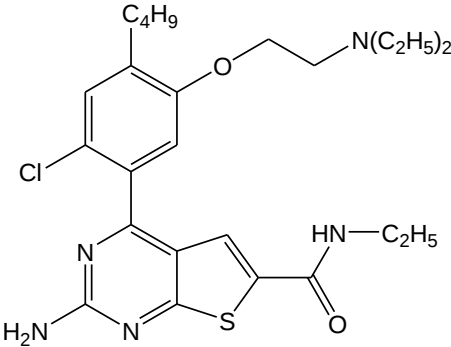
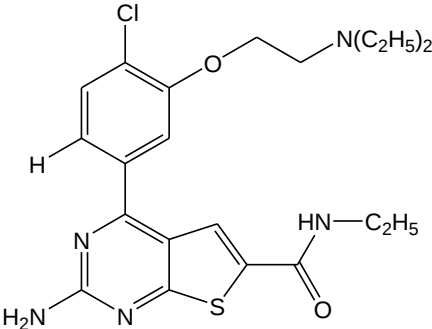
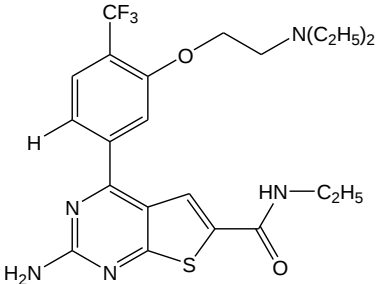
Hasil perhitungan aktivitas teoritis senyawa turunan 2-aminothieno [2,3-d]pyrimidine yang merupakan modifikasi dari senyawa penuntun 2 (Gambar 12A) ditunjukkan pada Tabel 12.

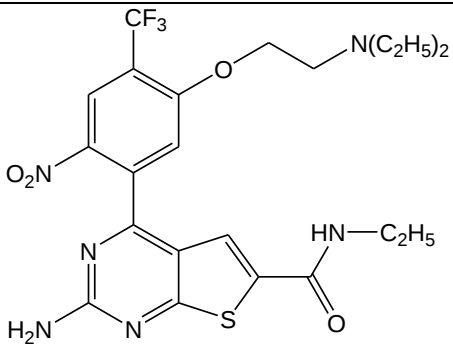
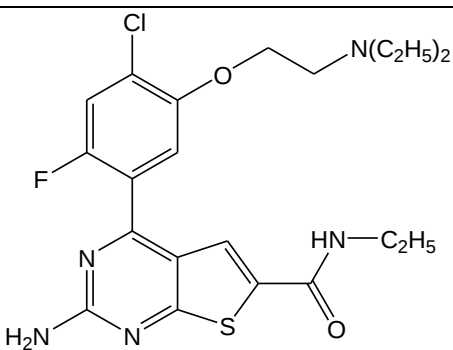
Tabel 12. Aktivitas teoritis Turunan 2-aminothieno[2,3-d]pyrimidine dengan Senyawa Penuntun 2

No	Senyawa	X	Y	LUMO	LogP	LogS	Aktivitas
1	A-25	C4H9	Cl	-0,96068	4,204	-8,2056	0,07293
2	A-02	Cl	H	-0,90251	3,472	-7,7076	0,10515
3	A-58	CF3	H	-1,22721	4,10876	-8,2903	0,13564
4	A-62	CF3	NO2	-1,39757	3,03476	-7,8348	0,1464
5	A-07	Cl	F	-1,25028	4,10876	-8,2903	0,14902
6	A-42	NO2	H	-1,2578	2,692	-7,5125	0,15609
7	A-49	F	Cl	-1,42263	3,03476	-7,8348	0,16093
8	A-60	CF3	C4H9	-1,16605	3,81476	-8,0299	0,16724
9	A-44	NO2	C4H9	-1,16679	2,398	-7,2521	0,17038
10	A-64	CF3	CF3	-1,47068	4,45152	-8,6125	0,18609
11	A-50	F	H	-1,01356	3,327	-7,5287	0,23659
12	A-55	F	F	-1,17575	2,253	-7,0732	0,24261
13	A-32	C4H9	CF3	-0,79165	3,089	-7,1611	0,26755
14	A-57	CF3	Cl	-1,22479	3,66976	-7,8509	0,26834
15	A-13	H	N(CH3)2	-1,01878	2,065	-6,7782	0,2808
16	A-06	Cl	NO2	-1,10402	3,327	-7,5287	0,28906
17	A-46	NO2	NO2	-0,99459	2,015	-6,7056	0,2972
18	A-15	H	F	-1,0653	3,48176	-7,556	0,30507
19	A-52	F	C4H9	-1,0177	3,033	-7,2683	0,30607
20	A-48	NO2	CF3	-1,28855	2,253	-7,0732	0,30803
21	A-63	CF3	F	-1,3003	3,66976	-7,8509	0,31214
22	A-61	CF3	N(CH3)2	-1,05856	3,43176	-7,4834	0,33159
23	A-21	CH3	N(CH3)2	-1,08638	2,398	-6,9387	0,33438
24	A-23	CH3	F	-1,0929	3,81476	-7,7164	0,33545
25	A-04	Cl	C4H9	-0,90998	3,089	-7,1611	0,33618
26	A-16	H	CF3	-0,95705	3,472	-7,3942	0,34742
27	A-41	NO2	Cl	-0,824	2,795	-6,9008	0,35338
28	A-10	H	H	-0,87966	2,845	-6,9733	0,35523
29	A-08	Cl	CF3	-1,00967	3,139	-7,2337	0,36357
30	A-05	Cl	N(CH3)2	-1,6194	2,692	-7,5125	0,36582
31	A-18	CH3	H	-0,9063	3,178	-7,1338	0,38506
32	A-43	NO2	CH3	-1,21426	2,065	-6,7782	0,39418
33	A-56	F	CF3	-1,0732	2,888	-7,0894	0,40529
34	A-59	CF3	CH3	-1,26411	3,48176	-7,556	0,42038
35	A-54	F	NO2	-0,86655	2,65	-6,7218	0,44509
36	A-14	H	NO2	-0,91993	2,7	-6,7944	0,44562
37	A-12	H	C4H9	-0,71282	2,462	-6,4268	0,48516
38	A-51	F	CH3	-0,9981	2,7	-6,7944	0,49096

Tabel 11 memperlihatkan senyawa 2-25 (X=C₄H₉, Y=Cl), 2-02 (X=Cl, Y=H), 2-58 (X=CF₃, Y=H), 2-62 (X=CF₃, Y=NO₂) dan 2-07 (X=Cl, Y=F) memiliki yang mendekati senyawa induk (FP IC₅₀ Senyawa induk = 0.056. Secara lengkap struktur molekul keempat senyawa ini ditunjukkan pada Tabel 13.

Tabel 13. Senyawa baru dengan aktivitas lebih baik atau mendekati senyawa penuntun 2

Senyawa	Struktur	Aktivitas
Senyawa Penuntun 2		0.056 (experiment)
Senyawa 2-25		0.105 (perhitungan)
Senyawa 2-02		0.136 (perhitungan)
Senyawa 2-58		0.057 (perhitungan)

Senyawa 2-62		0.146 (perhitungan)
Senyawa 2-07		0.149 (perhitungan)

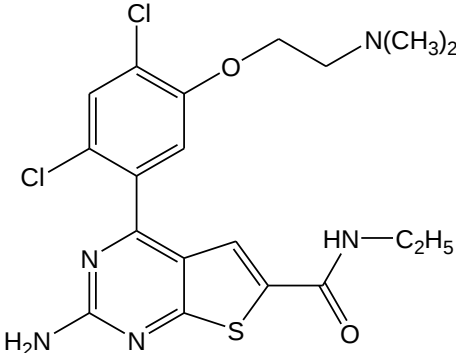
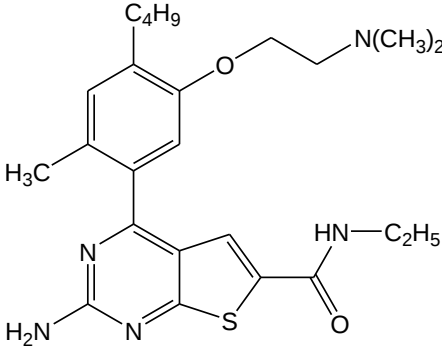
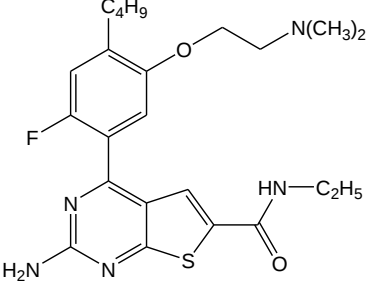
Hasil perhitungan aktivitas teoritis senyawa turunan 2-aminothieno [2,3-d]pyrimidine yang merupakan modifikasi dari senyawa penuntun 3 (Gambar 12B) ditunjukkan pada Tabel 12.

Tabel 14. Aktivitas teoritis Turunan 2-aminothieno[2,3-*d*]pyrimidine dengan Senyawa Penuntun 3

No	Senyawa A						
	Senyawa	X	Y	LUMO	LogP	LogS	Aktivitas
1	B-27	C ₄ H ₉	CH ₃	-0,85011	3,855	-8,02505	0,002015
2	B-31	C ₄ H ₉	F	-0,91786	3,71	-7,84611	0,108343
3	B-29	C ₄ H ₉	N(CH ₃) ₂	-0,77176	3,472	-7,47854	0,183266
4	B-26	C ₄ H ₉	H	-0,89404	3,522	-7,55113	0,223758
5	B-03	Cl	CH ₃	-0,96235	2,79	-7,05321	0,329336
6	B-06	Cl	NO ₂	-1,24914	2,01	-6,85807	0,340548
7	B-57	CF ₃	Cl	-1,25966	3,42676	-7,63584	0,343939
8	B-08	Cl	CF ₃	-1,2644	3,42676	-7,63584	0,346689
9	B-59	CF ₃	CH ₃	-1,16723	3,13276	-7,37547	0,3574
10	B-46	NO ₂	NO ₂	-1,45574	0,936	-6,40256	0,372321
11	B-64	CF ₃	CF ₃	-1,46974	3,76952	-7,9581	0,37502
12	B-43	NO ₂	CH ₃	-1,19546	1,716	-6,5977	0,376484
13	B-49	F	Cl	-0,97774	2,645	-6,87427	0,405295
14	B-07	Cl	F	-0,99941	2,645	-6,87427	0,417863
15	B-51	F	CH ₃	-0,91764	2,351	-6,6139	0,437507
16	B-09	H	Cl	-0,85925	2,457	-6,57929	0,465801
17	B-61	CF ₃	N(CH ₃) ₂	-0,98649	2,74976	-6,82896	0,479265
18	B-54	F	NO ₂	-1,25903	1,571	-6,41876	0,480388
19	B-38	N(CH ₃) ₂	NO ₂	-0,98651	1,333	-6,05119	0,481987
20	B-56	F	CF ₃	-1,26871	2,98776	-7,19653	0,483292
21	B-24	CH ₃	CF ₃	-1,02357	3,13276	-7,06202	0,484716
22	B-17	CH ₃	Cl	-0,87984	2,79	-6,73976	0,492119
23	B-40	N(CH ₃) ₂	CF ₃	-1,01672	2,74976	-6,82896	0,496798
24	B-33	N(CH ₃) ₂	Cl	-0,86758	2,407	-6,5067	0,501063
25	B-48	NO ₂	CF ₃	-1,29863	1,571	-6,41876	0,503356
26	B-47	NO ₂	F	-1,30538	1,571	-6,41876	0,507271
27	B-45	NO ₂	N(CH ₃) ₂	-1,04867	1,333	-6,05119	0,51804
28	B-14	H	NO ₂	-1,1042	1,383	-6,12378	0,519817
29	B-05	Cl	N(CH ₃) ₂	-0,90035	2,407	-6,5067	0,52007
30	B-16	H	CF ₃	-1,11206	2,79976	-6,90155	0,521665
31	B-63	CF ₃	F	-1,33507	2,98776	-7,19653	0,52178
32	B-22	CH ₃	NO ₂	-1,09887	1,716	-6,28425	0,531101
33	B-19	CH ₃	CH ₃	-0,83281	2,496	-6,47939	0,531912
34	B-02	Cl	H	-0,9825	2,457	-6,57929	0,537286
35	B-11	H	CH ₃	-0,87111	2,163	-6,31892	0,539751
36	B-55	F	F	-0,9958	2,206	-6,43496	0,549873
37	B-35	N(CH ₃) ₂	CH ₃	-0,84629	2,113	-6,24633	0,555786
38	B-58	CF ₃	H	-1,20178	2,79976	-6,90155	0,573703
39	B-23	CH ₃	F	-0,89626	2,351	-6,30045	0,635746
40	B-39	N(CH ₃) ₂	F	-0,8748	1,968	-6,06739	0,639354

Tabel 12 memperlihatkan senyawa 3-27 (X=C₄H₉, Y=CH₃) dan 3-31 (X=C₄H₉, Y=F) memiliki aktivitas yang mendekati senyawa induk (FP IC₅₀ Senyawa induk = 0.127). Secara lengkap struktur molekul kedua senyawa tersebut ditunjukkan pada Tabel 13.

