

STUDI HKSA TURUNAN BENZOILTIOUREA SECARA *IN SILICO* SEBAGAI CALON OBAT SEDATIF HIPNOTIK

(4-Metilbenzoiltiourea; 4-metoksibenzoiltiourea; 4-butylbenzoiltiourea;
4-*t*-butylbenzoiltiourea; 3-trifluorometilbenzoiltiourea;
4-trifluorometilbenzoiltiourea)

Michelle Anastasia Wenas

Farmasi / Farmasi
michellewenas@gmail.com

Abstrak - Telah dilakukan penelitian terhadap enam senyawa turunan benzoiltiourea, yaitu 4-metilbenzoiltiourea; 4-metoksibenzoiltiourea; 4-butylbenzoiltiourea; 4-*t*-butylbenzoiltiourea; 3-trifluorometilbenzoiltiourea; 4-trifluorometilbenzoiltiourea. Penelitian ini merupakan studi hubungan kuantitatif struktur aktivitas (HKSA) yang ditujukan untuk mengetahui hubungan antara perubahan struktur, sifat kimia fisika (lipofilik, elektronik, dan sterik) terhadap prediksi aktivitas (*rerank score*), toksisitas (LD-50), dan bioavailabilitas (F). Struktur dua dan tiga dimensi dibuat dengan menggunakan program *ChemBioDraw Ultra 12.0* dan *ChemBio3D Ultra 12.0*. Program *ACD I-Lab* digunakan untuk mencari sifat kimia fisika serta nilai LD-50 dan bioavailabilitas. Program doking yang digunakan adalah *Molegro Virtual Docker 5.0* dengan reseptor GABA_A kode 4-COF. Hasil doking menunjukkan 4-*t*-butylbenzoiltiourea memiliki nilai *rerank score* terbaik (-83.0588), lebih baik daripada senyawa pembanding (bromisoval) dan senyawa induk (benzoiltiourea). Semua turunan memenuhi persyaratan hukum lima Lipinski. Hasil analisis regresi enam turunan benzoiltiourea menggunakan program IBM[®] SPSS[®] *Statistic 20* menunjukkan adanya hubungan linier antara perubahan struktur, sifat kimia fisika (elektronik dan sterik) dengan aktivitas dan toksisitas secara *in silico* sebagai calon obat sedatif hipnotik.

Kata kunci : HKSA, benzoiltiourea, bromisoval, *in silico*, sedatif hipnotik

Abstract - A research has been conducted to six derivate of benzoylthiourea, namely 4-methylbenzoylthiourea; 4-metoxybenzoylthiourea; 4-butylbenzoylthiourea; 4-*t*-butylbenzoylthiourea; 3-trifluoromethylbenzoylthiourea; 4-trifluoromethylbenzoylthiourea. This is a Quantitative Structure Activity Relationship Study (QSAR) which is intended to know relationship between structure changes, physical and chemical properties (lipophilic, electronic, and steric) to prediction of activity (*rerank score*), toxicity (LD-50), and bioavailability (F). Two dimension and three dimension structure is made by *ChemBioDraw Ultra 12.0* and *ChemBio3D Ultra 12.0*. *ACD I-Lab* is used to cast about physical and chemical properties, LD-50, and bioavailability. We used *Molegro Virtual Docker 5.0* as docking program with GABA_A receptor code 4-COF. Docking results showed that 4-*t*-butylbenzoylthiourea had the best *rerank score* (-83.0588) and better than standard compound (bromisoval) and lead compound (benzoylthiourea). All of the six derivate meet the five Lipinski Rules

requirement. Regression analysis results using IBM[®] SPSS[®] Statistic 20 showed that there is a linear correlation between structure changes, physical and chemical properties (electronic and steric) to prediction of activity and toxicity using in silico method as sedative hypnotic drug candidates.

Keywords: QSAR, benzoylthiourea, bromisoval, in silico, sedative hypnotic

PENDAHULUAN

Kebutuhan salah satu penekan sistem saraf pusat, yaitu sedatif hipnotik semakin meningkat. Sebanyak 30% orang dewasa dari berbagai negara melaporkan satu atau lebih gejala insomnia (Roth, 2007). Gangguan tidur mulai menjadi wabah yang mendunia terutama di negara berkembang. Sebanyak 16,6% orang dewasa usia 50 tahun ke atas menderita gangguan tidur parah. Gangguan ini dialami oleh 4,6% wanita dan 3,9% pria di Indonesia (Stranges, *et al.*, 2012).

Berbagai pengembangan terus dilakukan untuk memperoleh sedatif hipnotik dengan aktivitas yang lebih baik. Dalam bidang kimia medisinal, pengembangan senyawa dimulai dari kajian hubungan struktur dan aktivitas (HSA). HSA menunjukkan bahwa sifat fisika kimia, yaitu lipofilik, elektronik, dan sterik yang dibawa oleh struktur senyawa obat akan mempengaruhi aktivitas biologis obat tersebut. Sifat lipofilik senyawa terkait dengan kemampuan senyawa untuk dapat didistribusikan dan menembus membran biologis tubuh untuk bisa berikatan dengan reseptor. Sifat elektronik terkait dengan kemampuan senyawa untuk menembus membran biologis dan berikatan dengan reseptor. Sifat sterik menentukan keserasian interaksi senyawa dengan reseptor (Siswandono, 1998).

