

MODEL RLB TURUNAN NAFTAKUINON INHIBITOR SEL LINE HELA

Samsul Hadi^{1*}, Uripto Trisno Santoso², Muhammad Luthfi Firdaus³

^{1,3}Program Studi Farmasi, Universitas Lambung Mangkurat

²Program Studi Kimia, Universitas Lambung Mangkurat

*Email¹: samsul.hadi@ulm.ac.id

Email²: utsantoso@ulm.ac.id

Email³: luthfi.9750@gmail.com

Artikel diterima: 7 Juli 2022; Disetujui: 1 Oktober 2022

DOI: <https://doi.org/10.36387/jiis.v7i2.966>

ABSTRAK

Kanker serviks merupakan penyakit yang berbahaya bagi kehidupan. Naftaquinon merupakan agen antikanker yang sudah berhasil disintesis turunannya, sehingga diperlukan studi HKSA untuk mengevaluasi potensinya. Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan deskriptor molekuler senyawa turunan naftokuinon yang berpengaruh signifikan terhadap aktivitas antikanker sel HeLa dan menyusunnya menjadi suatu model HKSA yang valid. Sebanyak 15 senyawa dari turunan naftokuinon digunakan untuk pemodelan. Deskriptor yang dicoba meliputi deskriptor topologi dan deskriptor sifat fisiko-kimia sebanyak 1.863 buah. Hasil analisis korelasi diperoleh 17 deskriptor yang layak untuk diuji dalam pemodelan. Hasil metode backward diperoleh 3 deskriptor yang berpengaruh signifikan, yaitu AATSC6Z, AATSC7m, dan MAXaaCH. Model RLB berbasis 3 deskriptor ini memenuhi persyaratan *goodness of fit* dengan $R=0,873$, $R^2=0,763$, $R^2 \text{ Adjusted}=0,698$, nilai $F=0,0009$ ($F_{\text{tabel}}=11,778$). Hasil uji validasi dengan metode CV-LOO diperoleh nilai $Q^2=0,572$ dan CV-LMO diperoleh nilai $Q^2=0,518$ sehingga model HKSA ini dapat dinyatakan sebagai model HKSA yang valid.

Kata kunci: Naftokuinon, Deskriptor, HKSA, RLB

ABSTRACT

Cervical cancer is a disease that is dangerous for life. Naphtaquinone is an anticancer agent whose derivatives have been successfully synthesized, so it is necessary to study QSAR to evaluate its potency. The purpose of this study was to determine the molecular descriptors of naphtoquinone-derived compounds that have a significant effect on the anticancer activity of HeLa cells and compile them into a valid QSAR model. A total of 15 compounds from naphtoquinone derivatives were used for modeling. The descriptors that were tried included 1,863 topological descriptors and physico-chemical properties descriptors. Results of correlation analysis obtained 17 descriptors that are feasible to be tested in modeling. Results of backward method obtained 3 descriptors that have a significant effect, namely AATSC6Z, AATSC7m, and MAXaaCH. The MLR model based on 3 descriptors fulfills the goodness of fit requirements with $R=0.873$, $R^2=0.763$, $R^2 \text{ Adjusted}=0.698$, $F \text{ value}=0.0009$ ($F_{\text{table}}=11.778$). The results of the validation

test using the CV-LOO method obtained a value of $Q^2=0.572$ and CV-LMO obtained a value of $Q^2=0.518$ so that this HKSA model can be stated as a valid HKSA model.

Keywords: *Naftokuinon, Descriptor, QSAR, MLR*

PENDAHULUAN

Kanker merupakan penyakit tidak menular penyumbang kematian utama di seluruh dunia dan salah satu diantara kanker mematikan adalah kanker serviks. Kanker servik menyebabkan kematian yang tinggi pada Wanita dengan angka kematian per tahunnya diperkirakan meningkat dengan jumlah awal 311.000 hingga menjadi 400.000 (WHO, 2020). Salah satu cara untuk melakukan pengobatan terhadap kanker adalah kemoterapi. Meskipun kemajuan besar telah dibuat oleh para peneliti dalam penemuan agen antikanker namun pencarian agen baru masih sangat diperlukan karena masih belum terpenuhinya beberapa faktor, khususnya selektivitasnya yang masih rendah. Agen antikanker yang selektivitasnya rendah dapat memacu munculnya sifat toksik, penyebaran metastatik, dan resistensi (Sigmond et al., 2003).