Tabel 13. Senyawa baru dengan aktivitas lebih baik atau mendekati senyawa penuntun 3

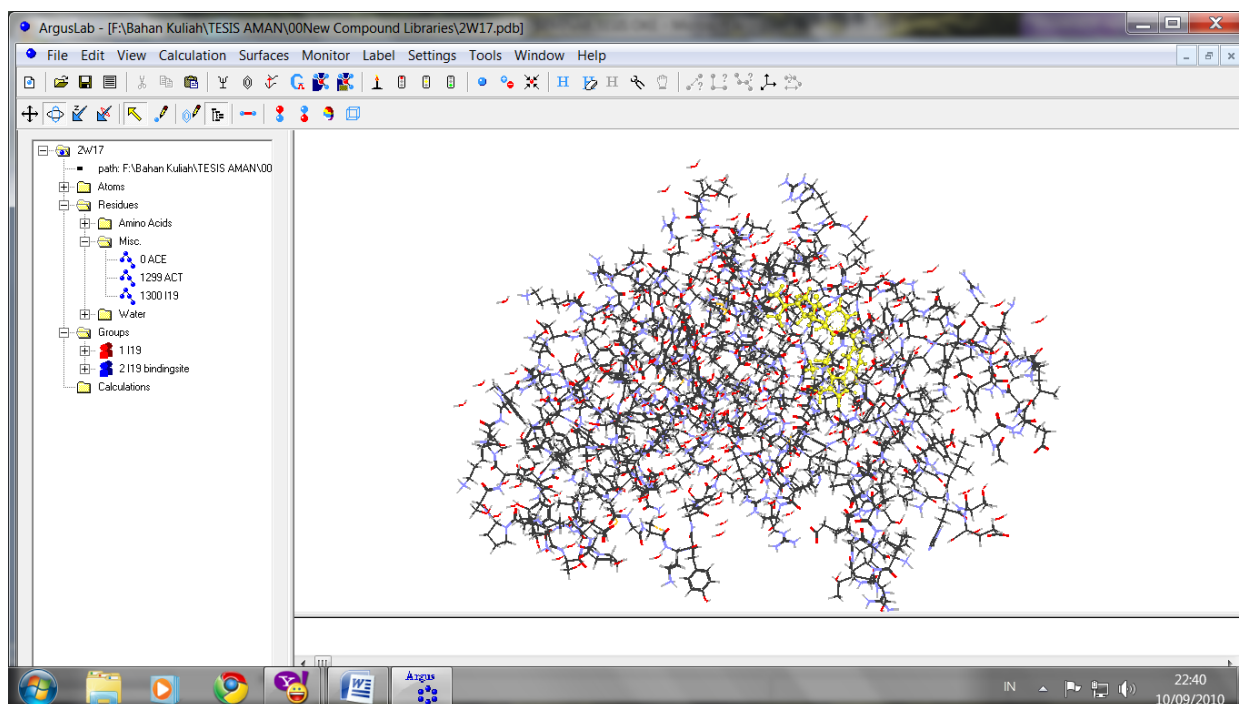
Senyawa	Struktur	Aktivitas
Senyawa Penuntun 3		0.056 (experiment)
Senyawa 3-27		0.002 (perhitungan)
Senyawa 3-31		0.108 (perhitungan)

4.3 Interaksi Senyawa Baru dengan Hsp90

Kajian interaksi senyawa baru dengan reseptor target dapat dilakukan dengan pendekatan docking molekul (*molecular docking*) secara komputasi. Docking berarti perlakuan satu molekul di sekitar molekul lainnya sehingga terjadi orientasi untuk terjadinya interaksi antara kedua molekul. Apabila terdapat interaksi antara kedua molekul maka dapat dihitung beberapa parameter interaksi. Dengan menggunakan program Arguslab 4.0.1, interaksi suatu ligan dengan reseptor target dapat diamati dalam 2 (dua) parameter, yaitu energi besar (ΔG) dan ikatan hidrogen yang dapat terbentuk.

Molekul protein sebagai reseptor target untuk keperluan docking molekular senyawa uji adalah Hsp90 α (pdb code: 2W17) yang diunduh dari www.pdb.org. Visualisasi struktur molekul Hsp90 α pada jendela Arguslab ditunjukkan pada Gambar 13.

Ada empat senyawa baru yang dipelajari interaksinya dengan situs pengikatan (*binding site*) dari reseptor Hsp90 α , yaitu dua senyawa dengan aktivitas lebih baik (senyawa 8, senyawa 63) dan dua senyawa dengan aktivitas mendekati senyawa induk (senyawa 17, senyawa 24).

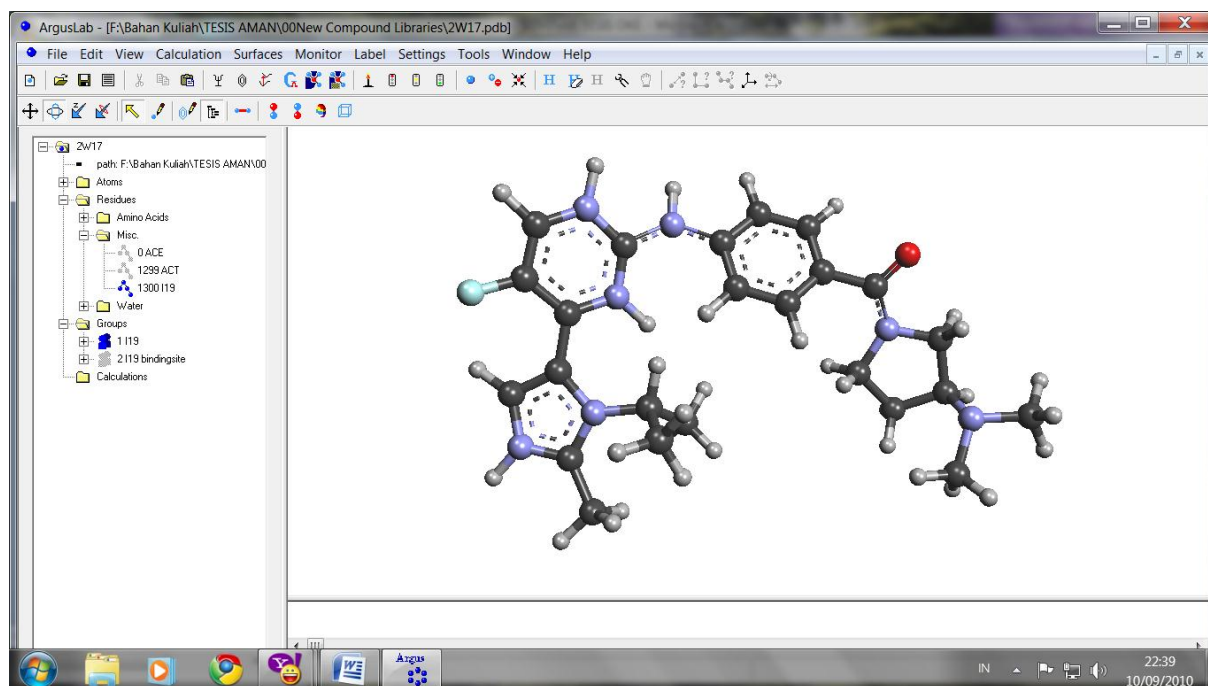


Gambar 13. Visualisasi struktur molekul reseptor Hsp90 α pada Arguslab. Tampak *native ligand* (warna kuning) berada didalamnya.

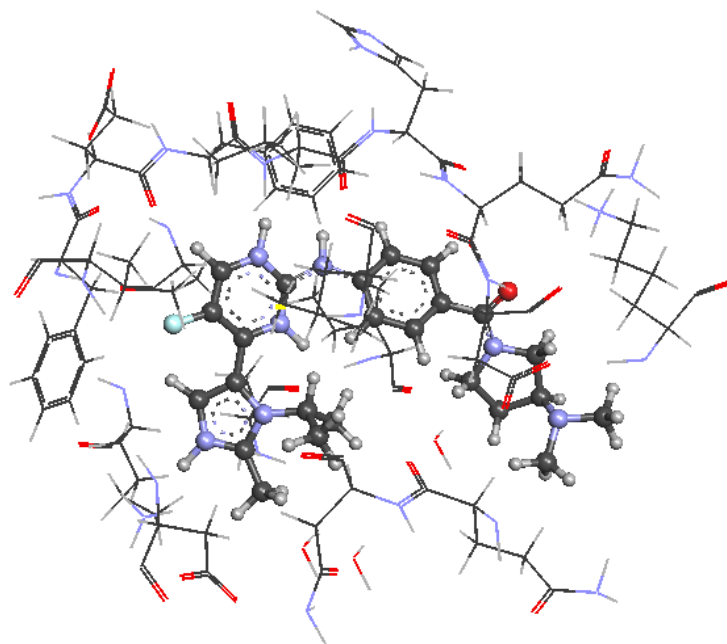
Evaluasi docking molekular dilakukan dengan menggunakan program Arguslab 4.0.1. Setelah molekul Hsp90 α ditampilkan pada jendela Arguslab, seluruh *native ligand* reseptor ini kemudian dimunculkan, dan diamati *native ligand* yang cenderung memiliki kemiripan struktur dengan senyawa percobaan.

Setelah *native ligand* Hsp90 α dimunculkan pada jendela Arguslab dengan menggunakan perintah *molecule tree view* pada folder residu senyawa 2W17, dapat diketahui reseptor Hsp90 α memiliki 3 (tiga) *native ligand*. Dari tiga *native ligand* reseptor Hsp90 α , hanya satu yang memiliki kemiripan struktur molekul dengan senyawa uji, yaitu *native ligand* dengan kode 1300 I19 (Gambar 14). Situs pengikatan (*binding site*) *native ligand* dengan kode 1300 I19 ini kemudian menjadi target docking empat senyawa uji.

Untuk memudahkan pengamatan visual dalam proses docking, maka sebelum docking dilaksanakan, *binding site* reseptor target bersama *native ligand* dalam keadaan tervisualisasi sedangkan atom-atom lain tersembunyikan (*hide*) (Gambar 15).

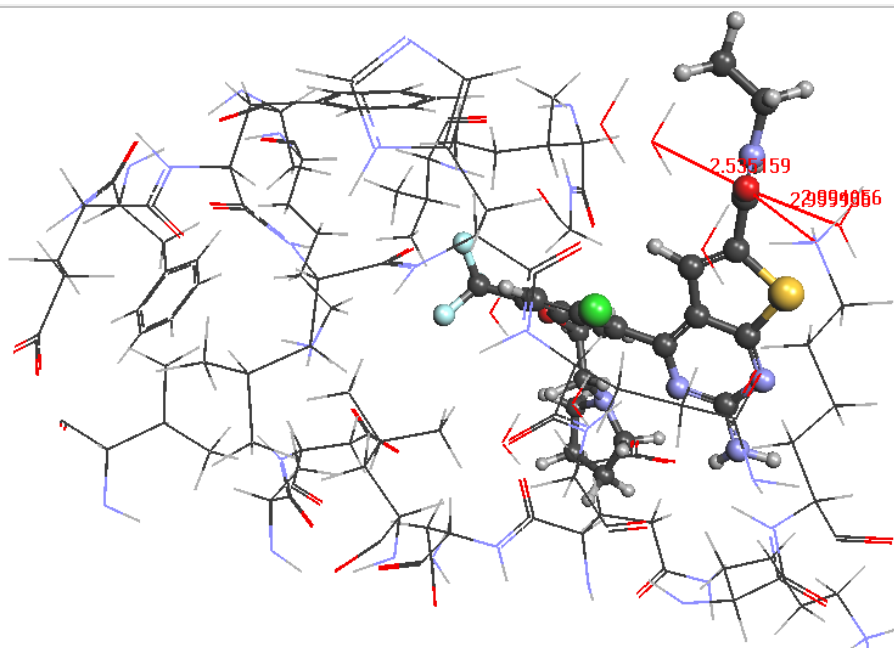


Gambar 14. Visualisasi struktur molekul *native ligand* reseptor Hsp90α setelah atom-atom lain dari semua residu disembunyikan (*hide*).

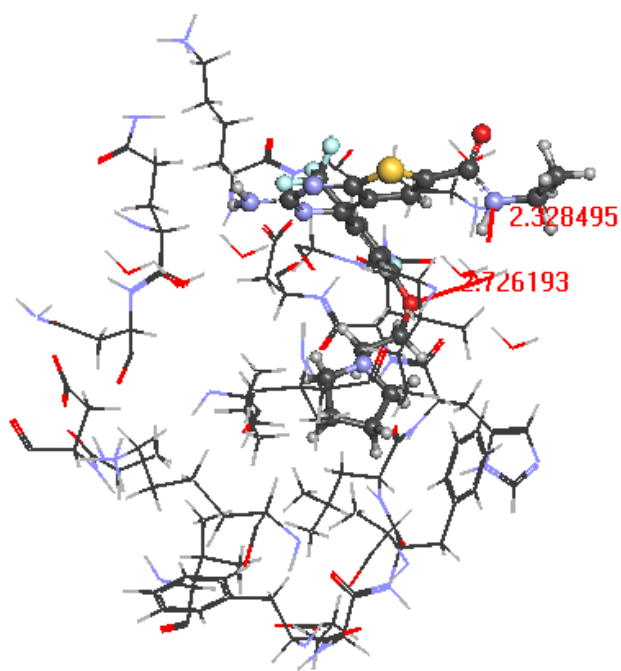


Gambar 15. Visualisasi *native ligand* (render mode: *ballcylinder*) berada diantara *binding site* reseptor Hsp90α (render mode: *wireframe*). Atom-atom lain dari molekul Hsp90α disembunyikan (*hide*).