Siswandono (1998) melakukan sintesis benzoilurea yang memiliki struktur yang mirip dengan bromisoval. Bromisoval merupakan turunan ureida asiklik dikembangkan dan digunakan sebagai sedatif hipnotik apabila turunan barbiturat tidak efektif lagi. Bromisoval dapat menyebabkan akumulasi bromida akibat susah dimetabolisme ($t_{1/2} = 12$ hari), sehingga terjadi intoksikasi yang disebut bromisme. Setelah disintesis dan diuji aktivitasnya, hasilnya benzoilurea memiliki aktivitas sebagai penekan sistem saraf pusat dan tidak menyebabkan efek samping bromisme. Kesuma (2005), memodifikasi benzoilurea menjadi benzoiltiourea dengan cara mengganti atom O dengan atom S. Setelah diuji aktivitasnya, benzoiltiourea memiliki aktivitas yang lebih baik sebagai penekan

sistem saraf pusat sehingga bisa digunakan sebagai senyawa induk (*lead compound*) untuk memperoleh senyawa dengan aktivitas yang lebih baik.

Dalam penelitian ini, digunakan enam senyawa turunan benzoiltiourea, yaitu 4-metilbenzoiltiourea; 4-metoksibenzoiltiourea; 4-butylbenzoiltiourea; 4-*t*-butylbenzoiltiourea; 3-trifluorometilbenzoiltiourea; dan 4-trifluorometilbenzoiltiourea untuk dilakukan studi prediksi aktivitas, keamanan, bioavailabilitas, dan studi hubungan kuantitatif struktur aktivitas. Prediksi keamanan dan bioavailabilitas calon obat sedatif hipnotik menggunakan program ACD/I-Lab *Online Prediction Engine*. Keamanan turunan benzoiltiourea akan dilihat melalui parameter toksisitas LD-50 (*Lethal Dose 50*). LD-50 memiliki arti suatu dosis obat yang diberikan pada sekelompok hewan dan memberikan hasil sejumlah 50% hewan mati (Paramveer, *et al.*, 2010). Untuk mengetahui bioavailabilitas turunan benzoiltiourea, digunakan parameter bioavailabilitas. Menurut FDA (2003), bioavailabilitas adalah laju dan tingkat bahan aktif terabsorpsi dari produk obat dan menjadi tersedia di tempat kerja bahan tersebut (*site of action*).

Desain obat melalui *virtual screening* yang termasuk dalam studi komputasi *in silico* mulai dikembangkan. Hal ini dapat mereduksi waktu penelitian serta mengurangi biaya yang dikeluarkan. phRMA (2013) mengemukakan bahwa biaya yang dibutuhkan untuk membuat satu obat baru, termasuk biaya kegagalannya, adalah \$ 1,2 miliar dan untuk menghasilkan satu obat membutuhkan proses yang sangat panjang. Salah satu metode yang dipakai dalam *virtual screening* adalah metode pencarian berbasis struktur melalui penambatan molekular atau *molecular docking* (Yanuar, 2012). *Molecular docking* adalah suatu usaha untuk mencari pencocokan terbaik antara dua molekul, yaitu ligan dan reseptor (Halperin, *et al.*, 2002). Siswandono dan Diyah (2011) telah melakukan pemodelan molekular dan HKSA terhadap senyawa-senyawa turunan benzoilurea. Nilai *docking score* pada reseptor 3IP9 menunjukkan bahwa turunan benzoilurea memiliki nilai energi yang lebih rendah dibandingkan bromisoval, yang berarti ikatan obat dengan reseptor lebih stabil dan diprediksi mempunyai aktivitas yang lebih besar sehingga turunan-turunan benzoilurea layak untuk disintesis. Studi HKSA menunjukkan adanya korelasi

signifikan antara sifat-sifat lipofilik, elektronik, dan sterik dengan aktivitas sebagai penekan sistem saraf pusat. Salah satu program yang dapat digunakan untuk melakukan doking adalah *Molegro Virtual Docker* (MVD). Pembandingan yang digunakan dalam proses analisis hasil doking adalah bromisoval karena merupakan senyawa sedatif hipnotik dengan gugus fungsi yang menyerupai turunan benzoiltiourea.

Hubungan struktur aktivitas dengan doking hanya melibatkan sifat elektronik dan sterik. Hukum lima Lipinski digunakan untuk melihat sifat lipofilisitas. Hukum ini menyimpulkan bahwa senyawa akan sulit diabsorpsi dan permeabilitasnya rendah apabila berat molekulnya lebih besar 500, mempunyai nilai log koefisien partisi oktanol/air ($\log P$) lebih besar +5, mempunyai ikatan-H donor, yang dinyatakan dengan jumlah gugus O-H dan N-H lebih besar dari 5, serta mempunyai ikatan-H aseptor, yang dinyatakan dengan jumlah atom O dan N lebih besar dari 10 (Siswandono, 2014).