Salah satu senyawa alami memiliki khasiat sebagai antikanker

adalah golongan senyawa kuinon Gambar 1 (Prachayasittikul et al., 2014). Senyawa derivat dari 1,4-naftokuinon seperti plumbagin, mitomycin, dan shikonin memiliki kemampuan 2 yang kuat untuk menghambat proliferasi dan menimbulkan apoptosis pada sel kanker. Senyawa turunan naftokuinon terutama golongan 7-metiljuglona yang diekstrak dari *Euclea natalensis* (suatu tumbuhan yang biasa digunakan oleh masyarakat di Afrika Selatan untuk pengobatan antikanker secara tradisional) juga memiliki aktivitas kanker dan beberapa turunan senyawa ini memiliki aktivitas yang lebih tinggi daripada senyawa naftokuinon.

Kishore et al., (2014) telah melakukan sintesis dan uji aktivitas antikanker senyawa turunan 7-metiljuglona secara spesifik terhadap beberapa sel kanker line (human cancer lines), seperti human cervical epithelial carcinoma (HeLa), sel prostate ephitelial carcinoma

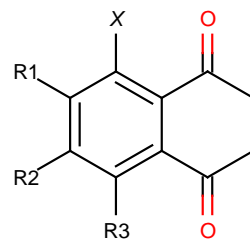
(DU145), Oesophageal carcinoma (SNO), dan sel breast adenocarcinoma (MCF7). Hasil dari penelitiannya menunjukkan bahwa sebagian besar senyawa turunan tersebut memiliki aktivitas antikanker dengan nilai $IC_{50} > 10,0 \mu M$. Di antara 19 buah senyawa uji, hanya ada satu senyawa yang memiliki aktivitas antikanker paling potensial terhadap sel HeLa, yaitu senyawa 19 (2,5-Dihydroxy-7-methyl-1,4-naphtoquinone) dengan IC_{50} sebesar $5,3 \mu M$ terhadap sel HeLa dan hanya ada dua senyawa yang memiliki aktivitas antikanker paling potensial terhadap sel DU145 yaitu senyawa 19 dengan $IC_{50} = 6,8 \mu M$ dan senyawa 5 (8-Chloro-5-hydroxy-6-methyl-1,4-naphtoquinone) dengan $IC_{50} = 9,3 \mu M$. Nilai IC_{50} terhadap sel HeLa senyawa 19 lebih rendah daripada Cisplatin ($IC_{50} = 10 \mu M$) tetapi tinggi daripada Doxorubicin Cisplatin ($IC_{50} = 0,01 \mu M$).

Salah satu metode SAR yaitu QSAR atau biasa disebut HKSA memiliki hipotesis bahwa aktivitas biologis senyawa serupa dari molekul berbeda dapat dibandingkan secara kuantitatif berdasarkan karakteristik

komponen strukturnya (Asmara et al., 2013). Metode ini juga dapat digunakan untuk memprediksi struktur senyawa baru yang lebih poten (Noor et al., 2016). Sehingga berdasarkan hal itu peneliti tertarik mengkaji HKSA dari senyawa senyawa ini dalam rangka pencarian senyawa baru yang memiliki aktivitas antikanker lebih tinggi. Penelitian ini menggunakan senyawa turunan naftokuinon jenis 5-hidroksi-1,4-naftokuinon sebagai uji penelitian HKSA terhadap sel kanker HeLa.

METODE PENELITIAN

Bahan



Gambar 1. Struktur Naftokuinon (7-metiljuglona) (Kishore, et al., 2014).

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah data struktur kimia dan data dari senyawa turunan 1,4-naftokuinon yang disertakan nilai IC_{50} dari 15 senyawa yang terpilih dalam eksperimen pada sel HeLa dan

dapat dilihat pada tabel 1. Alat yang digunakan adalah laptop Asus X441N yang berspesifikasi: *Processor tipe Intel® Celeron®-N3350 up to 2.4 GHz, Harddisk 500 megabyte, Random Access Memory (RAM)*

sebesar 4 GB dan perangkat lunak *Windows 10 Pro, Hyperchem® 8.0.5, ChemAxon Marvin Suite© 20.20.0, Microsoft Excel 2016, dan Mordred Descriptor web UI.*

Tabel 1. Daftar senyawa turunan naftokuinon golongan juglone beserta IC50 sebagai antikanker terhadap sel HeLa