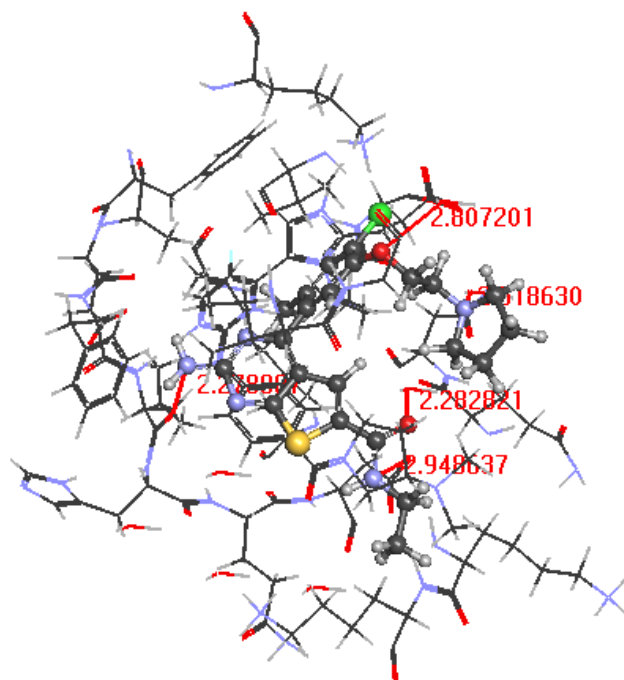
Setiap senyawa uji juga dimunculkan pada jendela Arguslab dan diaktifkan sebagai ligan. Setiap senyawa uji didocking ke *binding site* reseptor dengan menggunakan urutan perintah *Calculation >> Dock A Ligand*. Dari hasil docking, dicatat dua parameter, yaitu *Best Ligand Pose Energy* dan jumlah ikatan hidrogen bersama jarak ikatan yang terbentuk antara molekul ligan dengan *binding site* reseptor target maupun dengan molekul air (H₂O) yang berada di sekitar *binding site* reseptor. Dalam beberapa aplikasi *docking* yang lain, *Best Ligand Pose Energy* biasanya dinamakan docking score seperti pada program docking dari aplikasi Molecular of Environment (MOE). Baik *Best Ligand Pose Energy* dari Arguslab maupun docking score dari MOE, sama-sama merujuk pada besaran energi bebas (ΔG). ΔG merupakan parameter yang menunjukkan stabilitas interaksi (pengikatan) antara ligan dengan reseptor. Makin rendah ΔG maka berarti makin stabil posisi pengikatan antara ligan dengan reseptor. Sebagai contoh, ditunjukkan visualisasi posisi interaksi setiap senyawa uji 08 (sebagai ligan) dengan *binding site* reseptor Hsp90α seperti pada Gambar 16. Interaksi senyawa 63, senyawa 17 dan senyawa 24 dengan reseptor Hsp90α ditunjukkan pada gambar 17, gambar 18, dan gambar 19.



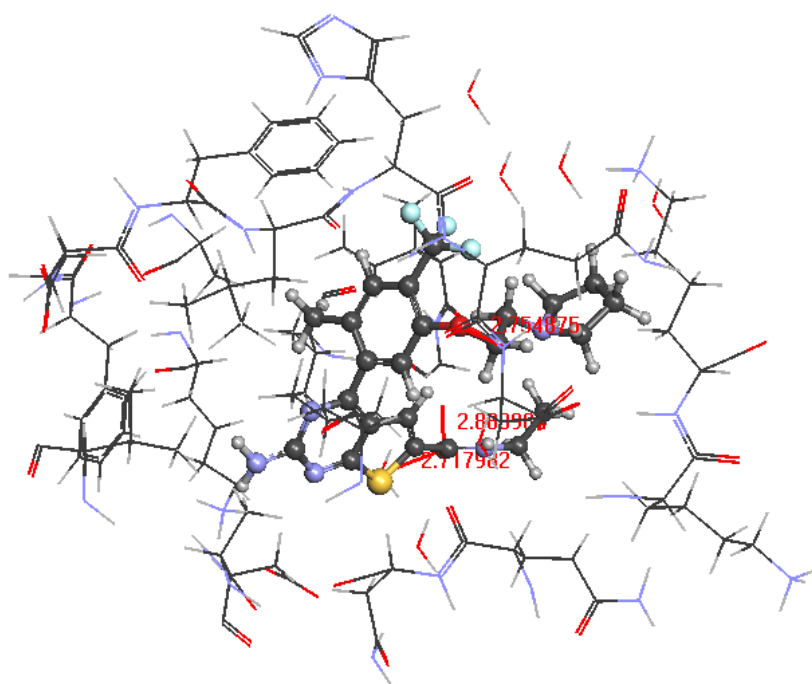
Gambar 16. Interaksi senyawa 08 dengan *binding site* Hsp90α



Gambar 17. Interaksi senyawa 63 dengan *binding site* Hsp90α



Gambar 18. Interaksi senyawa 17 dengan *binding site* Hsp90α



Gambar 19. Interaksi senyawa 08 dengan *binding site* Hsp90α

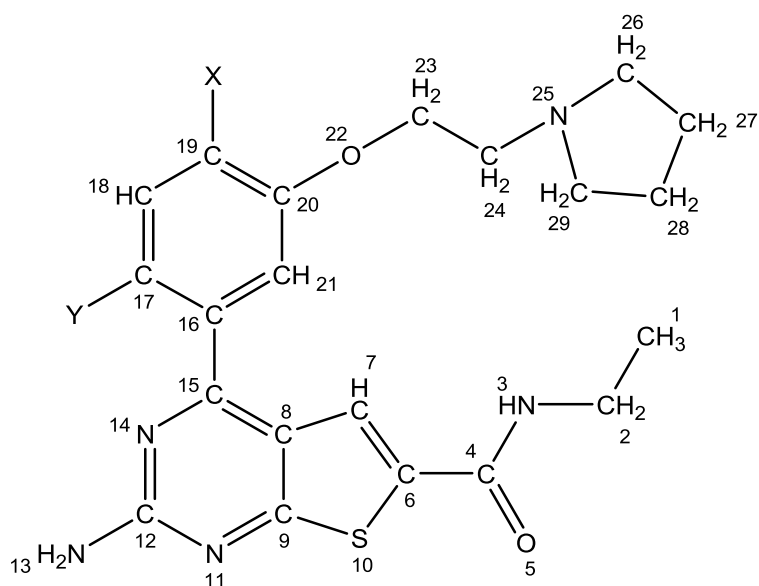
Interaksi ligan-reseptor terjadi karena adanya ikatan hidrogen, ikatan *van Der Waals* dan atau interaksi elektrostatik. Dengan menggunakan ArgusLab, hanya ikatan hidrogen antara ligan dan asam amino reseptor yang dapat diketahui. Jarak ikatan ligan dengan asam amino reseptor akan mempengaruhi

kekuatan ikatan (afinitas) ligan-reseptor. Semakin kecil jarak ikatan maka semakin besar afinitas ligan-reseptor (Fitriasari, A., dkk., 2008).

Hasil perhitungan ΔG dan ikatan hidrogen pada dokcing setiap ligan senyawa baru terhadap *binding site* reseptor Hsp90 α dirangkum pada Tabel 12.

Tabel 16. Perhitungan parameter docking senyawa uji terhadap reseptor Hsp90 α

Nama Ligan	FP_IC _{50-pred.}	ΔG (kcal/mol)	Jumlah Ikatan Hidrogen	Atom Pengikatan		Residu Reseptor	Panjang Ikatan
				Ligan	Reseptor		
Senyawa 8	0.008319	-5.99470	3	O(5)	O	H ₂ O	2.535159
				O(5)	O	89 Lys	2.999956
				O(5)	O	H ₂ O	2.394056
Senyawa 63	0.045696	-6.91957	2	N(3)	O	9 Lys	2.328495
				O(22)	O	H ₂ O	2.726193
Senyawa 17	0.057063	-7.26755	5	O(22)	O	H ₂ O	2.807201
				N(25)	O	H ₂ O	2.518630
				O(5)	O	H ₂ O	2.282821
				N(3)	O	86 Asp	2.948637
				N(13)	O	Leu	2.27887
Senyawa 24	0.060692	-8.360883	3	O(22)	N	86 Asp	2.751875
				O(5)	N	12 Glu	2.883988
				O(5)	O	H ₂ O	2.717982



Gambar 20. Labeling atom penyusun senyawa uji

Tabel 12 memperlihatkan seluruh ligan uji memiliki harga $\Delta G < 0$ (negatif) yang berarti keempat senyawa tersebut memiliki kemampuan berikatan dengan reseptor Hsp90 α , atau dengan kata lain proses pengikatan ligan-reseptor berlangsung secara spontan. Dalam aspek stabilitas interaksi yang ditandai dengan besarnya energi bebas (ΔG) ikatan antara ligan dengan reseptor, maka secara berurutan mulai dari ligan yang paling stabil dalam berikatan dengan reseptor Hsp90 α yang ditandai dengan harga ΔG , adalah Senyawa 24 (-8.360883 kcal/mol), Senyawa 17 (-7.26755 kcal/mol), Senyawa 63 (-6.91957 kcal/mol), dan Senyawa 8 (-5.99470 kcal/mol).

Bila ditinjau dari aspek ikatan hidrogen terlihat bahwa semua ligan mampu membentuk ikatan hidrogen. Ikatan hidrogen yang terbentuk tidak hanya antara salah satu atom ligan dengan atom reseptor, tetapi juga antara atom ligan dengan H₂O. Dapat diprediksi bahwa posisi H₂O disini bertindak sebagai mediator pembentukan ikatan hidrogen antara ligan dengan gugus asam amino reseptor. Brough P.A., dkk. (2009) menyatakan bahwa salah satu bentuk interaksi antara ligan dengan reseptor Hsp90 adalah ikatan hidrogen ligan-reseptor yang dimediasi oleh molekul H₂O.

Tabel 11 juga memperlihatkan adanya panjang ikatan hidrogen yang berbeda-beda antara atom ligan dengan atom binding site reseptor. Secara teoritis, panjang ikatan adalah berkaitan dengan kekuatan atau afinitas ikatan antara ligan dengan reseptor.

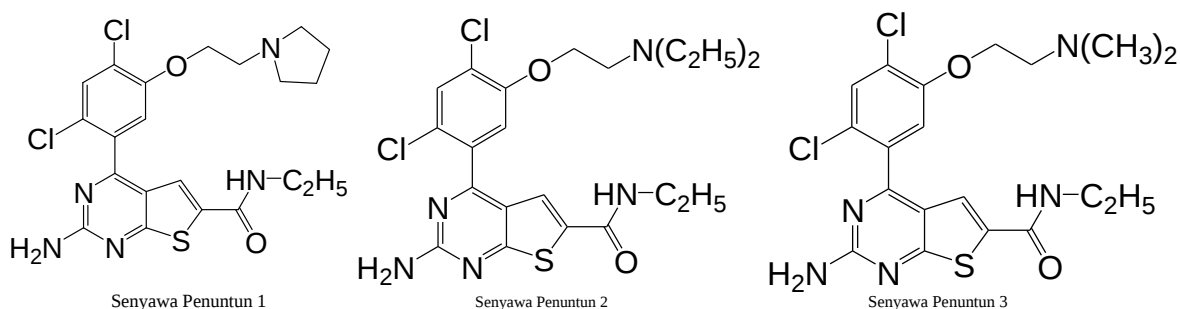
BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Studi hubungan kuantitatif struktur dan aktivitas senyawa turunan 2-Aminothieno[2,3-d]pyrimidine menerangkan tiga prediktor yang berpengaruh terhadap aktivitas senyawa, yakni koefisien partisi (logP), kelarutan (logS), dan energi LUMO (E_{LUMO}), dengan persamaan QSAR terbaik:

$$FP\ IC_{50} = 3.487(\pm 0.477) - 0.58(\pm 0.214) * E_{LUMO} + 0.672(\pm 0.105) * \log S + 0.367(\pm 0.076) * \log P, \text{ dengan } n = 14, r = 0.918, r^2 = 0.842, q^2 = 0.472172, F = 17.749 \text{ dan } Sig. = 0.000.$$

Dalam pengembangan kandidat senyawa antikanker dari turunan 2-aminothieno[2,3-d]pyrimidine yang bekerja melalui penghambatan fungsi Hsp90 digunakan tiga senyawa penuntun, yaitu senyawa penuntun 1, senyawa penuntun 2, dan senyawa penuntun 3.



Diperoleh 11 (sebelas) senyawa baru turunan 2-Aminothieno[2,3-d] pyrimidine yang memiliki aktivitas teoritis lebih baik dan mendekati senyawa penuntun, masing-masing 4 senyawa baru turunan senyawa penuntun 1, 5 senyawa baru turunan senyawa penuntun 2 dan 2 senyawa baru turunan senyawa penuntun 3. Secara lengkap diuraikan pada tabel berikut:

No	Senyawa	X (atas)	Y (samping)	Aktivitas
1	Senyawa Penuntun 1	Cl	Cl	0.058 (experiment)
2	Senyawa 1-8	CF ₃	Cl	0.008 (perhitungan)
3	Senyawa 1-63	F	CF ₃	0.046 (perhitungan)
4	Senyawa 1-17	Cl	CH ₃	0.057 (perhitungan)
5	Senyawa 1-24	CF ₃	CH ₃	0.061 (perhitungan)
6	Senyawa Penuntun 2	Cl	Cl	0.056

				(experiment)
7	Senyawa 2-25	C ₄ H ₉	Y=Cl	0.105 (perhitungan)
8	Senyawa 2-02	Cl	H	0.136 (perhitungan)
9	Senyawa 2-58	CF	H	0.057 (perhitungan)
10	Senyawa 2-62	CF ₃	NO ₂	0.146 (perhitungan)
11	Senyawa 2-07	Cl	F	0.149 (perhitungan)
12	Senyawa Penuntun 3	Cl	Cl	0.056 (experiment)
13	Senyawa 3-27	C ₄ H ₉	CH ₃	0.002 (perhitungan)
14	Senyawa 3-31	C ₄ H ₉	F	0.108 (perhitungan)

6.2 Alur Penelitian Lanjutan

Beberapa penelitian lanjutan yang dapat disarankan sebagai kelanjutan dari penelitian ini adalah:

1. Desain molekul baru senyawa turunan 2-aminothieno[2,3-*d*] pyrimidine yang didasarkan kepada informasi QSAR yang dihitung menggunakan deskriptor docking score baik secara ligan rigid maupun ligan fleksibel.
2. Studi hubungan kuantitatif struktur dan aktivitas senyawa turunan 2-aminothieno[2,3-*d*]pyrimidine sebagai antikanker melalui penghambatan Hsp90 dengan menerapkan metode lain.
3. Sintesis dan uji aktivitas secara eksperimental (*in vivo* maupun *in vitro*) senyawa-senyawa baru turunan 2-Aminothieno[2,3-*d*] pyrimidine yang memiliki aktivitas teoritis lebih baik dan mendekati senyawa induk.