Studi pendahuluan telah dilakukan untuk menentukan reseptor yang akan digunakan dalam penelitian ini. $GABA_A$ dipilih karena merupakan target obat yang relevan untuk benzodiazepin, barbiturat, dan anestetik umum (Thielmann, *et al*, 2009). Ada beberapa reseptor $GABA_A$, yaitu 1GNU, 1KOT, 1KJT, 1KLV, 1KM7, 3D32, 3DOW, 3WIM, dan 4COF. Dalam penelitian ini dipilih 4COF karena merupakan struktur kristal dari reseptor $GABA_A$ manusia dan memiliki keunggulan yaitu memiliki ligan benzamidin yang memiliki struktur mirip dengan turunan benzoiltiourea.

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah bagaimana hubungan kuantitatif perubahan struktur, sifat kimia fisika senyawa (lipofilik, elektronik, dan sterik) terhadap prediksi aktivitas secara *in silico* dari enam senyawa turunan benzoiltiourea? Bagaimana hubungan kuantitatif perubahan struktur, sifat kimia fisika senyawa (lipofilik, elektronik, dan sterik) terhadap prediksi toksisitas secara *in silico* dari enam senyawa turunan benzoiltiourea? Bagaimana hubungan kuantitatif perubahan struktur, sifat kimia fisika senyawa (lipofilik, elektronik, dan sterik) terhadap prediksi bioavailabilitas secara *in silico* dari enam senyawa turunan benzoiltiourea?

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah ada hubungan linier atau nonlinier antara perubahan struktur, sifat kimia fisika (lipofilik, elektronik, dan sterik) terhadap prediksi aktivitas secara *in silico* dari enam senyawa turunan benzoiltiourea, ada hubungan linier atau nonlinier antara perubahan struktur, sifat kimia fisika (lipofilik, elektronik, dan sterik) terhadap prediksi toksisitas secara *in silico* dari enam senyawa turunan benzoiltiourea, dan ada hubungan linier atau nonlinier antara perubahan struktur, sifat kimia fisika (lipofilik, elektronik, dan sterik) terhadap prediksi bioavailabilitas secara *in silico* dari enam senyawa turunan benzoiltiourea.

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan hubungan kuantitatif dari perubahan struktur, sifat kimia fisika (lipofilik, elektronik, dan sterik) terhadap prediksi aktivitas secara *in silico* dari enam senyawa turunan benzoiltiourea, mendapatkan hubungan kuantitatif dari perubahan struktur, sifat kimia fisika (lipofilik, elektronik, dan sterik) terhadap prediksi toksisitas secara *in silico* dari enam senyawa turunan benzoiltiourea, dan mendapatkan hubungan kuantitatif dari perubahan struktur, sifat kimia fisika (lipofilik, elektronik, dan sterik) terhadap prediksi bioavailabilitas secara *in silico* dari enam senyawa turunan benzoiltiourea.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian menggunakan teknologi komputasi yang dikenal sebagai *in silico*. *In silico* merupakan analog *in vivo* dan *in vitro* yang menggunakan aplikasi komputer sehingga waktu dan biaya menjadi lebih efisien (Zukhrullah, *et al.*, 2012). Bahan yang diperlukan dalam penelitian ini adalah data makromolekul sebagai reseptor yang dicari dalam *database* PDB (*Protein Data Bank*) serta gambar struktur 2D dan 3D dari bromisoval, benzoiltiourea, dan turunan benzoiltiourea. Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah perangkat komputer *Intel Core i3-3110M 2.4 GHZ*, 2GB DDR3, Sistem Operasi *Windows 8 64 bit*; program doking *Molegro Virtual Docker 2011.5*; program penggambar struktur kimia 2D *ChemBioDraw Ultra 12.0 2009*; program penggambar struktur kimia 3D *ChemBio3D Ultra 12.0 2009*, program prediksi sifat fisikokimia, ADME, dan toksisitas secara *online* *ACD/I-Lab Prediction*

Engine yang dapat diakses secara gratis pada <https://ilab.acdlabs.com/iLab2/>; serta program analisis statistik *IBM® SPSS®* versi 20. Parameter sifat kimia fisika, yaitu hidrofobik ($\log P$, $ClogP$, dan tetapan substituen π Hansch-Fujita), elektronik (pK_a , E_{tot} , dan tetapan σ Hammett), dan sterik CMR, parameter sterik E_s Taft, dan M_w) merupakan variabel bebas. Variabel tergantung terdiri dari parameter aktivitas (parameter doking, yaitu *rerank score* dan RMSD), parameter toksisitas LD-50, dan parameter bioavailabilitas (F).