Senyawa	Substituen				IC50	pIC50
	R1	R2	R3	X		
1	-CH ₃	-H	-OH	-H	66.6	4.176
2	-CH ₃	-H	-OH	-Cl	13.5	4.869
3	-CH ₃	-H	-OH	-Br	11.3	4.946
4	-CH ₃	-H	-OH	-F	10.2	4.991
5	-H	-CH ₃	-OH	-Cl	10.1	4.995
6	-H	-CH ₃	-OH	-H	16.4	4.785
7	-CH ₃	-H	-OCH ₃	-Cl	19.1	4.718
8	-CH ₃	-H	-OC ₂ H ₅	-Cl	19	4.721
9	-CH ₃	-H	-OCOCH ₃	-Cl	26.2	4.581
10	-CH ₃	-H	-OCOCH ₃	-H	17.2	4.764
11	-CH ₃	-H	-OCH ₃	-H	21.1	4.675
12	-CH ₃	-H	-OC ₂ H ₅	-H	29.7	4.527
13	-H	-CH ₃	-OCH ₃	-Cl	41.5	4.381
14	-H	-CH ₃	-OC ₂ H ₅	-Cl	33.2	4.478
15	-H	-CH ₃	-OCOCH ₃	-Cl	21.8	4.661

Preparasi Struktur Kimia Turunan Naftokuinon

Struktur senyawa turunan naftokuinon digambar dengan menggunakan program *Hyperchem® 8.0.5* dengan diawali menggambar struktur senyawa 1,4-naftokuinon sebagai struktur dasar. Selanjutnya dilakukan substitusi pada gugus hidroksil (-OH) pada atom C-5, gugus

hidrogen (-H) di C-6, gugus metil di C-7 dan gugus halogen (Cl, Br, F) pada atom C-8.

Optimasi Geometri

Optimasi geometri dengan metode semi-empirik *Parametric Model 3 (PM3)* dan metode optimasi *Polak-Ribiere* dengan batas konvergensi 0,001 kkal/(Åmol) dan

batas iterasi 50. File yang sudah dibuat disimpan dalam format *smi*.

Pemilihan Deskriptor

Deskriptor yang digunakan dan perhitungan nilainya menggunakan 3 program yaitu *Hyperchem*® 8.0.5 (Yunta, 2013), *Mordred Descriptor* dan *ChemAxon Marvin Suite*© 20.20.0 (ChemAxon, 2016).

Analisa Statistika

Analisis datanya adalah regresi linier berganda (RLB). Hasil perhitungan deskriptor dan nilai pIC_{50} senyawa turunan Naftokuinon digunakan sebagai variabel perhitungan regresi linier. Variabel bebas yaitu hasil perhitungan deskriptor dan variabel terikat adalah pIC_{50} senyawa turunan Naftokuinon. Metode seleksi deskriptor yang lebih berpengaruh dilakukan dengan metode *backward*, Software yang digunakan untuk teknik analisis RLB adalah *Microsoft Excel 2016*.

Validasi Model

Model persamaan yang akan digunakan dalam penelitian ialah model persamaan yang memenuhi kriteria validasi yaitu: R , R^2 , Q^2 , R^2 - R^2_{adj} , F

HASIL DAN PEMBAHASAN

Preparasi Struktur Kimia Senyawa Turunan Naftokuinon

15 senyawa turunan Naftokuinon yang dibuat dalam gambar dengan *format file mol*. untuk aplikasi *Hyperchem*® 8.0.5 dan dengan *format file smi*. untuk digunakan pada *ChemAxon*© dan *Mordred* yang pada gugus karbon nomor 5 sampai dengan gugus karbon nomor 8 (gugus nomor 8 ditambahkan unsur halogen dan hidrogen). Data yang telah dibuat akan digunakan untuk berbagai aktivitas observasi seperti tahapan selanjutnya yaitu optimasi geometri.

Optimasi metode memakai Polak Ribiere agar konformasi stabil. Selanjutnya, optimasi geometri yang telah dilakukan pada semua senyawa turunan naftokuinon dilakukan uji descriptor melalui *Hyperchem*®, *ChemAxon*©, dan *Mordred*.

