

QUANTITATIVE RELATIONSHIP OF ELECTRONIC STRUCTURE AND INHIBITION ACTIVITY OF CURCUMIN ANALOGS ON ETHOXYRESORUFIN o-DEALKYLATION (EROD) REACTION

Hubungan Kuantitatif Struktur Elektronik dan Aktivitas Inhibisi Senyawa Kurkumin pada Reaksi Etoksiresorufin O-Dealkilasi (EROD)

Harno Dwi Pranowo*, Iqmal Tahir and Ajidarma Widiatmoko

Austrian-Indonesian Centre for Computational Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences
Gadjah Mada University, Sekip Utara, Yogyakarta, Indonesia 55281

Received 24 November 2006; Accepted 17 December 2006

ABSTRACT

Electronic structure and inhibition activity relationship study of curcumin analogs has been established for 29 curcumin analogs on Ethoxyresorufin O-Dealkylation (EROD) reaction using atomic net charge descriptor based on AM1 semiempirical calculations. The QSAR (Quantitative Structure and Activities Relationships) equation model was determined by statistical parameter from multiple regression analysis and leave-one-out cross validation method. The best QSAR equation was described:

$$\begin{aligned} \log 1/IC_{50} = & (36.726 \pm 9.028) + (92.368 \pm 27.591)qC_4 + (260.114 \pm 46.029)qC_7 \\ & + (45.406 \pm 9.994)qC_{10} - (9.287 \pm 4.034)qC_{16} - (8.344 \pm 3.685)qC_{17} \\ & - (16.993 \pm 3.457)qC_{18} - (237.490 \pm 46.644)qO_1 + (293.293 \pm 48.749)qO_2 \end{aligned}$$

Keywords: curcumin, QSAR, descriptor, atomic net charge, semiempirical methods.

PENDAHULUAN

Kurkumin merupakan komponen utama penyusun warna kuning yang terdapat di dalam *Curcuma longa L.* Berbagai penelitian melaporkan bahwa kurkumin mempunyai banyak aktivitas biologis, antara lain sebagai antiinflamasi dan antioksidan [1,2]. Senyawa kurkumin dan 28 turunannya telah disintesis oleh Oetari [3] dengan memvariasi substituen pada kedua cincin aromatis dan pada atom C₄ rantai heptadien. Turunan kurkumin tersebut mempunyai aktivitas biologis sebagai penghambat kerja sitokrom P450 pada reaksi *Ethoxyresorufin o-Dealkylation* (EROD). Hasil penelitian tersebut memperlihatkan bahwa kurkumin sangat berpotensi untuk diteliti sebagai obat antikanker.

Tujuan utama desain suatu obat dalam ilmu kimia medisinal adalah dapat menemukan suatu molekul yang akan menghasilkan efek biologis yang bermanfaat tanpa memberikan efek biologis yang merugikan [4]. Salah satu metode analisis yang sering digunakan dalam merancang obat adalah kajian Hubungan Kuantitatif Struktur-Aktivitas (HKSA) atau *Quantitative Structure-Activity Relationship* (QSAR). Struktur obat, reseptor dan interaksi antar keduanya dianalisis sedemikian rupa sehingga dapat ditentukan suatu molekul obat yang secara teoritis telah diketahui memiliki aktivitas yang baik sehingga dapat direkomendasikan untuk disintesis. Berdasarkan parameter yang digunakan kajian QSAR digolongkan menjadi 3 metode yaitu : analisis Hansch,

analisis Free-Wilson dan QSAR trimatra atau CoMFA. Penelitian ini menggunakan metode analisis Hansch yang mengasumsikan aktivitas biologis senyawa sebagai fungsi dari sifat-sifat lipofilik/hidrofobik (*P*), elektronik (σ) dan parameter sterik (*E_s*) [5].