DAFTAR PUSTAKA

- Aswad, M. Telaah Hubungan Kuantitatif Struktur-Aktivitas Senyawa Diterpen dari Bagore (*Caesalpinia crista* linn.) sebagai Antimalaria dan Interaksinya dengan Enzim Protease dari *Plasmodium Falciparum* secara *in silico*. Tesis tidak diterbitkan., 2009.
- Brough, P.A., Barril, X., Borgognoni, J., Chene, P., Davies, N.G.M., Davis, B., Drysdale, M.J., Dymock, B., Eccles, S.A., Garcia-Echeverria, C., Fromont, C., Hayes, A., Hubbard, R.E., Jordan, A.M., Jensen, M. R., Massey, A., Merrett, A., Padfield, A., Parsons, R., Radimerski, T., Raynaud, F.I., Robertson A., Roughley S.D., Schoepfer, J., Simmonite, H., Sharp, S.Y., Surgenor, A., Valenti, M., Walls S., Webb P., Wood, M., Workman, P., and Wright, L., *J. Med. Chem.*, 2009, 52, 4794–4809.
- Ciocca, D.R., Fanelli, M.A., Cuello-Carrión, F.D., and Calderwood, S.K., *Heat Shock Proteins in Cancer*, 2007, 2, 31–51
- Fitriasari, A., Wijayanti, N.K., Ismiyati, N., Dewi, D., Kundarto, W., Sudarmanto, BS.A., Meiyanto, E., Studi Potensi Kurkumin dan Analognya sebagai Selective Estrogen Receptor Modulators (SERMS): Docking pada Reseptor Estrogen B. *Pharmacon*, 2008, Vol. 9, No. 1, 27–32.
- Foye, W.O. (ed), Rasyid, R., Firman, K., Dh., Hariyanto, Suwarno, T., Musadar, A. (penerj). *Prinsip-Prinsip Kimia Medisinal*. Gaja Maja University Press, 1996.
- Hinchliffe, A., *Molecular Modelling for Beginners*. A Jhon Wiley and Sons Ltd., 2008.
- [Http://cancer.gov](http://cancer.gov), diakses tanggal 1 September 2010
- [Http://iarc.fr](http://iarc.fr), diakses tanggal 1 September 2010
- [Http://id.wikipedia.org](http://id.wikipedia.org), diakses tanggal 1 September 2010
- [Http://who.int](http://who.int), diakses tanggal 1 September 2010
- JinCan, C., Li, Q., Yong, S., LanMei, C., and KangCheng, Z. A QSAR Study and Molecular Design of Benzothiazole Derivatives as A Potent Anticancer Agents. *Sci in China Ser B*. 2008, Vol 51 No 2, 111-119.
- Nadendlla, RR. *Principles of Organic Medicinal Chemistry*. New Age International (P) Ltd., 2005.
- Nograpy, T., *Kimia Medisinal, Pendekatan Secara Biokimia*. Penerbit ITB Bandung, 1992.
- Qubinyi, H., *Hansch Analysis and Related Approches*. HCV Verlagsgesellschaft mbH, D-69451 Weinheim (Federal Republic of Germany), 1993.
- Patrick, GL., *An Introduction to Medicinal Chemistry*. Oxford University Press, 1995.
- Pratt, W.B., Morishima, Y., and Osawa, Y., *Heat Shock Proteins in Cancer*, 2007, 2, 1–30.
- Wolff, M.E., *Asas-asas Kimia Medisinal*. Gaja Mada University Press, 1994.

LAMPIRAN-LAMPIRAN

Lampiran 1 Personalia Tenaga Peneliti

No.	Nama	Perguruan Tinggi	Kualifikasi
1.	La Ode Aman, S.Pd, M.Si (Tim Peneliti Pengusul)	Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Negeri Gorontalo	Kimia Medisinal, Biokimia dan Kimia Komputasi
2.	Prof. Dr. Daryono Hadi Tjahjono (Tim Peneliti Mitra)	Sekolah Farmasi, ITB Bandung	Kimia Medisinal, Kimia Komputasi, dan Biokimia Fisik

MOLECULAR DOCKING 2-AMINOTHIENO[2,3-D]PYRIMIDINE AS HSP INHIBITOR

La Ode Aman¹ Daryono H Tjahjono²

¹Chemistry Depart., Mathematics and Natural Sciences Faculty, State University of
Gorontalo, Jalan Jend. Sudirman 6 Gorontalo 96128, Indonesia

²School of Pharmacy, Bandung Institute of Technology, Jalan Ganesha 10 Bandung 40132, Indonesia

ABSTRACT

Three ways of cancer treatment, surgery, radiation and chemotherapy, chemotherapy treatment has the advantage because the ability to treat metastasis. In order to develop a chemotherapy treatment, the focus of current research is the discovery of new anti-cancer chemical agents. A numbers of 2-aminothieno [2,3-d] pyrimidine compound derivatives has been shown to have activity as anticancer [1]. Mechanism of the action by inhibition of Hsp90 (Heat Shock Protein 90) function, a cell protein related to the formation of cancer cells.

In this study designed a new compound derivatives of 2-aminothieno [2,3-d]pyrimidine are expected to have the inhibition of Hsp90 function better than the compounds that are found today. In the development of new compounds are based on Quantitative Structure Activity Relationships (QSAR) that explaining mathematical relationship between the inhibitory activity and various types of energy score in ligand-receptor docking, i.e. free energy of binding; final intermolecular energy; van der Waals, hydrogen bond and desolvation energy; electrostatic energy, moving fixed ligand-receptor, ligand-moving moving receptor; final total internal energy, internal energyligand, receptor internal energy; torsional free energy and unbound system's energy.

Keywords: Docking, 2-Aminthioeno [2,3-D]Pyrimidine Derivatives, Hsp90 Inhibitor

BACKGROUND

Known three ways to treat of cancer. They are surgery, radiation and chemotherapy. In cancer treatment, chemotherapy has advantage compared to surgery or radiation because of its ability to treat widespread cancer (metastasis), whereas surgery and radiation therapy in cancer treatment is limited to certain areas (JinCan, C., et.al., 2008).

In order to develop cancer treatment by chemotherapy, the current research focus is design and development of new anticancer drugs. Brough, P.A., et al. (2009) has managed to synthesize and test the anticancer activity of some compounds of 2-aminothieno[2,3-d]pyrimidine derivatives. These compound are the development from Geldanamycin (GM) and Radicicol (RD) which are natural products.

Act mechanism of 2-aminothieno[2,3-d]pyrimidine derivatives as anticancer by inhibiting of Hsp90 (Heat Shock Protein 90) function. This inhibitor bind to ATP binding pocket in domain N-terminal of Hsp90. Hsp90 is a cell protein that is essential for cell life. Hsp90 act to prevent the occurrence of cell protein denaturation, both in normal and cancer cells. Many symptoms of cancer-related proteins such as kinase enzymes, hormone receptors and various other proteins, have a dependence on Hsp90 (Hsp90-dependent). Bond strength of Hsp90 with Hsp90 inhibitors in cancer cells is 100 times stronger than in normal cells. Therefore, inhibition of Hsp90 function means to control proliferation of cancer cells (Brough PA, et al., 2009).

Quantitative Structure and Activity Relationship (QSAR) study is very important in efforts to design and discovery of new compounds that are expected to have better potency than previous compound. In design and development of new drug molecules, QSAR approach is helpful because it gives the process more efficient in cost and time compared to empirical procedures.

METHODS

Computational Modeling. Sixteen of 2-aminothieno[2,3-d]pyrimidine with biological activity as anticancer have developed, synthesized and activity tested by Brough, P.A., et al. (2009). These compounds are shown on Figure 1. Values of FP IC50 are refers to anticancer activity which were measured by using the Fluorescence Polarization Assay.

Molecular structure scheme was modeled by using HyperChem ® Release 8.0. After 3D modeling, next step is all compounds structure optimized by semi empirical AM1 method with gradient 0.01 kcal /Å. All molecules are stored in the extension *.mol. By using Molecular Operating Environment (MOE 2007.09), all molecules converted as a molecular database as a preparation of calculating the predictor value. The predictors are used in this QSAR study are partition coefficient (logP), solubility (logS), total energy (ETot), electronics energy (EEle), HOMO Energy (EHOMO), LUMO energy (ELUMO), total dipole moment (μ), heat formation (HF), van der Waals volume (Vw), globularity (GLOB), molar refractivity (MR), hydrophobic surface area (A) and total atomic polarizability.

Statistical analysis. Statistical analysis is performed by multilinear regression using SPSS Statistics 19 IBM Software Trial. Dependent variable (Y) is the FP IC50 experiments of each compound and independent variables (Xi) is the value of each predictor. The models that gives the regression coefficient ($r \geq 0.7$ and $F_{cal} \geq F_{tab}$) are the models selected.

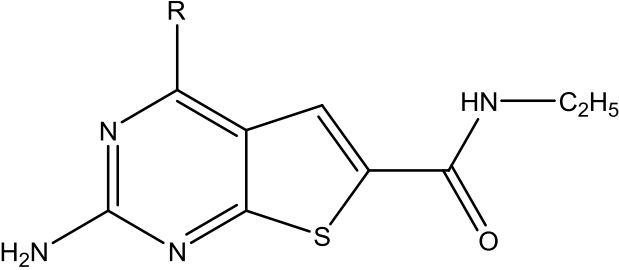
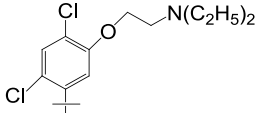
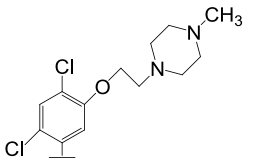
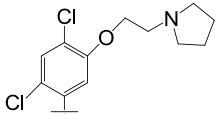
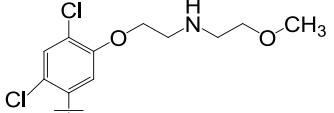
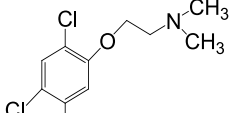
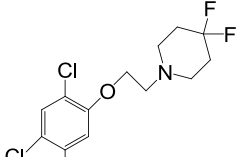
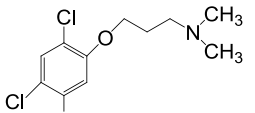
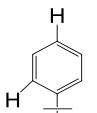
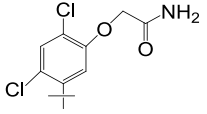
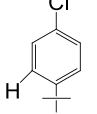
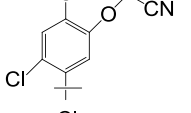
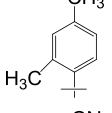
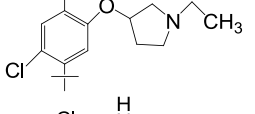
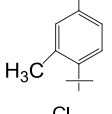
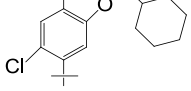
Validation. Validation by using cross validation techniques with Leave One Out (LOO) approach. LOO cross validation squares (q^2) be an indicator of performance and stability model (JinCan, C., 2008) which is calculated according to the following formula:

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

With, y_i = experiment activity
 $\bar{y}_i$ = average of experiment activity
 $\hat{y}_i$ = cross validation predictive activity of compound i.

By cross validation with LOO approach was obtained a selected model. The best QSAR equations have statistical criteria $r^2 \geq 0.8$, and $q^2 \geq 0.5$. If the QSAR equations obtained do not fulfill these criteria, it means there is/are the outlier data which should be excluded.

Fig1. Molecule structrue scheme of 2-aminothieno[2,3-d]pyrimidine derivatives and its anticancer activity (FP IC50)

					
Comp.	R	FP IC50 experiment	Comp.	R	FP IC50 experiment
1		0.056	9		0.102
2		0.058	10		0.084
3		0.127	11		0.058
4		0.08	12		5.7
5		0.029	13		0.72
6		0.080	14		0.34
7		0.176	15		0.30
8		0.087	16		0.23

New Compounds Design. There are three measures in the design of new compounds, namely (i) determining the parent compound, (ii) selecting the substituents (R) of parent compound which is replaced by a new substituent, and (iii) determine the list of new substituents. Brough PA, et al (2009) recommended compound 2 (Fig. 2) to be developed/studied further. The substituent of parent compound are targeted for modification are substituent Cl in two position. With Topliss Scheme approach is obtained 8 new substituent as follow: $-\text{Cl}$, $-\text{H}$, $-\text{CH}_3$, $-\text{C}_4\text{H}_9$, $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{NO}_2$, $-\text{F}$ and $-\text{CF}_3$. Combinatorially modification is done on two position of Cl atom in parent compound so that obtained 63 new compounds.

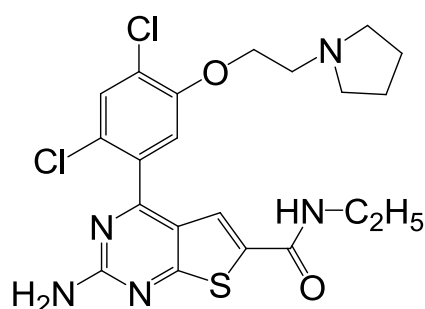


Fig 2. Lead compound for design of new compounds

Molecular Docking. Receptor interaction with Hsp90 α experimental compounds studied using molecular docking techniques. Done by using a molecular docking program Arguslab 4.0.1. There are two parameters were observed in the molecular docking ΔG (free energy change) and the hydrogen bonds formed between the ligand with the receptor. Related to the observed hydrogen bond length and bond amount.

RESULTS

After obtained the value of predictors of each compounds, the next step is performed statistical analysis by using multilinear regression analysis. Multilinear regression is done through combination of 2, 3 and 4 predictors so that obtained the list of model regression which are different in regression coefficient r (and r^2), standard error (SE) and Fischer criterion ($F_{\text{calculation}}$). Selected models which have $r \geq 0.7$ and $F_{\text{tab}} \geq F_{\text{cal}}$ are shown in Table 2.