Pemilihan Deskriptor

Deskriptor yang dipilih berdasarkan parameter yang dipilih yaitu parameter yang mempengaruhi struktur obat seperti parameter sterik,

elektronik dan hidrofobik. Sebanyak 1.863 deskriptor diseleksi berdasarkan pengaruhnya terhadap aktivitas biologis senyawa turunan naftokuinon secara statistika yaitu uji korelasi dan multikolinearitas menggunakan *Microsoft Excel*. Hasil dari pemilihan deskriptor melalui uji korelasi dilanjutkan melalui seleksi multikolinearitas hingga terseleksi hingga 17 deskriptor. Dari seleksi multikolinearitas, dilanjutkan dengan perhitungan regresi dengan seleksi satu per satu deskriptor dengan metode *backward* hingga didapatkan 3 deskriptor terpilih dan dapat dilihat pada table 2.

Validasi Model

Validasi data melihat nilai R, R², R² adjusted, SE (Standard Error), F, dan nilai CV-LOO (Q²). Nilai R yang didapatkan yaitu 0,873 dengan persyaratan minimal nilai R yang baik adalah di atas 0,8 (Ananto, 2017). Nilai R² yang didapatkan dalam penelitian ini yaitu 0,763 yang mana dapat dinotasikan dengan 76,3% dari variasi data yang berarti bahwa besar pengaruh antara parameter sifat fisika kimia senyawa terhadap aktivitasnya sebagai antikanker serviks sebesar 76,3%. Persyaratan nilai R² yang baik adalah $\geq 0,6$ (Veerasamy et al., 2011), hasilnya dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 2. Hasil Seleksi Deskriptor

No	Deskriptor	Deskripsi	Jenis Deskriptor
1	AATSC6Z	<i>Averaged and Centered Moreau-Broto Autocorrelation of Lag 6 Weighted by Atomic Number</i>	Topologi
2	AATSC7m	<i>Averaged and Centered Moreau-Broto Autocorrelation of Lag 7 Weighted by Mass</i>	Topologi
3	MAXaaCH	Max of aaCH	Topologi

Tabel 3. Data Model RLB

Metode Pencarian	Deskriptor	R	R ²	Adjusted R	R ² -R ² adj	SE (Standard Error)	Sig. F	CV LOO & LMO
Backward	AATSC6Z, AATSC7m, MAXaaCH	0,873	0,763	0,698	0,125	0,126	0,0009	0,572 & 0,518
Syarat		$\geq 0,8$	$\geq 0,6$		R ² -R ² adj <0,3		$\leq 0,5$	>0,5

Nilai *adjusted* R^2 yang didapat menunjukkan aktivitas antikanker dari model persamaan yang terpilih sebesar 69,8%. Adapun persyaratan validasi dari R^2 dengan R^2_{adj} yaitu nilai persyaratan selisih antara R^2 dengan R^2_{adj} yaitu $<0,3$ (Veerasamy *et al.*, 2011), yang mana selisih antara R^2 dengan R^2_{adj} penelitian ini sebesar 0,125.

Hasil Validasi Silang Leave-One-Out dan Leave-Many-Out

Model yang terpilih memiliki nilai Q^2 sebesar 0,572 pada seleksi LOO dan 0,518 pada seleksi LMO yang mana persyaratan nilai validasi silang Q^2 yang baik adalah $>0,5$ (Veerasamy *et al.*, 2011). Kemudian selisih antara R^2 dengan Q^2 adalah 0,191 pada hasil seleksi LOO dan 0,245 pada hasil seleksi LMO dengan persyaratan selisih ini adalah $<0,3$. Hal ini berarti dari model tersebut memiliki daya prediksi kemampuan prediktor sangat tinggi dan tidak terjadi *overfitting* antara variabel prediksi dengan eksperimen.

Nilai PRESS yang didapatkan dari penelitian ini adalah 0,208. Semakin kecil nilai PRESS berarti selisih antara aktivitas eksperimen

dengan aktivitas prediksi semakin kecil (lebih baik mendekati angka 0), yang berarti kemampuan model persamaan tersebut dalam memprediksikan suatu nilai aktivitas semakin bagus.

Berdasarkan Gambar 2, model persamaan dari model terpilih yaitu Y (Model) = 5,7654 - 0,1174 (AATSC6Z) - 0,0095 (AATSC7m) - 0,9552 (MAXaaCH). Model persamaan terpilih dapat digunakan untuk menggambarkan hubungan antara senyawa turunan naftokuinon dengan aktivitasnya sebagai antikanker.