Kimia komputasi sebagai cabang ilmu kimia yang mendasarkan pada perhitungan kimia kuantum pada masa kini berperan sangat besar dalam hal desain molekul senyawa obat [6]. Aktivitas biologis suatu senyawa yang dapat berupa dosis mematikan (LD₅₀), dosis efektif (ED₅₀) atau konsentrasi penghambatan (IC₅₀) yang diperoleh dari penelitian eksperimental dikorelasikan dengan sifat fisikokimia senyawa yang diturunkan dari perhitungan kimia kuantum [7]. Metode kimia kuantum yang banyak digunakan untuk menghitung sifat fisikokimia senyawa organik adalah metode semiempiris AM1 dan PM3. Berbagai penelitian melaporkan bahwa sifat fisikokimia yang diturunkan dari perhitungan kimia kuantum memberikan hasil yang baik dalam kajian QSAR [8-10]. Deskriptor kimia kuantum yang banyak digunakan dalam studi QSAR adalah muatan bersih atom [7-17].

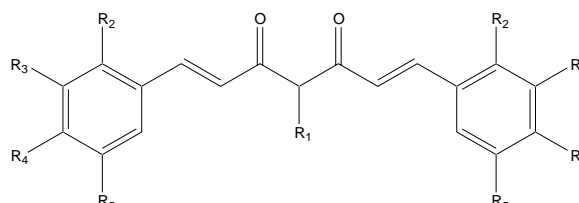
Metode-metode statistik yang banyak berkembang dalam analisis QSAR antara lain : analisis diskriminan, metode kuadrat terkecil teradaptasi, analisis komponen utama dan analisis kuadrat terkecil. Salah satu metode statistik yang paling sering dipergunakan untuk memperoleh model persamaan QSAR adalah metode analisis regresi multilinear. Data

* Corresponding author.
Email address : harnodp@ugm.ac.id

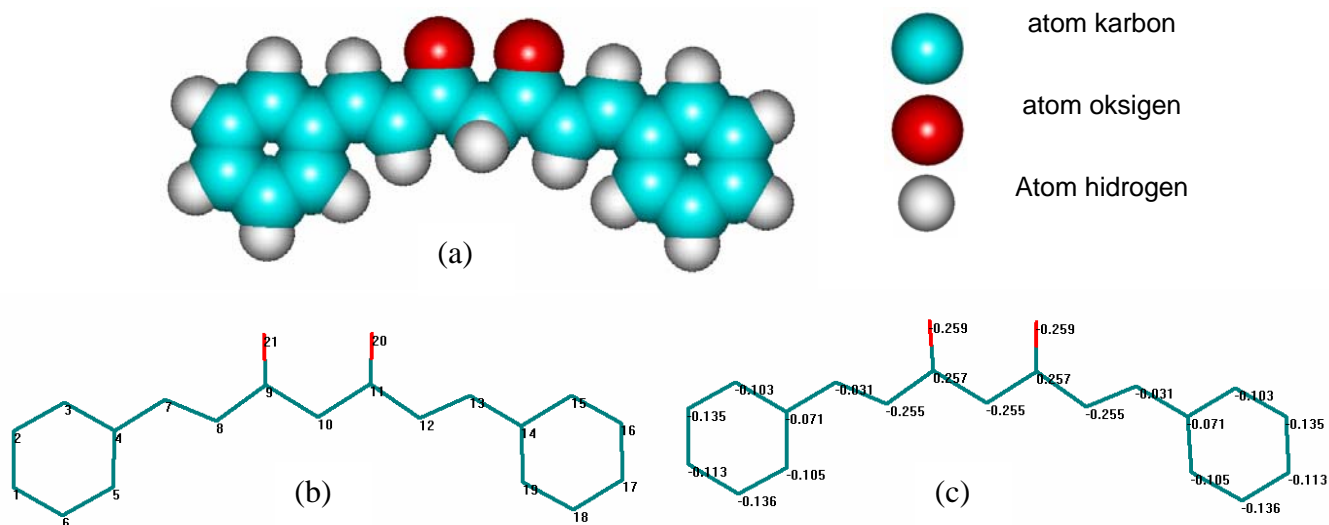
aktivitas biologis ditetapkan sebagai variabel terikat dan sifat fisikokimia senyawa ditetapkan sebagai variabel bebas. Hasil analisis berupa beberapa model persamaan linear yang dilengkapi dengan parameter-parameter statistik seperti koefisien korelasi (r), kriteria Fisher (F), standar error (SE) dan lain-lain. Model persamaan yang dihasilkan tersebut kemudian diuji validitasnya dengan menggunakan metode validasi silang untuk mendapatkan model persamaan QSAR terbaik serta prediksi harga aktivitas biologisnya. Metode validasi silang (*cross validation*) adalah metode untuk menguji validitas model regresi dengan menggunakan data uji di luar data yang digunakan dalam *fitting* regresi (*resampling*).