Table 2. Selected models with $r \geq 0.7$ and $F_{cal} \geq F_{tab}$

Models	Predictors	R	Std. Error of the Estimate	df	F_{cal}/F_{tab}
121	mr, AM1_LUMO, logP(o/w), logS	0.783	1.012989	4	1.245454
116	AM1_dipole, logP(o/w), AM1_LUMO, logS	0.782	1.014323	4	1.240296
125	Polarizabilitas, AM1_LUMO, logP(o/w), logS	0.782	1.014372	4	1.240010
123	vol, AM1_LUMO, logP(o/w), logS	0.781	1.015806	4	1.234280
120	AM1_HOMO, logP(o/w), AM1_LUMO, logS	0.778	1.022491	4	1.207921
119	AM1_HF, AM1_LUMO, logS, logP(o/w)	0.777	1.024894	4	1.198753
122	glob, logP(o/w), AM1_LUMO, logS	0.776	1.026417	4	1.192736
84	AM1_LUMO, logS, logP(o/w)	0.776	0.983282	3	1.588200
130	AM1_HOMO, logP(o/w), glob, logS	0.761	1.055714	4	1.084436
126	AM1_dipole, logP(o/w), glob, logS	0.756	1.065075	4	1.051487
131	mr, glob, logP(o/w), logS	0.756	1.06588	4	1.048909
86	glob, logP(o/w), logS	0.756	1.020617	3	1.398478
134	Polarizabilitas, glob, logP(o/w), logS	0.756	1.065999	4	1.048336
141	ASA_H, logP(o/w), AM1_HF, logS	0.755	1.066559	4	1.046330
140	vol, logP(o/w), AM1_HF, logS	0.752	1.072803	4	1.025128
142	Polarizabilitas, logP(o/w), AM1_HF, logS	0.752	1.073396	4	1.023123
139	mr, logP(o/w), AM1_HF, logS	0.751	1.074992	4	1.017679
129	AM1_HF, glob, logP(o/w), logS	0.758	1.061546	4	1.063807
82	AM1_HF, logS, logP(o/w)	0.747	1.035303	3	1.329632
133	ASA_H, glob, logP(o/w), logS	0.756	1.06459	4	1.053206
88	ASA_H, logP(o/w), logS	0.744	1.041298	3	1.302303
79	AM1_dipole, logP(o/w), logS	0.742	1.043848	3	1.290741
132	vol, glob, logP(o/w), logS	0.756	1.065989	4	1.048336
87	vol, logP(o/w), logS	0.742	1.044939	3	1.285749
89	Polarizabilitas, logP(o/w), logS	0.742	1.044953	3	1.285749
85	mr, logP(o/w), logS	0.741	1.045547	3	1.283121
83	AM1_HOMO, logP(o/w), logS	0.741	1.045812	3	1.282070
61	logP(o/w), logS	0.741	1.005031	2	1.721915
124	ASA_H, AM1_LUMO, logP(o/w), logS	0.78	1.018652	4	1.223106
90	AM1_dipole, glob, logS	0.7	1.112347	3	1.011151

Table 2 shows there are 7 (seven) models with the highest r value (model 121, 116, 125, 123, 120, 119 and 122) have 4 (four) predictors with 3 (three) predictors are the same, namely logP, logS, and ELUMO (AM1_LUMO). Only 1 (one) predictor that distinguishes. 8th model (model 84) has 3 (three) predictors namely logP, logS and ELUMO. This means that three predictors (logP, logS) and ELUMO that have a tendency to give the strongest influence on anticancer activity (FP IC₅₀) of 2-aminothieno[2,3-d]pyrimidine derivatives, since all models have r value almost the same. By considering the Kubinyi (1993) opinion that the "best" QSAR equation consists of 3 (three) predictors, the model 84 with logP, logS and ELUMO predictors can be selected as the best model. However, to prove it is needed validation of the model.

By using cross validation technique with Leave One Out (LOO) approach are obtained the of cross validation coefficient square LOO (q^2). Having noted the value of q^2 and r^2 parameters as indicators of statistic quality of models could be are known that there are data should be

excluded. They are compounds 12 and 4. QSAR equation for model 84 with all compounds (include compound 12 and 4) is shown by equation 1, while the QSAR equation for model 84 after compounds 12 and 84 excluding is shown by equation 2.

$$\text{FP IC}_{50} = 16.033 (\pm 3.986) - 3.02 (\pm 2.401) * E_{\text{LUMO}} + 3.254 (\pm 0.923) * \log S + 1.792 (\pm 0.752) * \log P, \text{ with } r = 0.776, r^2 = 0.602, n = 16, F = 0.009, \text{ dan } q^2 = -0.186818787 \quad (\text{equation 1})$$

$$\text{FP IC}_{50} = 3.487 (\pm 0.477) - 0.58 (\pm 0.214) * E_{\text{LUMO}} + 0.672 (\pm 0.105) * \log S + 0.367 (0.076) * \log P, \text{ dengan } n = 14, r = 0.918, r^2 = 0.842, q^2 = 0.472172, F = 17.749, \text{ dan Sig.} = 0.000 \quad (\text{equation 2})$$

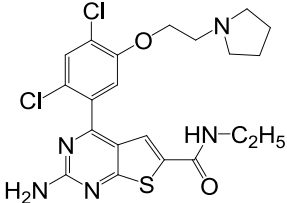
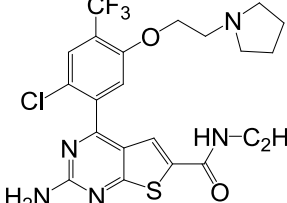
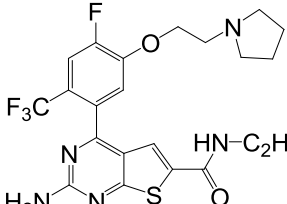
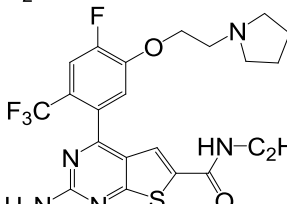
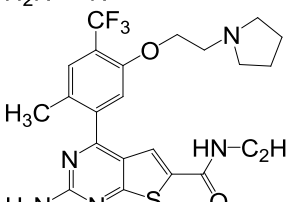
Equation 2 shows the QSAR equation with a significant statistical criteria which the regression coefficient square (r^2) greater than 0.8 i.e., 0.842, and the value of q^2 can be rounded to 0.5. Thus the QSAR equation is the best equation to study of quantitative structure and activity relationship of 2-aminothieno[2,3-d]pyrimidine derivatives as anticancer through inhibition of Hsp90 function.

The predictors which show the most affecting of anticancer activity (FP IC₅₀) of 2-aminothieno[2,3-d]pyrimidine derivatives are partition coefficient (logP), solubility (logS), and LUMO energies (ELUMO). The coefficient sign of each predictors can give the information about effect of each predictor on anticancer activity. The sign of logP and logS are positive (+), it's means the increasing of logP and logS will increase FP IC₅₀ or decrease the anticancer potency, while ELUMO is negative (-), it's means the increasing of LUMO energy will decrease FP IC₅₀ or increase the potency.

The value of each predictor—partition coefficient (logP), solubility (logS), and LUMO energies (ELUMO)—is related to the contribution of substituents R. Design of new compounds through modification of substituents R. Different substituents R provide a different value of predictors and also provide a different of anticancer potential of each compound. Because the goal of designing new compounds is to obtain new compounds with better activity than previous compounds, modification is done on R that gives the most active zone. From the results of study of quantitative structure and activity relationship of 2-aminothieno[2,3-d]pyrimidine derivatives is seen that two predictors with most affects to anticancer activity of the compounds namely logP and logS. These predictors are a group of hydrophobic effects, whereas LUMO energy is a group of electronic effects. Brough, P.A., et al (2009) explains that structure of compound 2 in the ring zone with 2 (two) Cl atoms provide the hydrophobic interactions to binding site of Hsp90 receptor. Therefore, to design new molecules through replacement or modification of two position of Cl substituent on the ring.

Replacing two positions of Cl atoms by -Cl, -H, -CH₃, -C₄H₉, -N(CH₃)₂, -NO₂, -F and -CF₃ substituents are gained 63 (sixty three) new compounds. After calculating of the theoretical activity by using the best QSAR equation are obtained 2 (two) compounds with theoretical activity is better than parent compound, and 2 (two) compounds with theoretical activity is closer to parent compound (Table 2). These four new compounds of 2-aminothieno[2,3-d]pyrimidine derivatives can be selected for testing experimentally as anticancer.

Table 3. New compound with theoretical activity better and closer to the parent compound

Comp.	Structure	FP IC50	Explanation
		0.058 (experimental)	Parent Compound
a		0.008 (theoretical)	Better than parent compound
b		0.045 (theoretical)	Better than parent compound
c		0.057 (theoretical)	Closer to parent compound
d		0.060 (theoretical)	Closer to parent compound

MOLECULAR DOCKING

Interaction studies between new compounds with the receptor target could be done by computational molecular docking approach. docking means treating a molecule to be around another molecule so that the interaction between them. If there are the interactions, it can be computed several interaction parameters. By using Arguslab software, in the interaction between ligand with receptor can be observed 2 (two) parameters, namely the free energy (ΔG) and the number(s) of Hydrogen Bond. ΔG is a parameter which indicates the stability of interaction (binding) between the ligand with the receptor. The lower the ΔG it means more stable position of ligands binding to receptor. The protein as target receptor that be used in in this research is Hsp90 α with pdb code 2W17 that download from www.pdb.org.

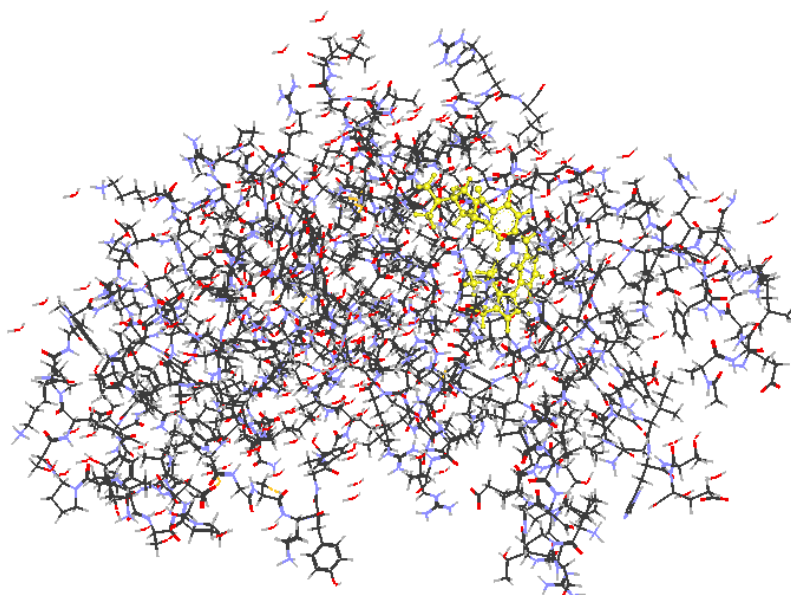


Fig. 1 Structure visualizing of receptor molecules, looks native ligand (yellow).

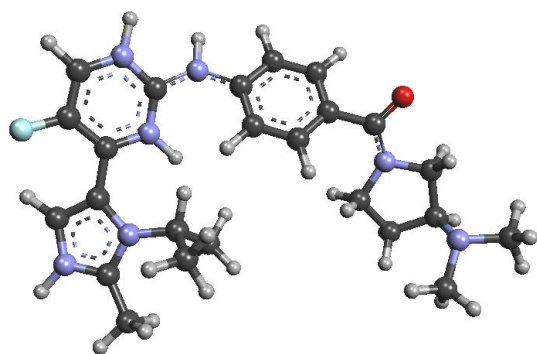


Fig. 2 Structure visualization of Hsp90α's native ligand after the others atoms/residues is hidden.

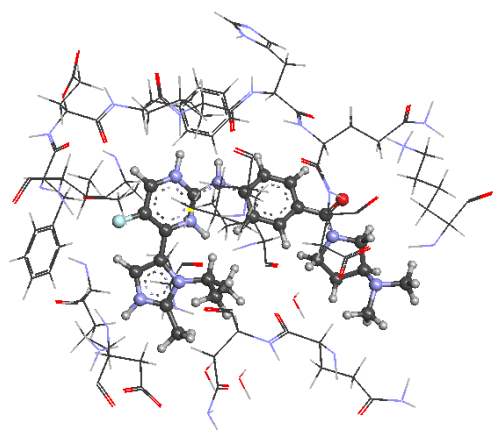


Fig. 3 Native ligand visualization (ballcylinder) situated among the receptor binding site (wireframe).

Visualization of interaction between each ligand (compound 8, 63, 17 and 24) with Hsp90α receptor binding site is shown in Fig. 4, Fig. 5, Fig. 6 dan Fig. 6, respectively.

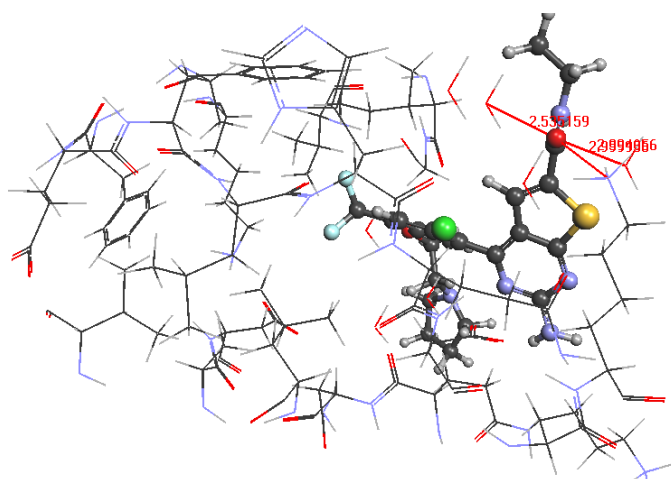


Fig. 4 Interaction of comp. 8 with Hsp90 α 's binding site.