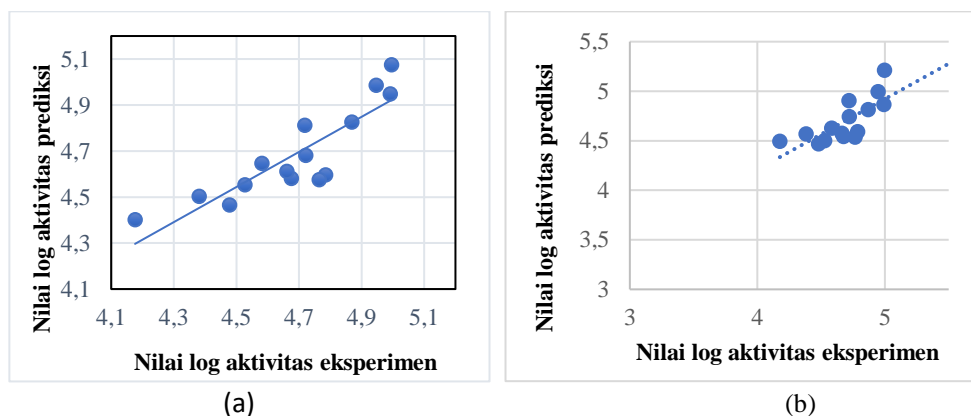
Deskriptor Terpilih

Deskriptor yang telah terseleksi hingga ke persamaan model merupakan deskriptor parameter topologi. Deskriptor terpilih dalam model persamaan yang diperoleh adalah berupa deskriptor topologi yang meliputi AATSC6Z, AATSC7m, dan MAXaaCH (Jäntschi, 2005; Jäntschi & Bolboacă, 2007).

ATS (*Autocorrelation of a Topological Structure*) atau bisa disebut deskriptor *Moreau-Broto autocorrelation* merupakan deskriptor topologi yang menyatakan

grafik tetap yang menggambarkan properti (atom) (Schneider & Baringhaus 2008). Deskriptor yang termasuk dalam golongan descriptor *ATS* adalah *AATSC6Z* yang memiliki arti yaitu atom digambarkan berdasarkan autokorelasi *ATS* yang memiliki jarak tiap atom terpaut 6 ikatan pada grafik senyawa

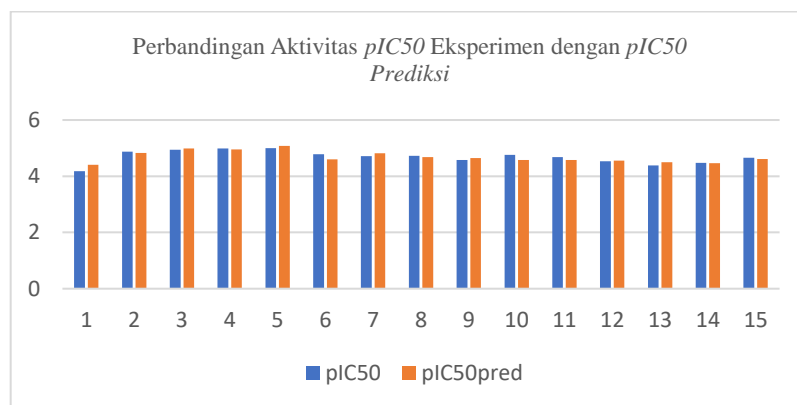
berdasarkan jumlah atom. *AATSC7m* yang memiliki arti yaitu atom yang digambarkan berdasarkan autokorelasi *ATS* yang memiliki jarak tiap atom terpaut 7 ikatan pada grafik senyawa berdasarkan massa atom.



Gambar 2. Grafik Hasil Persamaan Model Terpilih antara pIC_{50} Eksperimen dengan pIC_{50} Prediksi (a) menggunakan metode LOO dan (b) menggunakan metode LMO

MAXaaCH merupakan deskriptor yang menyatakan keadaan elektropologi pada elektronik atom dan karakterisasi atom. Setiap atom dalam grafik molekul diwakili oleh variabel keadaan (*E-state*) yang mengkodekan keadaan elektronik intrinsik atom sebagai pengaruh elektronik semua atom lain (Hall & Kier 1995). Deskriptor *MAXaaCH* menyatakan bahwa semua potensi

maksimum elektronik pada senyawa naftokuinon dipengaruhi oleh cincin aromatik CH itu sendiri. *MAXaaCH* memiliki nama grup atom yaitu *aCHa* dengan grup simbolnya adalah *aaCH*. Ketiga deskriptor menghasilkan pIC_{50} prediksi yang mana pIC_{50} prediksi tidak berbeda jauh dengan pIC_{50} eksperimen sebagaimana ditunjukkan pada gambar 3.