Pada penelitian ini metode semiempiris AM1 dipergunakan untuk mendapatkan sifat-sifat elektronik muatan bersih atom (q) yang akan dikorelasikan dengan

Tabel 1. Senyawa turunan kurkumin dan aktivitas penghambatan EROD ($\log 1/IC_{50}$) di dalam mikrosomal hati tikus [3]



No	Senyawa	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	EROD, $\log (1/IC_{50})$
1	Cur1	H	H	H	H	H	0,69897
2	Cur2	H	H	H	OH	H	-0,39794
3	Cur3	H	H	OCH ₃	OH	H	-0,30103
4	Cur4	H	H	OCH ₃	H	H	1,69897
5	Cur5	H	H	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	-1,32015
6	Cur6	H	H	CH ₃	OH	CH ₃	-0,54407
7	Cur7	H	H	C ₂ H ₅	OH	C ₂ H ₅	-0,88649
8	Cur8	H	H	i-C ₃ H ₇	OH	i-C ₃ H ₇	-2,22427
9	Cur9	H	H	t-C ₄ H ₉	OH	t-C ₄ H ₉	-3,41896
10	Cur10	H	H	H	Cl	H	-0,97772
11	Cur11	H	H	H	OCH ₃	H	-0,44716
12	Cur12	H	H	H	CH ₃	H	-0,75587
13	Cur13	H	H	OCH ₃	OCH ₃	H	-1,36922
14	Cur14	H	H	OCH ₃	OH	OCH ₃	-1,12710
15	Cur15	H	H	OC ₆ H ₅	H	OC ₆ H ₅	-2,67293
16	Cur16	H	OCH ₃	H	H	H	2,52288
17	Par1	C ₆ H ₅	H	H	OH	OCH ₃	0,46600
18	Par2	m-C ₆ H ₄ CF ₃	H	H	OH	OCH ₃	1,00800
19	Par3	p-C ₆ H ₄ OCH ₃	H	H	OH	OCH ₃	0,63100
20	Par4	p-C ₆ H ₄ CH ₃	H	H	OH	OCH ₃	0,38400
21	Par5	p-C ₆ H ₄ Cl	H	H	OH	OCH ₃	1,78000
22	Par6	p-C ₆ H ₄ F	H	H	OH	OCH ₃	1,03600
23	Par7	m,p-C ₆ H ₄ (NO ₂) ₂	H	H	OH	OCH ₃	-0,62500
24	Pal1	CH ₃	H	H	OH	OCH ₃	-0,16400
25	Pal2	C ₂ H ₅	H	H	OH	OCH ₃	-0,46000
26	Pal3	n-C ₃ H ₇	H	H	OH	OCH ₃	0,50800
27	Pal4	i-C ₃ H ₇	H	H	OH	OCH ₃	-0,58400
28	Pal5	n-C ₄ H ₉	H	H	OH	OCH ₃	-0,30500
29	Pal6	CH ₂ C ₆ H ₅	H	H	OH	OCH ₃	2,09700



Gambar 1. Struktur senyawa CUR1 hasil optimasi dengan metode AM1 (a) digambarkan dengan *overlapping spheres* (b) sistem penomoran atom (c) muatan atom bersih atom

Deskriptor muatan bersih atom (g) diperoleh dengan menggunakan paket program HyperChem 6.0. Perhitungan statistik menggunakan program SPSS 10.0 dan Microsoft Excel 2000. Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan perangkat keras komputer Pentium-4, 1,5 GHz dengan RAM 128 MB.

Prosedur Kerja

Masing-masing senyawa yang terdapat dalam Tabel 1 digambarkan struktur 2 dimensinya menggunakan program HyperChem untuk kemudian diubah menjadi struktur 3 dimensi dengan menggunakan menu *build*. Optimasi geometri pada struktur molekul senyawa kurkumin dilakukan dengan menggunakan metode semiempiris AM1 untuk mendapatkan struktur molekul dengan *Potential Energy Surfaces (PES)* minimum sehingga didapatkan molekul dengan struktur yang baik (*well defined structure*). Optimasi geometri dilakukan terhadap struktur 3 dimensi senyawa turunan kurkumin tersebut dengan menggunakan algoritma Polak-Ribiere dan batas gradien RMS (root mean square) 0,01 kkal/mol.Å. Untuk mendapatkan nilai muatan bersih atom, dilakukan perhitungan *single point* terhadap struktur yang telah dioptimasi.