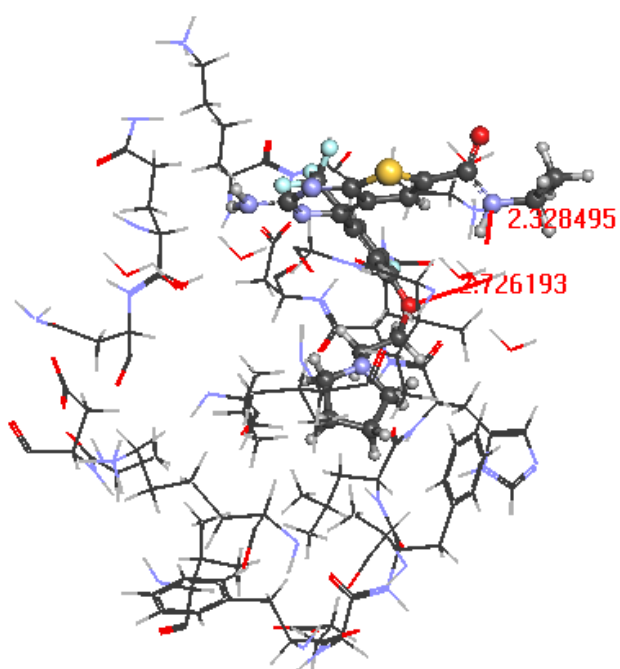


Fig. 5 Interaction of comp. 63 with Hsp90 α 's binding site.

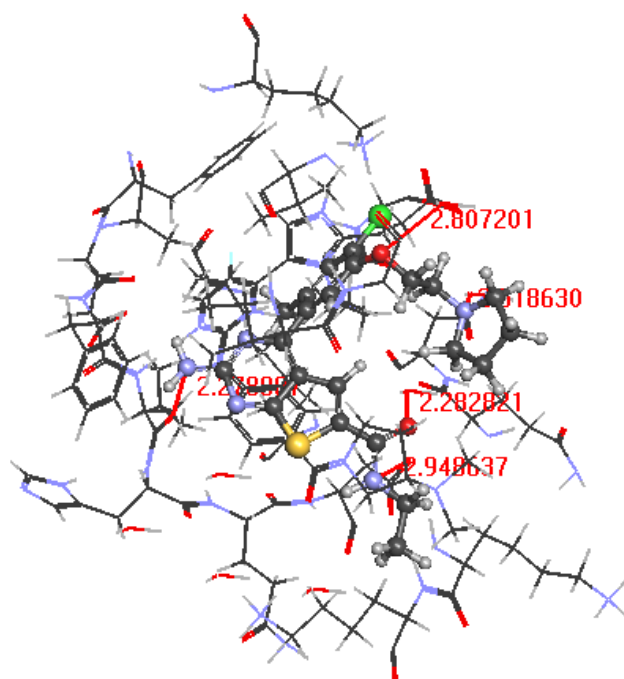


Fig. 6 Interaction of comp. 17 with Hsp90 α 's binding site.

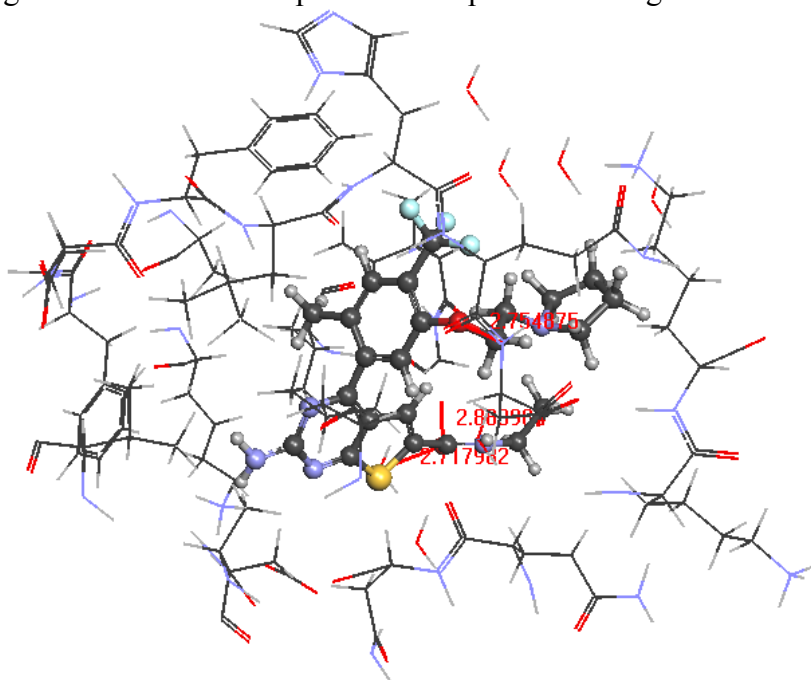


Fig. 7 Interaction of comp. 17 with Hsp90 α 's binding site.
The results of calculation of ΔG and Hydrogen Bonds in each docking of new compounds to Hsp90 α 's binding site are summarized in Table 4.

Table 4. Results of Calculation of ΔG and Hydrogen Bonds

Nama Ligan	FP_IC ₅₀ -pred.	ΔG (kcal/mol)	Jumlah Ikatan Hidrogen	Atom Pengikatan		Residu Reseptor	Panjang Ikatan
				Ligan	Reseptor		
Senyawa 8	0.008319	-5.99470	3	O(5)	O	H ₂ O	2.535159
				O(5)	O	89 Lys	2.999956
				O(5)	O	H ₂ O	2.394056
Senyawa 63	0.045696	-6.91957	2	N(3)	O	9 Lys	2.328495
				O(22)	O	H ₂ O	2.726193
Senyawa 17	0.057063	-7.26755	5	O(22)	O	H ₂ O	2.807201
				N(25)	O	H ₂ O	2.518630
				O(5)	O	H ₂ O	2.282821
				N(3)	O	86 Asp	2.948637
				N(13)	O	Leu	2.27887
Senyawa 24	0.060692	-8.360883	3	O(22)	N	86 Asp	2.751875
				O(5)	N	12 Glu	2.883988
				O(5)	O	H ₂ O	2.717982

Table 4 show the entire ligands have ΔG negative, which means all four compounds have the ability to bind to receptor Hsp90 α . In sequence starting from the most stable is compound 24 (-8.360883 kcal / mol), compound 17 (-7.26755 kcal / mol), compound 63 (-6.91957 kcal / mol), and compound 8 (-5.99470 kcal / mol).

Hydrogen bonding viewed aspect is seen that all the ligands capable of forming hydrogen bonds with binding site of Hsp90. Hydrogen bonds are formed not only between one atom by atom receptor ligands, but also between the ligand atoms with H₂O. It can be predicted that the position of acting as a mediator by hydrogen bond formation between the ligand with the amino acid groups of receptor. Brough P.A., et al. (2009) stated that one of the forms of the receptor ligand interaction between Hsp90 is a ligand-receptor hydrogen bonds are mediated by molecules of H₂O.

The table also shows the presence of the hydrogen bond length varies in interaction of the ligand with receptor binding site. Theoretically, the bond length is related to the strength or the binding affinity between the ligand with the receptor.

CONCLUSION

Quantitative structure and activity relationship (QSAR) of 2-aminothieno[2,3-d]pyrimidine derivatives as anticancer by inhibition of Hsp90 functions explain there are three predictors that influence the activity, i.e. partition coefficient (logP), solubility (logS), and LUMO energies (ELUMO), with the best QSAR equations is

FP IC₅₀ = 3.487(±0.477) – 0.58(±0.214) * E_{LUMO} + 0.672(±0.105) * logS + 0.367(±0.076) * logP, with n = 14, r = 0.918, r² = 0.842, q² = 0.472172, F = 17.749 dan Sig. = 0.000.

Obtained two new compounds of 2-aminothieno[2,3-d]pyrimidine derivatives which have theoretical activity better than parent compound and two compounds of 2-aminothieno[2,3-d]pyrimidine derivatives which have theoretical activity closer to parent compound.

All four compounds have the ability to bind to receptor Hsp90α. In sequence starting from the most stable is compound 24 (-8.360883 kcal / mol), compound 17 (-7.26755 kcal / mol), compound 63 (-6.91957 kcal / mol), and compound 8 (-5.99470 kcal / mol). All ligands also capable of forming hydrogen bonds with binding site of Hsp90.

REFERENCES

- Brough, P.A., Barril, X., Borgognoni, J., Chene, P., Davies, N.G.M., Davis, B., Drysdale, M.J., Dymock, B., Eccles, S.A., Garcia-Echeverria, C., Fromont, C., Hayes, A., Hubbard, R.E., Jordan, A.M., Jensen, M. R., Massey, A., Merrett, A., Padfield, A., Parsons, R., Radimerski, T., Raynaud, F.I., Robertson A., Roughley S.D., Schoepfer, J., Simmonite, H., Sharp, S.Y., Surgenor, A., Valenti, M., Walls S., Webb P., Wood, M., Workman, P., and Wright, L., *J. Med. Chem.*, 2009, 52, 4794–4809.
- Ciocca, D.R., Fanelli, M.A., Cuello-Carrión, F.D., and Calderwood, S.K., *Heat Shock Proteins in Cancer*, 2007, 2, 31–51
- Hinchliffe, A., *Molecular Modelling for Beginners*. A Jhon Wiley and Sons Ltd., 2008.
- JinCan, C., Li, Q., Yong, S., LanMei, C., and KangCheng, Z. A QSAR Study and Molecular Design of Benzothiazole Derivatives as A Potent Anticancer Agents. *Sci in China Ser B*. 2008, Vol 51 No 2, 111-119.
- Nadendlla, RR. *Principles of Organic Medicinal Chemistry*. New Age International (P) Ltd., 2005.
- Nograpy, T., *Kimia Medisinal, Pendekatan Secara Biokimia*. Penerbit ITB Bandung, 1992.
- Qubinyi, H., *Hansch Analysis and Related Approches*. HCV Verlagsgesellschaft mbH, D-69451 Weinheim (Federal Republic of Germany), 1993.
- Patrick, GL., *An Introduction to Medicinal Chemistry*. Oxford University Press, 1995.
- Pratt, W.B., Morishima, Y., and Osawa, Y., *Heat Shock Proteins in Cancer*, 2007, 2, 1–30.
- Wolff, M.E., *Asas-asas Kimia Medisinal*. Gaja Mada University Press, 1994.

Molecular Docking of 2-aminothieno[2,3-d]pyrimidine Derivatives as Anticancer by Inhibition of Hsp90

La Ode Aman¹, Daryono H. Tjahjono²

¹Chemistry Dept., Faculty of Mathematics and Natural Sciences, State University of Gorontalo, Jalan Jend. Sudirman 6 Gorontalo 96128, Indonesia, E-mail:

laode_aman@ung.ac.id

²Pharmacy Dept., Health and Sports Science Faculty, State University of Gorontalo, Jalan Jend. Sudirman 6 Gorontalo 96128

³School of Pharmacy, Bandung Institute of Technology, Jalan Ganesha 10 Bandung 40132, Indonesia.

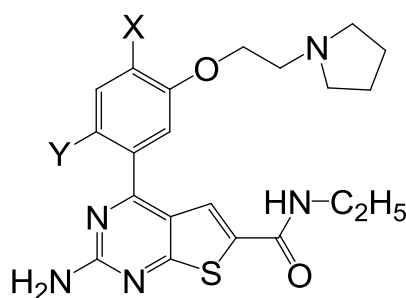
ABSTRACT

Quantitative Structure and Activity Relationship (QSAR) of 2-aminothieno[2,3-d]pyrimidine derivatives as anticancer that working by inhibition of Hsp90 function has been studied by using semi-empirical method and statistical analysis were done by multilinear regression. Optimizing QSAR equations was done by excluding data outlier so that obtained the equation with significant statistical criteria (regression coefficient (R^2) ≥ 0.8 , and cross validation coefficient square (q^2) ≥ 0.5). QSAR equations after excluding two data outlier is

FP IC₅₀ = 3.487(±0.477) – 0.58(±0.214) * E_{LUMO} + 0.672(±0.105) * logS + 0.367(±0.076) * logP, with n = 14, r = 0.918, r² = 0.842, q² = 0.472172, F = 17.749, dan Sig. = 0.000.

Obtained four new compounds of 2-aminothieno[2,3-d]pyrimidine derivatives which have theoretical activity better and closer to the lead compound.

Compounds	X	Y	FP IC ₅₀
Parent Compound	Cl	Cl	0.058
a	CF ₃	Cl	0.008
b	F	CF ₃	0.046
c	Cl	CH ₃	0.057
d	CF ₃	CH ₃	0.061



Keywords: QSAR, 2-aminothieno[2,3-d]pyrimidine, anticancer, new compounds design

BACKGROUND

Known three kinds to treat of cancer. They are surgery, radiation and chemotherapy. In cancer treatment, chemotherapy has advantage compared to surgery or radiation because of

its ability to treat widespread cancer (metastasis), whereas surgery and radiation therapy in cancer treatment is limited to certain areas (JinCan, C., et.al., 2008).

In order to develop cancer treatment by chemotherapy, the current research focus is design and development of new anticancer drugs. Brough, P.A., et al. (2009) has managed to synthesize and test the anticancer activity of some compounds of 2-aminothieno[2,3-d]pyrimidine derivatives. These compound are the development from Geldanamycin (GM) and Radicicol (RD) which are natural products.

Act mechanism of 2-aminothieno[2,3-d]pyrimidine derivatives as anticancer by inhibiting of Hsp90 (Heat Shock Protein 90) function. This inhibitor bind to ATP binding pocket in domain N-terminal of Hsp90. Hsp90 is a cell protein that is essential for cell life. Hsp90 act to prevent the occurrence of cell protein denaturation, both in normal and cancer cells. Many symptoms of cancer-related proteins such as kinase enzymes, hormone receptors and various other proteins, have a dependence on Hsp90 (Hsp90-dependent). Bond strength of Hsp90 with Hsp90 inhibitors in cancer cells is 100 times stronger than in normal cells. Therefore, inhibition of Hsp90 function means to control proliferation of cancer cells (Brough PA, et al., 2009).