Pertama, dilakukan pencarian makromolekul yang akan digunakan sebagai reseptor pada proses doking. Kedua, dilakukan pembuatan struktur 2D dan 3D dari bromisoval, benzoiltiourea, dan keenam turunan benzoiltiourea. Struktur 2D digunakan untuk mencari data sifat kimia fisika, toksisitas, dan bioavailabilitas. Struktur 3D digunakan dalam proses doking. Struktur 3D diubah dalam bentuk yang paling stabil menggunakan *MMFF49 minimization* dan diinteraksikan dengan reseptor, kemudian akan diperoleh hasil *rerank score* dan RMSD yang merupakan parameter aktivitas. Hubungan struktur aktivitas dengan doking hanya berfokus pada keserasian ikatan antara obat dengan reseptor (lebih melibatkan sifat elektronik dan sterik), untuk melihat sifat lipofilisitas senyawa digunakan hukum Lima Lipinski. Terakhir, dilakukan studi HKSA untuk dilihat hubungan antara perubahan struktur, sifat kimia fisika dengan aktivitas, toksisitas, dan bioavailabilitas. Hubungan dilihat dengan menggunakan program statistik SPSS, yaitu dengan *correlation matrix*, regresi linier, dan regresi non linier.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Senyawa benzoiltiourea serta enam turunannya (4-metilbenzoiltiourea; 4-metoksibenzoiltiourea; 4-butilbenzoiltiourea; 4-*t*-butilbenzoiltiourea; 3-trifluorometilbenzoiltiourea; serta 4-trifluorometilbenzoiltiourea) ditambatkan pada reseptor $GABA_A$ kode 4COF, dengan pembanding bromisoval yang merupakan sedatif hipnotik turunan ureida asiklik. Bromisoval dipilih sebagai pembanding karena mempunyai gugus fungsi yang mirip dengan turunan benzoiltiourea.

Tabel 1 Parameter Doking Bromisoval, Benzoiltiourea, dan Enam Turunannya

RMSD = 0.487781

No.	Senyawa	Rerank Score
1.	Bromisoval	-62.1996
2.	Benzoiltiourea	-67.8118
3.	4-Metilbenzoiltiourea	-73.1906
4.	4-Metoksibenzoiltiourea	-76.2486
5.	4-Butilbenzoiltiourea	-80.4315
6.	4- <i>t</i> -Butilbenzoiltiourea	-83.0588
7.	3-Trifluorometilbenzoiltiourea	-82.1528
8.	4-Trifluorometilbenzoiltiourea	-80.8948

Hasil yang diperoleh adalah, keenam turunan benzoiltiourea yang diteliti memiliki nilai yang lebih rendah dibandingkan dengan bromisoval. *Rerank score* terendah dimiliki oleh 4-*t*-butilbenzoiltiourea (-83.0588) di mana semakin rendah *rerank score*, ikatan obat-reseptor semakin stabil. 4-*t*-Butilbenzoiltiourea diprediksi mempunyai aktivitas sedatif hipnotik yang paling besar di antara keenam turunan benzoiltiourea. *Rerank score* merupakan parameter yang sering digunakan untuk melihat kekuatan ikatan obat-reseptor karena lebih lengkap daripada *moldock score*. *Rerank score* merupakan kombinasi linier dari E-inter antara ligan dan protein dan E-intra dari ligan (Thomsen dan Christensen, 2006). Validasi metode dilihat dari nilai RMSD yang diperoleh saat menambatkan *reference ligand* pada reseptor. Nilai RMSD sebesar 0.487781 (RMSD < 2) menunjukkan bahwa metode ini memiliki nilai validitas yang tinggi.

Tabel 2 Parameter Toksisitas LD-50 Benzoiltiourea dan Enam Turunannya

No.	Senyawa	Parameter Toksisitas LD-50 (mg/kg)	
		Mouse (oral)	Rat (oral)
1.	Benzoiltiourea	450	140
2.	4-Metilbenzoiltiourea	780	140
3.	4-Metoksibenzoiltiourea	800	150
4.	4-Butilbenzoiltiourea	850	180
5.	4- <i>t</i> -Butilbenzoiltiourea	800	180
6.	3-Trifluorometilbenzoiltiourea	750	210
7.	4-Trifluorometilbenzoiltiourea	750	210

Parameter toksisitas LD-50 merupakan tes yang paling sering digunakan untuk mengetahui toksisitas akut (jangka pendek). Dari hasil ini, diprediksi bahwa 4-butilbenzoiltiourea memiliki toksisitas yang paling rendah dibandingkan dengan

turunan benzoiltiourea lainnya karena memerlukan dosis 850 m g/kg untuk menyebabkan 50% hewan coba (*mouse*) mati. Untuk hewan coba *rat*, 3-trifluorometilbenzoiltiourea dan 4-trifluorometilbenzoiltiourea memiliki toksisitas terendah karena diprediksi membutuhkan dosis 210 m g/kg untuk menyebabkan 50% hewan coba mati.