Deskriptor muatan bersih atom yang diperoleh kemudian dikorelasikan dengan aktivitas penghambatan *EROD* dengan menggunakan analisis regresi multilinear. Model persamaan dipilih berdasarkan parameter-parameter statistik r , r^2 , F dan F/F_{tabel} . Model persamaan QSAR yang diperoleh kemudian diuji validitasnya untuk mendapatkan model persamaan yang terbaik dengan menggunakan metode validasi silang *leave-one-out*. Model persamaan terbaik dipilih berdasarkan nilai parameter *Predicted Residual Sum of Squares (PRESS)* yang terkecil. Model persamaan QSAR terbaik tersebut akan digunakan untuk memprediksi harga aktivitas

penghambatan *EROD* teoritis untuk setiap senyawa analog kurkumin.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada Gambar 1 diperlihatkan struktur senyawa induk (CUR1) yang dilengkapi dengan penomoran pada atom-atom rangkanya. Atom karbon yang terdapat pada persamaan QSAR mengacu pada sistem penomoran tersebut.

Senyawa kurkumin dimodelkan dalam bentuk diketon, dan ikatan rangkap yang terdapat pada rantai utama memiliki konformasi *E* secara stereokimia [18]. Hasil perhitungan metode AM1 untuk senyawa CUR3 menunjukkan konfigurasi *E* mempunyai harga panas pembentukan (ΔH_f) yaitu sebesar $-146,16$ kkal/mol dan energi total sistem sebesar $-112.636,69$ kkal/mol yang lebih kecil dari panas pembentukan dan energi total sistem konfigurasi *Z* masing-masing sebesar $-109,17$ kkal/mol dan $-112.599,70$ kkal/mol. Data perhitungan ini memberi pengertian bahwa bentuk konfigurasi *E* lebih stabil dari bentuk *Z*. Pemodelan ini sesuai dengan data eksperimental tentang struktur senyawa analog kurkumin. Gambar 1(a) menunjukkan bahwa semua atom karbon dan kedua gugus karbonil terletak dalam satu bidang, sehingga memungkinkan terjadinya sistem delokalisasi elektron yang memadai dalam menstabilkan struktur.

Gambar 1(c) menunjukkan muatan bersih atom sebagai luaran hasil perhitungan optimasi struktur senyawa turunan kurkumin yang digunakan sebagai deskriptor teoritik dalam analisis QSAR. Analisis regresi multilinear dilakukan terhadap 29 senyawa analog kurkumin yang melibatkan muatan bersih atom

Tabel 2. Model persamaan terpilih hasil analisis regresi multilinear menggunakan deskriptor muatan bersih atom hasil perhitungan metode AM1

Model	Deskriptor	n	m	r	r ²	SE	F	F _{tabel}	F/F _{tabel}
1	qC ₂ , qC ₃ , qC ₄ , qC ₇ , qC ₉ , qC ₁₀ , qC ₁₄ , qC ₁₅ , qC ₁₆ , qC ₁₇ , qC ₁₈ , qO ₁ , qO ₂	29	13	0,929	0,863	0,710	7,359	2,45	3,0036
2	qC ₂ , qC ₄ , qC ₇ , qC ₉ , qC ₁₀ , qC ₁₄ , qC ₁₅ , qC ₁₆ , qC ₁₇ , qC ₁₈ , qO ₁ , qO ₂	29	12	0,924	0,854	0,677	7,801	2,42	3,2235
3	qC ₂ , qC ₄ , qC ₇ , qC ₉ , qC ₁₀ , qC ₁₅ , qC ₁₆ , qC ₁₇ , qC ₁₈ , qO ₁ , qO ₂	29	11	0,922	0,850	0,689	8,087	2,41	3,3556
4	qC ₄ , qC ₇ , qC ₉ , qC ₁₀ , qC ₁₅ , qC ₁₆ , qC ₁₇ , qC ₁₈ , qO ₁ , qO ₂	29	10	0,919	0,845	0,684	9,243	2,41	3,8353
5	qC ₄ , qC ₇ , qC ₉ , qC ₁₀ , qC ₁₆ , qC ₁₇ , qC ₁₈ , qO ₁ , qO ₂	29	9	0,918	0,843	0,655	11,333	2,43	4,6638
6	qC ₄ , qC ₇ , qC ₁₀ , qC ₁₆ , qC ₁₇ , qC ₁₈ , qO ₁ , qO ₂	29	8	0,915	0,837	0,651	12,880	2,45	5,2563