Quantitative Structure and Activity Relationship (QSAR) study is very important in efforts to design and discovery of new compounds that are expected to have better potency than previous compound. In design and development of new drug molecules, QSAR approach is helpful because it gives the process more efficient in cost and time compared to empirical procedures.

METHODS

Computational Modeling. Sixteen of 2-aminothieno[2,3-d]pyrimidine with biological activity as anticancer have developed, synthesized and activity tested by Brough, P.A., et al. (2009). These compounds are shown on Figure 1. Values of FP IC₅₀ are refers to anticancer activity which were measured by using the Fluorescence Polarization Assay.

Molecular structure scheme was modeled by using HyperChem ® Release 8.0. After 3D modeling, next step is all compounds structure optimized by semi empirical AM1 method with gradient 0.01 kcal /Å. All molecules are stored in the extension *.mol. By using Molecular Operating Environment (MOE 2007.09), all molecules converted as a *molecular database* as a preparation of calculating the predictor value. The predictors are used in this QSAR study are partition coefficient (logP), solubility (logS), total energy (E_{Tot}), electronics energy (E_{Ele}), HOMO Energy (E_{HOMO}), LUMO energy (E_{LUMO}), total dipole moment (μ), heat formation (HF), van der Waals volume (V_w), globularity (GLOB), molar refractivity (MR), hydrophobic surface area (A) and total atomic polarizability.

Statistical analysis. Statistical analysis is performed by multilinear regression using SPSS Statistics 19 IBM Software Trial. Dependent variable (Y) is the FP IC₅₀ experiments of each compound and independent variables (X_i) is the value of each predictor. The models that gives the regression coefficient (r) ≥ 0.7 and F_{cal} ≥ F_{tab} are the models selected.

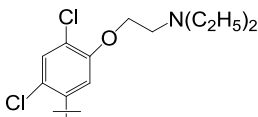
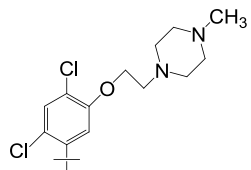
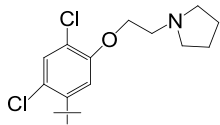
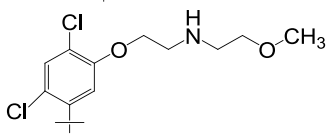
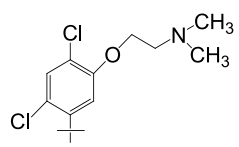
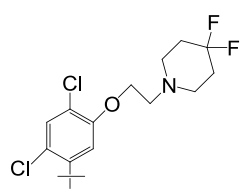
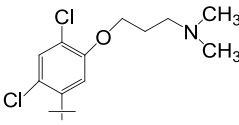
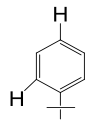
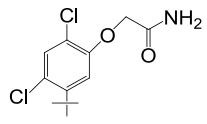
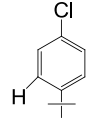
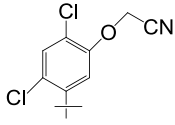
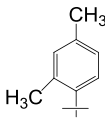
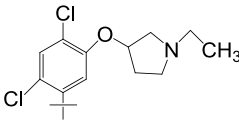
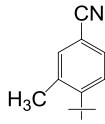
Validation. Validation by using cross validation techniques with Leave One Out (LOO) approach. LOO cross validation squares (q²) be an indicator of performance and stability model (JinCan, C., 2008) which is calculated according to the following formula:

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

With, y_i = experiment activity
 $\bar{y}$ = average of experiment activity
 $\hat{y}_i$ = cross validation predictive activity of compound i.

By cross validation with LOO approach was obtained a selected model. The best QSAR equations have statistical criteria $r^2 \geq 0.8$, and $q^2 \geq 0.5$. If the QSAR equations obtained do not fulfill these criteria, it means there is/are the outlier data which should be excluded.

Fig1. Molecule structure scheme of 2-aminothieno[2,3-d]pyrimidine derivatives and its anticancer activity (FP IC₅₀)

Comp.	R	FP IC ₅₀ experiment	Comp.	R	FP IC ₅₀ experiment
1		0.056	9		0.102
2		0.058	10		0.084
3		0.127	11		0.058
4		0.08	12		5.7
5		0.029	13		0.72
6		0.080	14		0.34
7		0.176	15		0.30



New Compounds Design. There are three measures in the design of new compounds, namely (i) determining the lead compound, (ii) selecting the substituents (R) of lead compound which is replaced by a new substituent, and (iii) determine the list of new substituents. Brough PA, et al (2009) recommended compound 2 (Fig. 2) to be developed/studied further. The substituent of lead compound are targeted for modification are substituent Cl in two position. With Topliss Scheme approach is obtained 8 new substituent as follow: $-\text{Cl}$, $-\text{H}$, $-\text{CH}_3$, $-\text{C}_4\text{H}_9$, $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{NO}_2$, $-\text{F}$ and $-\text{CF}_3$. Combinatorially modification is done on two position of Cl atom in lead compound so that obtained 63 new compounds.

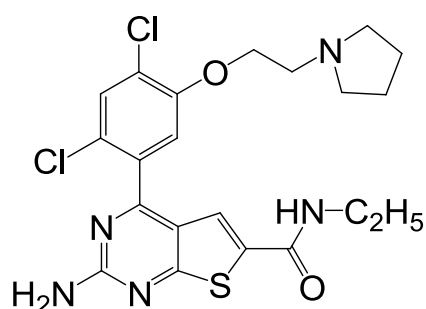


Fig 2. Lead compound for design of new compounds

RESULTS

After obtained the value of predictors of each compounds, the next step is performed statistical analysis by using multilinear regression analysis. Multilinear regression is done through combination of 2, 3 and 4 predictors so that obtained the list of model regression which are different in regression coefficient r (and r^2), standard error (SE) and Fischer criterion ($F_{\text{calculation}}$). Selected models which have $r \geq 0.7$ and $F_{\text{tab}} \geq F_{\text{cal}}$ are shown in Table 2.

Table 2. Selected models with $r \geq 0.7$ and $F_{cal} \geq F_{tab}$

Models	Predictors	R	Std. Error of the Estimate	df	F_{cal}/F_{tab}
121	mr, AM1_LUMO, logP(o/w), logS	0.783	1.012989	4	1.245454
116	AM1_dipole, logP(o/w), AM1_LUMO, logS	0.782	1.014323	4	1.240296
125	Polarizabilitas, AM1_LUMO, logP(o/w), logS	0.782	1.014372	4	1.240010
123	vol, AM1_LUMO, logP(o/w), logS	0.781	1.015806	4	1.234280
120	AM1_HOMO, logP(o/w), AM1_LUMO, logS	0.778	1.022491	4	1.207921
119	AM1_HF, AM1_LUMO, logS, logP(o/w)	0.777	1.024894	4	1.198753
122	glob, logP(o/w), AM1_LUMO, logS	0.776	1.026417	4	1.192736
84	AM1_LUMO, logS, logP(o/w)	0.776	0.983282	3	1.588200
130	AM1_HOMO, logP(o/w), glob, logS	0.761	1.055714	4	1.084436
126	AM1_dipole, logP(o/w), glob, logS	0.756	1.065075	4	1.051487
131	mr, glob, logP(o/w), logS	0.756	1.06588	4	1.048909
86	glob, logP(o/w), logS	0.756	1.020617	3	1.398478
134	Polarizabilitas, glob, logP(o/w), logS	0.756	1.065999	4	1.048336
141	ASA_H, logP(o/w), AM1_HF, logS	0.755	1.066559	4	1.046330
140	vol, logP(o/w), AM1_HF, logS	0.752	1.072803	4	1.025128
142	Polarizabilitas, logP(o/w), AM1_HF, logS	0.752	1.073396	4	1.023123
139	mr, logP(o/w), AM1_HF, logS	0.751	1.074992	4	1.017679
129	AM1_HF, glob, logP(o/w), logS	0.758	1.061546	4	1.063807
82	AM1_HF, logS, logP(o/w)	0.747	1.035303	3	1.329632
133	ASA_H, glob, logP(o/w), logS	0.756	1.06459	4	1.053206
88	ASA_H, logP(o/w), logS	0.744	1.041298	3	1.302303
79	AM1_dipole, logP(o/w), logS	0.742	1.043848	3	1.290741
132	vol, glob, logP(o/w), logS	0.756	1.065989	4	1.048336
87	vol, logP(o/w), logS	0.742	1.044939	3	1.285749
89	Polarizabilitas, logP(o/w), logS	0.742	1.044953	3	1.285749
85	mr, logP(o/w), logS	0.741	1.045547	3	1.283121
83	AM1_HOMO, logP(o/w), logS	0.741	1.045812	3	1.282070
61	logP(o/w), logS	0.741	1.005031	2	1.721915
124	ASA_H, AM1_LUMO, logP(o/w), logS	0.78	1.018652	4	1.223106
90	AM1_dipole, glob, logS	0.7	1.112347	3	1.011151

Table 2 shows there are 7 (seven) models with the highest r value (model 121, 116, 125, 123, 120, 119 and 122) have 4 (four) with 3 (three) predictors are the same, namely logP, logS, and E_{LUMO} (AM1_LUMO). Only 1 (one) predictor that distinguishes. 8th model (model 84) has 3 (three) predictors namely logP, logS and E_{LUMO} . This means that three predictors (logP, logS) and E_{LUMO} that have a tendency to give the strongest influence on anticancer activity (FP IC_{50}) of 2-aminothieno[2,3-d]pyrimidine derivatives, since all models have r value almost the same. By considering the Kubinyi (1993) opinion that the "best" QSAR equation consists of 3 (three) predictors, the model 84 with logP, logS and E_{LUMO} predictors can be selected as the best model. However, to prove it is needed validation of the model.

By using cross validation technique with Leave One Out (LOO) approach are obtained the of cross validation coefficient square LOO (q^2). Having noted the value of q^2 and r^2 parameters as indicators of statistic quality of models could be are known that there are data should be

excluded. They are compounds 12 and 4. QSAR equation for model 84 with all compounds (include compound 12 and 4) is shown by equation 1, while the QSAR equation for model 84 after compounds 12 and 84 excluding is shown by equation 2.

$$\text{FP IC}_{50} = 16.033 (\pm 3.986) - 3.02 (\pm 2.401) * E_{\text{LUMO}} + 3.254 (\pm 0.923) * \log S + 1.792 (\pm 0.752) * \log P, \text{ with } r = 0.776, r^2 = 0.602, n = 16, F = 0.009, \text{ dan } q^2 = -0.186818787 \dots \dots \dots (\text{equation 1})$$

$$\text{FP IC}_{50} = 3.487 (\pm 0.477) - 0.58 (\pm 0.214) * E_{\text{LUMO}} + 0.672 (\pm 0.105) * \log S + 0.367 (0.076) * \log P, \text{ dengan } n = 14, r = 0.918, r^2 = 0.842, q^2 = 0.472172, F = 17.749, \text{ dan Sig.} = 0.000 \dots \dots \dots (\text{equation 2})$$

Equation 2 shows the QSAR equation with a significant statistical criteria which the regression coefficient square (r^2) greater than 0.8 i.e., 0.842, and the value of q^2 can be rounded to 0.5. Thus the QSAR equation is the best equation to study of quantitative structure and activity relationship of 2-aminothieno[2,3-d]pyrimidine derivatives as anticancer through inhibition of Hsp90 function.

The predictors which show the most affecting of anticancer activity (FP IC_{50}) of 2-aminothieno[2,3-d]pyrimidine derivatives are partition coefficient ($\log P$), solubility ($\log S$), and LUMO energies (E_{LUMO}). The coefficient sign of each predictors can give the information about effect of each predictor on anticancer activity. The sign of $\log P$ and $\log S$ are positive (+), it's means the increasing of $\log P$ and $\log S$ will increase FP IC_{50} or decrease the anticancer potency, while E_{LUMO} is negative (-), it's means the increasing of LUMO energy will decrease FP IC_{50} or increase the potency.

The value of each predictor—partition coefficient ($\log P$), solubility ($\log S$), and LUMO energies (E_{LUMO})—is related to the contribution of substituents R. Design of new compounds through modification of substituents R. Different substituents R provide a different value of predictors and also provide a different of anticancer potential of each compound. Because the goal of designing new compounds is to obtain new compounds with better activity than previous compounds, modification is done on R that gives the most active zone. From the results of study of quantitative structure and activity relationship of 2-aminothieno[2,3-d]pyrimidine derivatives is seen that two predictors with most affects to anticancer activity of the compounds namely $\log P$ and $\log S$. These predictors are a group of hydrophobic effects, whereas LUMO energy is a group of electronic effects. Brough, P.A., et al (2009) explains that structure of compound 2 in the ring zone with 2 (two) Cl atoms provide the hydrophobic interactions to binding site of Hsp90 receptor. Therefore, to design new molecules through replacement or modification of two position of Cl substituent on the ring.

Replacing two positions of Cl atoms by $-\text{Cl}$, $-\text{H}$, $-\text{CH}_3$, $-\text{C}_4\text{H}_9$, $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{NO}_2$, $-\text{F}$ and $-\text{CF}_3$ substituents are gained 63 (sixty tree) new compounds. After calculating of the theoretical activity by using the best QSAR equation are obtained 2 (two) compounds with theoretical activity is better than lead compound, and 2 (two) compounds with theoretical activity is closer to lead compound (Table 2). These four new compounds of 2-aminothieno[2,3-d]pyrimidine derivatives can be selected for testing experimentally as anticancer.