Tabel 3 Parameter Bioavailabilitas Benzoiltiourea dan Enam Turunannya

No.	Senyawa	Bioavailabilitas (F >70%) Oral
1.	Benzoiltiourea	0.924
2.	4-Metilbenzoiltiourea	0.924
3.	4-Metoksibenzoiltiourea	0.924
4.	4-Butilbenzoiltiourea	0.785
5.	4- <i>t</i> -Butilbenzoiltiourea	0.935
6.	3-Trifluorometilbenzoiltiourea	0.935
7.	4-Trifluorometilbenzoiltiourea	0.935

Bioavailabilitas adalah laju dan tingkat bahan aktif terabsorpsi dari produk obat dan menjadi tersedia di tempat kerja bahan tersebut (FDA, 2003). Bioavailabilitas turunan-turunan benzoiltiourea memiliki prediksi nilai yang kurang lebih sama, kecuali pada 4-butilbenzoiltiourea yang memiliki prediksi nilai bioavailabilitas terendah, yaitu 0.785. Hal ini menunjukkan bahwa turunan benzoiltiourea secara umum diprediksi memiliki bioavailabilitas yang baik.

Hubungan struktur aktivitas dengan doking hanya berfokus pada keserasian ikatan antara obat dengan reseptor (lebih melibatkan sifat elektronik dan sterik), sehingga untuk melihat sifat lipofilisitas dari senyawa memerlukan analisis lebih lanjut menggunakan hukum lima Lipinski. Enam turunan benzoiltiourea memenuhi semua persyaratan hukum lima Lipinski. Hal ini menunjukkan bahwa enam turunan benzoiltiourea diprediksi memiliki permeabilitas yang baik dan mudah diabsorpsi, sehingga jumlah senyawa yang berinteraksi dengan reseptor lebih banyak, sehingga aktivitasnya semakin besar.

Tabel 4 Sifat Kimia Fisika untuk Analisis Hukum Lima Lipinski

No.	Senyawa	BM	Log P	Ikatan H Donor	Ikatan H aseptor
Ketentuan		<500	<5	<5	<10
1.	Benzoiltiourea	180.23	1.12	3	3
2.	4-Metilbenzoiltiourea	194.25	1.61	3	3
3.	4-Metoksibenzoiltiourea	210.25	0.99	3	4
4.	4-Butilbenzoiltiourea	236.33	2.86	3	3

5.	4- <i>t</i> -Butilbenzoiltiourea	236.33	2.82	3	3
6.	3-Trifluorometilbenzoiltiourea	248.23	2.04	3	3
7.	4-Trifluorometilbenzoiltiourea	248.23	2.04	3	2

Keterangan:

BM : Bobot molekul (*molecular weight*/ M_w)

log P: Log koefisien partisi lemak/air

Tabel 5 Correlation Matrix

No.	Parameter Kimia Fisika	Korelasi	Rerank Score	LD-50 mouse oral	LD-50 rat oral	F > 70%
1.	log P	Pearson Correlation	-0.762*	0.547	0.588	-0.479
		Sig. (2 tailed)	0.046	0.204	0.165	0.276
2.	ClogP	Pearson Correlation	-0.578	0.348	0.437	-0.596
		Sig. (2 tailed)	0.175	0.444	0.327	0.158
3.	π	Pearson Correlation	-0.377	0.378	-0.019	-0.252
		Sig. (2 tailed)	0.404	0.403	0.967	0.586
4.	pKa	Pearson Correlation	0.407	-0.144	-0.617	-0.361
		Sig. (2 tailed)	0.365	0.758	0.140	0.426
5.	E _{tot}	Pearson Correlation	-0.708	0.214	0.873*	0.451
		Sig. (2 tailed)	0.075	0.645	0.010	0.309
6.	σ	Pearson Correlation	-0.301	-0.165	0.759*	0.309
		Sig. (2 tailed)	0.511	0.723	0.048	0.499
7.	CMR	Pearson Correlation	-0.658	0.660	0.264	-0.577
		Sig. (2 tailed)	0.108	0.107	0.567	0.175
8.	E _s	Pearson Correlation	0.951**	-0.667	-0.816*	-0.101
		Sig. (2 tailed)	0.001	0.102	0.025	0.830
9.	M _w	Pearson Correlation	-0.958**	0.614	0.949**	-0.141
		Sig. (2 tailed)	0.001	0.143	0.001	0.764

Keterangan:

log P : Log koefisien partisi lemak/air

ClogP : Calculated log P

π : Tetapan lipofilik Hansch Fujita

pKa : Tetapan ionisasi

E_{tot} : Energi total

σ : Tetapan elektronik Hammet

CMR : Calculated molecular refraction

E_s : Tetapan sterik Taft

M_w : Molecular weight

LD-50 : Lethal Dose 50

F>70% : Bioavailabilitas 70%

* : signifikan p < 0.05

** : signifikan p < 0.01

Hubungan antara *rerank score* dengan E_s menunjukkan signifikansi dua bintang dan searah dengan nilai 0.951, serta memiliki signifikansi p < 0.01. Hubungan antara *rerank score* dengan M_w menunjukkan signifikansi bintang dua dengan nilai -0.958, sehingga memiliki hubungan yang sangat kuat dan berlawanan arah dengan *rerank score*, serta memiliki signifikansi p < 0.01. Terdapat empat parameter sifat kimia fisika yang memiliki hubungan yang bermakna dengan parameter toksisitas LD-50 pada *rat* secara oral, yaitu E_{tot}, σ , E_s, dan M_w. Parameter elektronik E_{tot} dan σ , memiliki korelasi yang sangat kuat dan searah dengan LD-50 pada *rat* secara oral. Nilai korelasi E_{tot} sebesar 0.873 dengan signifikansi p < 0.05. Nilai korelasi σ sebesar 0.759 dengan signifikansi p