n = jumlah data; m = jumlah variabel yang masuk dalam persamaan; r = koefisien korelasi; r² = koefisien determinasi; SE = standar error; F = kriteria Fisher hasil ANOVA

Tabel 3. Parameter statistik hasil validasi silang model persamaan QSAR deskriptor muatan bersih atom metode AM1

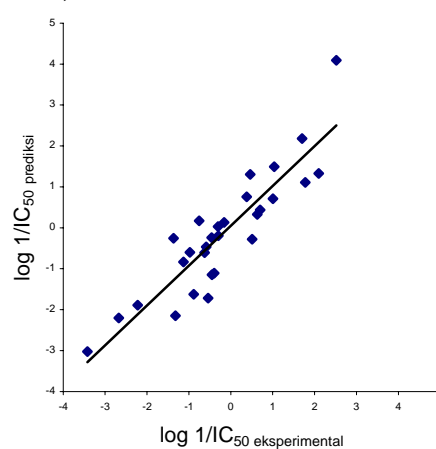
Model Persamaan	PRESS	r ² _{CV}
1	42,655	0,580
2	23,297	0,660
3	19,140	0,724
4	20,241	0,750
5	12,636	0,783
6	12,343	0,801

PRESS = jumlah simpangan kuadrat prediksi ;
r²_{CV} = fraksi varian yang dapat dijelaskan terhadap total varia

(q) yang terdapat pada struktur rangka senyawa analog kurkumin yang terdiri dari 19 muatan bersih atom C (qC₁ – qC₁₉) dan 2 muatan bersih atom O (qO₁ dan qO₂). Deskriptor ini dikorelasikan dengan aktivitas biologis senyawa analog kurkumin yang dinyatakan sebagai konsentrasi yang memberikan 50% penghambatan terhadap reaksi *EROD* (*EROD* IC₅₀). Hasil analisis regresi multilinear disajikan dalam Tabel 2. Model terpilih sebanyak 6 persamaan yang melibatkan kombinasi 8–13 deskriptor.

Berdasarkan nilai parameter statistiknya model 6 diperkirakan merupakan model persamaan terbaik, akan tetapi karena model-model persamaan lainnya juga mempunyai nilai parameter statistik yang berdekatan maka model-model tersebut juga memiliki peluang untuk diputuskan sebagai model terbaik. Uji validitas model dalam kemampuannya memprediksi aktivitas penghambatan senyawa lain di luar data *fitting* regresi dilakukan untuk mendapatkan model persamaan QSAR terbaik dengan menggunakan metode validasi silang *leave-one-out*. Hasil perhitungan metode validasi silang *leave-one-out* disajikan dalam Tabel 3.

Berdasarkan nilai parameter statistik hasil uji validasi silang model 6 merupakan model persamaan QSAR terbaik. Tabel 3 menunjukkan bahwa nilai *PRESS* pada model persamaan terbaik mempunyai nilai yang jauh lebih kecil dari pada model persamaan yang lain,

**Gambar 2.** Log 1/IC₅₀eksperimental vs log 1/IC₅₀prediksi hasil validasi silang deskriptor elektronik

demikian juga dengan nilai r²_{CV} yang ternyata paling tinggi. Berdasarkan parameter tersebut di atas dapat dikatakan bahwa persamaan 6 merupakan persamaan QSAR terbaik untuk deskriptor muatan bersih atom yang dihitung dengan menggunakan metode AM1. Model persamaan QSAR terbaik yang diperoleh kemudian dipergunakan untuk menghitung harga aktivitas penghambatan *EROD* prediksi.