Table 2. New compound with theoretical activity better and closer to the lead compound

Comp.	Structure	FP IC ₅₀	Explanation
		0.058 (experimental)	Lead Compound
a		0.008 (theoretical)	Better than lead compound
b		0.045 (theoretical)	Better than lead compound
c		0.057 (theoretical)	Closer to lead compound
d		0.060 (theoretical)	Closer to lead compound

CONCLUSION

Quantitative structure and activity relationship (QSAR) of 2-aminothieno[2,3-d]pyrimidine derivatives as anticancer by inhibition of Hsp90 functions explain there are three predictors that influence the activity, i.e. partition coefficient (logP), solubility (logS), and LUMO energies (E_{LUMO}), with the best QSAR equations is

$$\text{FP IC}_{50} = 3.487(\pm 0.477) - 0.58(\pm 0.214) * E_{\text{LUMO}} + 0.672(\pm 0.105) * \log S + 0.367(\pm 0.076) * \log P, \text{ with } n = 14, r = 0.918, r^2 = 0.842, q^2 = 0.472172, F = 17.749 \text{ dan } \text{Sig.} = 0.000.$$

Obtained two new compounds of 2-aminothieno[2,3-d]pyrimidine derivatives which have theoretical activity better than lead compound and two compounds of 2-aminothieno[2,3-d]pyrimidine derivatives which have theoretical activity closer to lead compound.

REFERENCES

- Brough, P.A., Barril, X., Borgognoni, J., Chene, P., Davies, N.G.M., Davis, B., Drysdale, M.J., Dymock, B., Eccles, S.A., Garcia-Echeverria, C., Fromont, C., Hayes, A., Hubbard, R.E., Jordan, A.M., Jensen, M. R., Massey, A., Merrett, A., Padfield, A., Parsons, R., Radimerski, T., Raynaud, F.I., Robertson A., Roughley S.D., Schoepfer, J., Simmonite, H., Sharp, S.Y., Surgenor, A., Valenti, M., Walls S., Webb P., Wood, M., Workman, P., and Wright, L., *J. Med. Chem.*, 2009, 52, 4794–4809.
- Ciocca, D.R, Fanelli, M.A., Cuello-Carrión, F.D., and Calderwood, S.K., *Heat Shock Proteins in Cancer*, 2007, 2, 31–51
- Hinchliffe, A., *Molecular Modelling for Beginners*. A Jhon Wiley and Sons Ltd., 2008.
- JinCan, C., Li, Q., Yong, S., LanMei, C., and KangCheng, Z. A QSAR Study and Molecular Design of Benzothiazole Derivatives as A Potent Anticancer Agents. *Sci in China Ser B*. 2008, Vol 51 No 2, 111-119.
- Nadendlla, RR. *Principles of Organic Medicinal Chemistry*. New Age International (P) Ltd., 2005.
- Nograpy, T., *Kimia Medisinal, Pendekatan Secara Biokimia*. Penerbit ITB Bandung, 1992.
- Qubinyi, H., *Hansch Analysis and Related Approches*. HCV Verlagsgesellschaft mbH, D-69451 Weinheim (Federal Republic of Germany), 1993.
- Patrick, GL., *An Introduction to Medicinal Chemistry*. Oxford University Press, 1995.
- Pratt, W.B., Morishima, Y., and Osawa, Y., *Heat Shock Proteins in Cancer*, 2007, 2, 1–30.
- Wolff, M.E., *Asas-asas Kimia Medisinal*. Gaja Mada University Press, 1994.

Lampiran 4 Korespondensi (e-mail) sebagai progress Publikasi Jurnal (Tahun 2).

9/17/13 https://mail-attachment.googleusercontent.com/attachment/u/1/?ui=2&ik=94bccc3ebb&view=att&th=14014f01032a771f8&attid=0.1&disp=inline&safe=1&zw&saduie=AG9B_P8N8JAbZQzwsTEQwbMKDw&sadet=1379389955178...



Dear La Ode Aman,

This is *Computer Technology and Application* (Print ISSN: 1934-7332; Online ISSN: 1934-7340, USA).

We are glad to know you have submitted a paper named ' MOLECULAR DOCKING OF 2-AMINOTHIENO[2,3-D]PYRIMIDINE DERIVATIVES AS Hsp90 INHIBITOR ' in ' 2nd International Conference on Computation for Science and Technology (ICCST 2012) '. We are very interested in your research, if the paper mentioned has not been published in other journals or you have other unpublished papers or books in hand and have the idea of making our journal a vehicle for your research interests, please feel free to send electronic version to us.

We also want to invite some people to be our reviewers or become our editorial board members. If you are interested in our journal, you can send your curriculum vitae to us.

Below is a brief introduction of our journal

Description

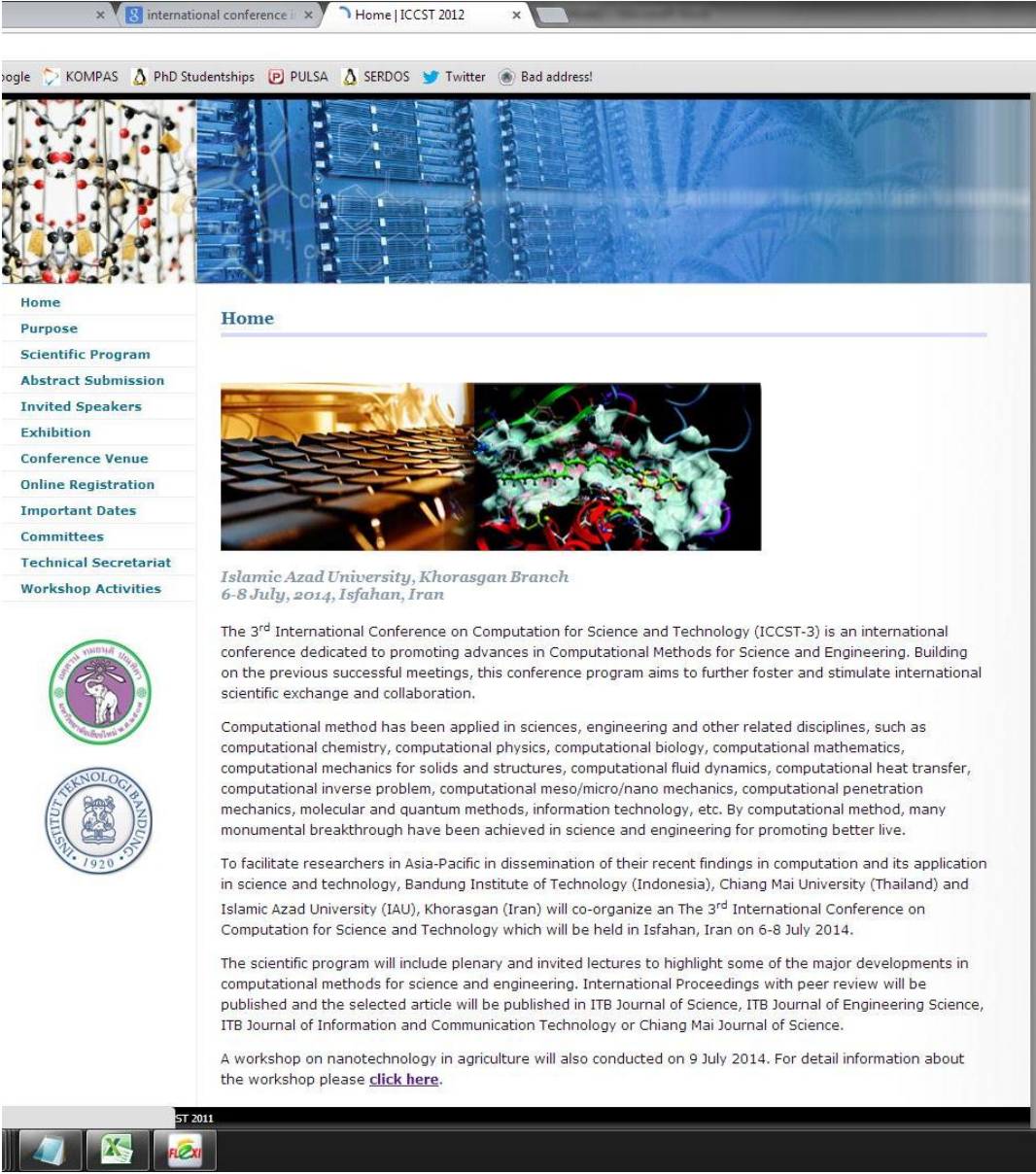
Computer Technology and Application (CTA), a professional journal published across the United States by David Publishing Company, USA. *CTA* is a scholarly peer-reviewed international journal published monthly for educators and researchers in the computer field. It seeks to bridge and integrate the intellectual, methodological, and substantive diversity of scholarship, and to encourage a vigorous dialogue between scholars and practitioners. The journal welcomes contributions which promote the exchange of ideas and rational discourse between educators and researchers all over the world.

CTA is collected and indexed by the Library of U.S Congress, on whose official website (<http://catalog.loc.gov>) an on-line inquiry can be triggered with their publication number ISSN1934-7332, as key words in "Basic Search" column. The journal is also retrieved by some renowned databases:

- Cabell's Directory, USA
- Chinese Database of CEPS, American Federal Computer Library Center (OCLC), USA
- Chinese Scientific Journals Database, VIP Corporation, Chongqing, China
- Database of EBSCO, Massachusetts, USA
- Index Copernicus, Poland
- Norwegian Social Science Data Services (NSD), Norway

https://mail-attachment.googleusercontent.com/attachment/u/1/?ui=2&ik=94bccc3ebb&view=att&th=14014f01032a771f8&attid=0.1&disp=inline&safe=1&zw&saduie=AG9B_P8N8JAbZQzwsTEQwbMKDw&sadet=1379389955178&sa... 1/3

Lampiran 5 Registrasi pada The 3rd International Conference on Computational for Science and Technology (ICCST-2) in Islamic Azad University, Iran, 6-8 Juli 2014. (Tahun 2)



Home

Home

Islamic Azad University, Khorasgan Branch
6-8 July, 2014, Isfahan, Iran

The 3rd International Conference on Computation for Science and Technology (ICCST-3) is an international conference dedicated to promoting advances in Computational Methods for Science and Engineering. Building on the previous successful meetings, this conference program aims to further foster and stimulate international scientific exchange and collaboration.

Computational method has been applied in sciences, engineering and other related disciplines, such as computational chemistry, computational physics, computational biology, computational mathematics, computational mechanics for solids and structures, computational fluid dynamics, computational heat transfer, computational inverse problem, computational meso/micro/nano mechanics, computational penetration mechanics, molecular and quantum methods, information technology, etc. By computational method, many monumental breakthrough have been achieved in science and engineering for promoting better live.

To facilitate researchers in Asia-Pacific in dissemination of their recent findings in computation and its application in science and technology, Bandung Institute of Technology (Indonesia), Chiang Mai University (Thailand) and Islamic Azad University (IAU), Khorasgan (Iran) will co-organize an The 3rd International Conference on Computation for Science and Technology which will be held in Isfahan, Iran on 6-8 July 2014.

The scientific program will include plenary and invited lectures to highlight some of the major developments in computational methods for science and engineering. International Proceedings with peer review will be published and the selected article will be published in ITB Journal of Science, ITB Journal of Engineering Science, ITB Journal of Information and Communication Technology or Chiang Mai Journal of Science.

A workshop on nanotechnology in agriculture will also conducted on 9 July 2014. For detail information about the workshop please [click here](#).

international conference x Registration Confirmation x

mbah

igle KOMPAS PhD Studentships PULSA SERDOS Twitter Bad address!



3rd International Conference on Computation for Science and Technology
and Workshop on NanoChemical Agriculture Technology
Islamic Azad University, Kharasgan Branch 6-8 July, 2014, Isfahan, Iran

Home
Purpose
Scientific Program
Abstract Submission
Invited Speakers
Exhibition
Conference Venue
Online Registration
Important Dates
Committees
Technical Secretariat
Workshop Activities




Registration Confirmation

Title	Mr.
*First Name	La Ode
*Last Name	Aman
*Address 1	Jl. Rambutan
Address 2	Komp. Griya Balkin Blok J No. 11 Tomulabutao
*City	Gorontalo
*Country	Indonesia
ZIP	96139
*Phone	+62-813-2178-1245
*Email	laode_aman@ung.ac.id
Category	Academic Faculty
*Name of Institution/ Organization/ Company	Universitas Negeri Gorontalo
Preference of Participation	Oral Speaker
Comment/Request	
	Submit the information?
	< Back Yes, Submit the Data

(C)2010 School of Pharmacy, ICCST 2011



international conference | x Registration Success | ICC | x Kotak Masuk (160) - laode | x Thank you for participati | x

google KOMPAS PhD Studentships PULSA SERDOS Twitter Bad address!



3rd International Conference on Computation for Science and Technology
and Workshop on NanoChemical Agriculture Technology
Isfah Azad University, Khorasan Branch 6-8 July, 2014, Isfahan, Iran

- Home
- Purpose
- Scientific Program
- Abstract Submission
- Invited Speakers
- Exhibition
- Conference Venue
- Online Registration
- Important Dates
- Committees
- Technical Secretariat
- Workshop Activities

Registration Success

Your data is successfully registered in our database.

Full Name: **La Ode Aman**
Registration number: **P-38**

Please remember the registration number and keep it in safe place.





(C)2010 School of Pharmacy, ICCST 2011

Lampiran 6 Dokumentasi ketika mempresentasikan hasil penelitian “Docking Molekular Senyawa Turunan 2-aminothieno[2,3-d]pyrimidine sebagai Inhibitor Hsp90” pada the 2nd International Conference on Computational for Science and Technology (ICCST-2) yang dilaksanakan di Nigde University, Nigde, Turkey tanggal 9 sampai 11 Juli 2012 (Penelitian Tahun 1)..

Foto Dokumentasi ICCST-2

- Ketika mempresentasikan makalah hasil penelitian dengan judul: *Molecular Docking of 2-aminothieno[2,3-d]pyrimidine Derivatives as Hsp90 Inhibitor*, dalam forum ICCST-2.



Foto Dokumentasi ICCST-2

- Ketika registration di desk panitia (**Penelitian Tahun 1**).



Foto Dokumentasi ICCST-2

- Ketika tour wisata peserta ICCST-2 di Obyek Wisata Capodecia, Turkey. La Ode Aman, M.Si dan Prof. Dr. Daryono Hadi Tjahjono, masing-masing adalah Ketua Tim Peneliti Pengusul (TPP) dan Ketua Tim Peneliti Mitra (TPM) (**Penelitian Tahun 1**).