< 0.05. Parameter sterik E_s memiliki nilai korelasi yang sangat kuat dan negatif (berlawanan arah) dengan LD-50 pada *rat* secara oral, dengan nilai korelasi -0.816 dan signifikansi $p < 0.05$. Sedangkan, untuk M_w , korelasinya dengan LD-50 juga sangat kuat dan searah bernilai 0.949, dengan signifikansi $p < 0.01$.

Tabel 6 Hasil Analisis Regresi antara Sifat Kimia Fisika dengan *Rerank Score*

No.	Variabel Bebas	n	R	SE	F	Sig.	Persamaan
1.	Log P, Log P ²	7	0.779	4.27996	3.089	0.154	$y = 2.198x^2 - 14.278x - 59.383$
2.	ClogP, Clog P ²	7	0.578	5.57341	1.001	0.444	$y = 0.021x^2 - 4.290x - 71.239$
3.	π, π^2	7	0.485	5.96944	0.616	0.585	$y = -3.310x^2 + 9.980x - 83.287$
4.	pKa	7	0.407	5.57731	0.993	0.365	$y = 14.421x - 198.612$
5.	Etot	7	0.708	4.31145	5.029	0.075	$y = -0.332x - 87.596$
6.	σ	7	0.301	5.82213	0.500	0.511	$y = -5.146x - 77.559$
7.	CMR	7	0.658	4.59615	3.825	0.108	$y = -5.045x - 46.852$
8.	E_s	7	0.951	1.87929	47.787	0.001	$y = 5.503x - 75.412$

Hasil analisis regresi antara *rerank score* dengan parameter sifat kimia fisika memberikan hasil yang signifikan, yaitu parameter sterik E_s dan M_w , sehingga dapat dikatakan bahwa ada hubungan bermakna antara sifat sterik terhadap aktivitas (*rerank score*). Pengaruh sifat sterik keseluruhan senyawa yang digambarkan dengan M_w terhadap aktivitas (*rerank score*) dinyatakan melalui persamaan berikut:

$$\text{Rerank score} = -0.196 M_w - 34.097$$

$$(n = 7; R = 0.958; SE = 1.74660; F = 56.112; Sig. = 0.001)$$

Pengaruh sifat sterik gugus yang digambarkan dengan E_s terhadap aktivitas (*rerank score*) dinyatakan melalui persamaan berikut:

$$\text{Rerank score} = 5.503 E_s - 75.412$$

$$(n = 7; R = 0.951; SE = 1.87929; F = 47.787; Sig. = 0.001)$$

Tabel 7 Hasil Regresi LD-50 (*Rat*) Oral dengan Parameter Kimia Fisika

No.	Variabel Bebas	n	R	SE	F	Sig.	Persamaan
1.	Log P, log P ²	7	0.755	24.40428	2.653	0.185	$y = -35.032x^2 + 160.616x + 10.097$
2.	ClogP, ClogP ²	7	0.595	29.92996	1.094	0.418	$y = -24.636x^2 + 98.381x + 92.613$
3.	π, π^2	7	0.316	35.32204	0.221	0.811	$y = 18.649x^2 - 71.368x + 226.915$
4.	pKa	7	0.617	26.19454	3.078	0.140	$y = -119.231x + 1172.692$
5.	Etot	7	0.873	16.23862	16.020	0.010	$y = 2.231x + 239.489$
6.	σ	7	0.759	21.66771	6.806	0.048	$y = 70.673x + 171.141$
7.	CMR	7	0.264	32.11058	0.376	0.567	$y = 11.046x + 105.348$
8.	E_s	7	0.816	19.24208	9.970	0.025	$y = -25.735x + 162.232$

9.	M _w	7	0.949	10.52983	44.991	0.001	y = 1.060x - 62.444
----	----------------	---	-------	----------	--------	-------	---------------------