Gambar 3. Perbandingan antara pIC_{50} Eksperimen dengan pIC_{50} Prediksi

KESIMPULAN

Kesimpulan model persamaan terpilih memiliki $Q^2(LOO) = 0,719$ dan $Q^2(LMO) = 0,518$ sehingga merupakan model yang valid.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih Peneliti ucapkan terhadap Universitas Lambung Mangkurat

DAFTAR PUSTAKA

- Ananto, A. (2017). *Analisis Hubungan Kuantitatif Struktur dan Aktivitas untuk Merancang Insektisida Baru Turunan Karbamat Menggunakan Metoda Semiempirik PM3* (Vol. 5).
- Asmara, A., Siswanta, D., & Mudasir, M. (2013). Studi QSAR Senyawa Turunan Triazolopiperazin Amida Sebagai Inhibitor Enzim Dipeptidil Peptidase-IV (DPP IV) Menggunakan Metode Semiempirik AM1. *Berkala Ilmiah MIPA*.
- ChemAxon. (2016). ChemAxon - Software Solutions and Services for Chemistry and Biology. In *MarvinSketch, Version 16.10.31*. <https://chemaxon.com/>
- Hall, L. H., & Kier, L. B. (1995). Electrotopological State Indices for Atom Types: A Novel Combination of Electronic, Topological, and Valence State Information. In *J. Chem. In\$ Comput. Sci* (Vol. 35).
- Jäntschi, L. (2005). Molecular Descriptors Family on Structure Activity Relationships 1. Review of the Methodology. *Leonardo Electronic Journal of Practices and Technologies*, 6.
- Jäntschi, L., & Bolboacă, S. D. (2007). Structure-Activity Relationships on the Molecular Descriptors Family Project at the End. *Leonardo Electronic Journal of Practices and Technologies*, 11, 163–180.
- Kishore, N., Binneman, B., Mahapatra, A., van de Venter, M., du Plessis-Stoman, D.,

- Boukes, G., Houghton, P., Marion Meyer, J. J., & Lall, N. (2014). Cytotoxicity of synthesized 1,4-naphthoquinone analogues on selected human cancer cell lines. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 22(17), 5013–5019. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2014.06.013>
- Noor, M., Kasmui, K., & Kusuma, S. B. W. (2016). Analisis Hubungan Kuantitatif Struktur dan Aktivitas Antimalaria Senyawa Turunan Quinoxalin. *Jurnal MIPA*, 39(1), 51–56.
- Prachayasittikul, V., Pingaew, R., Worachartcheewan, A., Nantasenamat, C., Prachayasittikul, S., Ruchirawat, S., & Prachayasittikul, V. (2014). Synthesis, anticancer activity and QSAR study of 1,4-naphthoquinone derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 84, 247–263. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2014.07.024>
- Schneider, G., & Baringhaus, K.-H. (2008). Molecular design. Concepts and applications. In *reciis* (Vol. 3, Issue 2). Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. <http://www.reciis.cict.fiocruz.br/index.php/reciis/article/view/259/286>
- Sigmond, J., Backus, H. H. J., Wouters, D., Temmink, O. H., Jansen, G., & Peters, G. J. (2003). Induction of resistance to the multitargeted antifolate Pemetrexed (ALIMTA) in WiDr human colon cancer cells is associated with thymidylate synthase overexpression. *Biochemical Pharmacology*, 66(3), 431–438. [https://doi.org/10.1016/s0006-2952\(03\)00287-9](https://doi.org/10.1016/s0006-2952(03)00287-9)
- Veerasamy, R., Rajak, H., Jain, A., Sivadasan, S., Varghese, C. P., & Agrawal, R. K. (2011). *Ravichandran Veerasamy, et al: Validation of QSAR Models-Strategies and Importance Validation of QSAR Models-Strategies and Importance*.
- WHO. (2020). *A cervical cancer-free future: First-ever global commitment to eliminate a cancer*. November 2020. <https://www.who.int/news/item/17-11-2020-a-cervical-cancer-free-future-first-ever-global-commitment-to-eliminate-a-cancer>
- Yunta, M. J. R. (2013). How to Calculate Binding Constants for Drug Discovery Studies. *American Journal of Modeling and Optimization*, 1(3), 61–70. <https://doi.org/10.12691/ajmo-1-3-7>