Hasil analisis regresi dengan parameter toksisitas LD-50 pada *rat*, hasil signifikan diperoleh dari analisis regresi parameter elektronik Etot dan σ , serta parameter sterik Es dan Mw. Pengaruh sifat elektronik keseluruhan senyawa yang digambarkan dengan Etot terhadap LD-50 (*rat*) oral dinyatakan melalui persamaan berikut:

$$\text{LD-50 (rat) oral} = 2.231 \text{ Etot} + 239.489$$

$$(n = 7; R = 0.873; SE = 16.23862; F = 16.020; \text{Sig.} = 0.010)$$

Pengaruh sifat elektronik gugus yang digambarkan dengan σ terhadap LD-50 (*rat*) oral adalah sebagai berikut:

$$\text{LD-50 (rat) oral} = 70.673 \sigma + 171.141$$

$$(n = 7; R = 0.759; SE = 21.66771; F = 6.806; \text{Sig.} = 0.048)$$

Pengaruh sifat sterik keseluruhan senyawa yang digambarkan dengan M_w terhadap LD-50 (*rat*) oral dinyatakan melalui persamaan berikut:

$$\text{LD-50 (rat) oral} = 1.060 M_w - 62.444$$

$$(n = 7; R = 0.949; SE = 10.52983; F = 44.991; \text{Sig.} = 0.001)$$

Pengaruh sifat sterik gugus yang digambarkan dengan E_s terhadap LD-50 (*rat*) oral adalah sebagai berikut:

$$\text{LD-50 (rat) oral} = -25.735 E_s + 162.232$$

$$(n = 7; R = 0.816; SE = 19.24208; F = 9.970; \text{Sig.} = 0.025)$$

Tabel 8 Hasil Analisis Regresi antara Sifat Kimia Fisika dengan LD-50 (*Mouse*) Oral

No.	Variabel Bebas	n	R	SE	F	Sig.	Persamaan
1.	Log P, log P ²	7	0.547	135.72001	0.856	0.491	y = -3.005x ² - 109.097x - 542.483
2.	ClogP, ClogP ²	7	0.536	136.93491	0.805	0.508	y = 108.350x ² - 295.589x + 885.076
3.	π, π^2	7	0.404	148.36178	0.390	0.700	y = -36.397x ² + 198.806x + 546.069
4.	pKa	7	0.144	143.54040	0.106	0.758	y = -121.154x + 1755.962
5.	Etot	7	0.214	141.69588	0.240	0.645	y = 2.380x + 811.111
6.	σ	7	0.165	143.05477	0.141	0.723	y = -67.055x + 741.628
7.	CMR	7	0.660	109.03312	3.849	0.107	y = 120.053x + 6.303
8.	E _s	7	0.667	108.04621	4.011	0.102	y = -91.662x + 702.157
9.	M _w	7	0.614	114.54379	3.018	0.143	y = 2.987x + 77.051

Tabel 9 Hasil Analisis Regresi antara Sifat Kimia Fisika dengan Bioavailabilitas

No.	Variabel Bebas	n	R	SE	F	Sig.	Persamaan
1.	Log P, log P ²	7	0.634	0.05197	1.347	0.357	y = -0.055x ² + 0.181x + 0.792

2.	ClogP, ClogP ²	7	0.770	0.04288	2.917	0.165	$y = -0.054x^2 + 0.134x + 0.856$
3.	π, π^2	7	0.717	0.04686	2.116	0.236	$y = 0.072x^2 - 0.289x + 1.138$
4.	pKa	7	0.361	0.05607	0.750	0.426	$y = -0.126x + 1.965$
5.	Etot	7	0.451	0.05366	1.280	0.309	$y = 0.002x + 0.971$
6.	σ	7	0.309	0.05718	0.530	0.499	$y = 0.052x + 0.908$
7.	CMR	7	0.577	0.04911	2.495	0.175	$y = -0.044x + 1.175$
8.	E _s	7	0.101	0.05982	0.051	0.830	$y = -0.006x + 0.906$
9.	M _w	7	0.141	0.05953	0.101	0.764	$y = 0.000x + 0.972$

Untuk parameter toksisitas LD-50 pada *mouse* secara oral dan parameter bioavailabilitas, tidak ada parameter kimia fisika yang memiliki hubungan bermakna dengan kedua parameter tersebut. Dari persamaan sifat kimia fisika yang dihasilkan, sifat lipofilik kurang berpengaruh daripada sifat elektronik dan sterik terhadap aktivitas, toksisitas, dan bioavailabilitas berdasarkan hasil regresi menggunakan program IBM[®] SPSS[®] 20.

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, maka dapat disimpulkan bahwa ada hubungan linier antara perubahan struktur, sifat fisika kimia (sterik) enam turunan benzoiltiourea terhadap prediksi aktivitas (*rerank score*) secara *in silico* sebagai calon obat sedatif hipnotik yang dinyatakan melalui persamaan berikut:

$$\text{Rerank score} = 5.503 E_s - 75.412$$

(n = 7; R = 0.951; SE = 1.87929; F = 47.787; Sig. = 0.001) dan

$$\text{Rerank score} = -0.196 M_w - 34.097$$

(n = 7; R = 0.958; SE = 1.74660; F = 56.112; Sig. = 0.001);

ada hubungan linier antara perubahan struktur, sifat fisika kimia (elektronik dan sterik) enam turunan benzoiltiourea terhadap prediksi toksisitas (LD-50 *rat* oral) secara *in silico* sebagai calon obat sedatif hipnotik yang dinyatakan melalui persamaan berikut:

$$\text{LD-50 (rat) oral} = 2.231 \text{ Etot} + 239.489$$

(n = 7; R = 0.873; SE = 16.23862; F = 16.020; Sig. = 0.010) dan

$$\text{LD-50 (rat) oral} = 70.673 \sigma + 171.141$$

(n = 7; R = 0.759; SE = 21.66771; F = 6.806; Sig. = 0.048)

$$\text{LD-50 (rat) oral} = -25.735 E_s + 162.232$$

(n = 7; R = 0.816; SE = 19.24208; F = 9.970; Sig. = 0.025) dan

$$\text{LD-50 (rat) oral} = 1.060 M_w - 62.444$$

($n = 7$; $R = 0.949$; $SE = 10.52983$; $F = 44.991$; $\text{Sig.} = 0.001$); dan

tidak ada hubungan linier maupun nonlinier antara perubahan struktur, sifat fisika kimia (lipofilik, elektronik, dan sterik) enam turunan benzoiltiourea terhadap prediksi bioavailabilitas dan prediksi toksisitas (LD-50 *mouse* oral) secara *in silico* sebagai calon obat sedatif hipnotik.

Saran yang dapat diberikan adalah perlu dilakukan penelitian lebih lanjut berupa sintesis senyawa yang kemudian dilanjutkan dengan uji aktivitas sebagai sedatif hipnotik pada hewan coba, terhadap turunan benzoiltiourea yang memberikan hasil *rerank score* terbaik, toksisitas relatif rendah, dan bioavailabilitas yang tinggi, yaitu 4-*t*-butilbenzoiltiourea. Dapat juga dilakukan optimasi senyawa 4-*t*-butilbenzoiltiourea melalui peningkatan sifat sterik untuk memperoleh calon obat sedatif hipnotik dengan aktivitas yang lebih baik.

DAFTAR PUSTAKA

- FDA, 2003, *Guidance for Industry: Bioavailability and Bioequivalence Studies for Orally Administered Drug Product-General Considerations*, Center for Drug Evaluation and Research, Rockville.
- Halperin I, Ma B, Wolfson H, Nussinov R, 2002, *Principles of Docking: An Overview of Search Algorithms and A Guide to Scoring Function*, *PROTEINS:Structure, Function, and Genetics*, 47, 409-443.
- Kesuma D, 2005, *Sintesis Senyawa Turunan Klorobenzoiltiourea dan Uji Aktivitas Penekan Sistem Syaraf Pusat pada Mencit (Mus musculus)*, Program Pascasarjana Universitas Airlangga, Surabaya.
- Paramveer D, Chancal M, Parish M, Rani A, Shrivastava B, 2010, *Effective Alternative Methods of LD50 Help to Save Number of Experimental Animals*, *J. Chem. Pharm. Res.*, 2 (6), 450-453.
- phRMA, 2013, *Biopharmaceutical Research and Manufacturers of America*, Pharmaceutical Research and Manufacturers of America, Washington DC.
- Roth T, 2007, *Insomnia: Definition, Prevalence, Etiology, and Consequences*, *Journal of Clinical Sleep Medicine: Supplement to Volume 3 No. 5*.
- Siswandono, 1998, *Modifikasi Struktur dan Hubungan Struktur-Aktivitas Senyawa-Senyawa Baru Turunan Benzoiurea*, Disertasi Doktor, Universitas Airlangga, Surabaya.
- Siswandono, 2014, *Pengembangan Obat Baru*, Airlangga University Press, Surabaya.
- Siswandono, Diyah NW, 2011, *Molecular Modeling and QSAR of N-(Benzoyl)urea Derivates as CNS Depressants*, Universitas Airlangga Surabaya.
- Stranges S, Tigbe W, Gomez-Olive FX, Thorogood M, Kandala NB, 2012, *Sleep Problems: an Emerging Global Epidemic? Findings From the INDEPTH WHO-SAGE Study Among More Than 40,000 Older Adults From 8 Countries Across Africa and Asia*, *SLEEP*, 35(8), 1174-1181.
- Thielmann Y, Christensen MH, 2006, *MolDock: a New Technique for High-Accuracy Molecular Docking*, *Journal of Medicinal Chemistry*, 49(11), 3315-3321.
- Thomsen R, Weiergraber OH, Mohrluder J, Willbold D, 2009, *Structural Framework of The GABARAP-Calreticulin Interface: Implications for Substrate Binding to Endoplasmic Reticulum Chaperones*, *FEBS Journal*, 276(2009), 1140-1152.
- Yanuar A, 2012, *Penambatan Molekular: Praktek pada Aplikasi pada Virtual Screening*, Fakultas Farmasi Universitas Indonesia, Depok.
- Zukhrullah M, Aswad M, Subehan, 2012, *Kajian Beberapa Senyawa Antiinflamasi: Docking terhadap Siklooksigenase-2 secara In Silico*, *Majalah Farmasi dan Farmakologi*, 16(1), 37-44.