Model persamaan QSAR terbaik deskriptor muatan bersih atom secara lengkap dapat dituliskan sebagai berikut :

$$\begin{aligned} \log 1/IC_{50} = & (36,726 \pm 9,028) + (92,368 \pm 27,591)qC_4 + \\ & (260,114 \pm 46,029)qC_7 + (45,406 \pm 9,994)qC_{10} \\ & - (9,287 \pm 4,034)qC_{16} - (8,344 \pm 3,685)qC_{17} - \\ & (16,993 \pm 3,457)qC_{18} - (237,490 \pm 46,644)qO_1 + \\ & (293,293 \pm 48,749)qO_2 \end{aligned} \quad (1)$$

Plot aktivitas penghambatan *EROD* eksperimental terhadap prediksi hasil metode validasi silang model persamaan QSAR terbaik disajikan pada Gambar 2. Nilai tangen arah dan intersep masing-masing adalah 0,972 dan 0,0442. Pada Gambar 2 terlihat adanya nilai aktivitas prediksi yang jauh di atas

garis *fitting* regresi. Nilai tersebut adalah nilai aktivitas prediksi dari senyawa CUR1 yang memiliki substituen $-OCH_3$ pada posisi R_2 .

Persamaan QSAR terbaik tersebut dapat digunakan untuk mendesain senyawa baru dengan melakukan variasi substituen pada senyawa turunan kurkumin sedemikian hingga didapatkan struktur molekul yang mempunyai aktivitas biologis yang baik. Variasi substituen dilakukan dengan memperhatikan atom-atom yang terlibat dalam persamaan QSAR terbaik, yaitu C_4 , C_7 , C_{10} , C_{16-18} , O_1 dan O_2 .

KESIMPULAN

Muatan bersih atom senyawa analog kurkumin yang diperoleh dari perhitungan kimia kuantum semiempiris dapat digunakan sebagai deskriptor dalam analisis QSAR. Model persamaan QSAR terbaik deskriptor muatan bersih atom mengikuti persamaan (1).

DAFTAR PUSTAKA

- Sardjiman, 2000, *Synthesis of Some Series of Curcumin Analogs, Antioxidative, Antiinflammatory, Antibacterial Activities and Qualitative Structure-Activity Relationships*, Dissertasi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta
- Sharma, O. P., 1976, *Biochem. Pharmacol.*, 25, 1811 – 1812
- Oetari, R. A., 1997, *Interaction Between Curcumin and Curcumin Analogues and Cytochrome P450: Molecular and Structure-Activity Relationships Studies*, Dissertasi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Purcell, W. P., 1974, Quantitative Structure-Activity Relationship, in Bergman, E. D., Pulman, B., *Mol. Quant. Pharm.*, Reidel Publishing Company.
- Kubinyi, H., 1993, QSAR : *Hansch Analysis and Related Approach*, VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim.
- Balbes, L. M., and Mascarella, S. W., 1994, A Perspective of Modern Methods in Computer-Aided Drug Design, in Lipkowitz, K. B., Boyd, D. B., *Rev.Comp.Chem.*, Volume V, VCH Publisher, New York.
- Tahir, I., Setiaji, B. and Alim, S.A., 2001, *Berkala Ilmiah MIPA*, XI (1), 1-29
- Bhattacharjee, A. K., Kyle, D. E., Vennerstrom, J. L., and Milhous, W. K., 2002, *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, 42, 1212 – 1220.
- Cramer, R. D., Patterson, D. E., and Bunce, J. D., 1988, *Bull. Korean. Chem. Soc.*, 22, 388-394.
- Lee, K. W., Kwon, S. Y., Hwang, S. L., and Kim, H. J., 1996, *Bull. Korean Chem. Soc.*, 17, 147-152.
- Karelson, M., Lobanov, V. P., and Katritzki, A. R., 1996, *Chem. Rev.*, 96, 1027 – 1043
- Tahir, I., Setiaji, B., Wahyuningsih, T.D., Raharjo, T.J. and Noegrohati, S., 2002, *Gama Sains*, IV, 2, 135-141.
- Mustofa, Tahir, I., and Jumina, 2002, *Indo. J. Chem.*, 2, 2, 91-96.
- Mudasir, Putri, I.D.P.M., and Tahir, I., 2003, *Indo. J. Chem.*, 3 (1), 39-47
- Tahir, I., Wijaya, K. Widianingsih, D. and Purwono. B., 2003, *Indo. J. Chem.*, 3 (1), 48-54
- Mustofa, Yapii, A.D., Valentin, A., and Tahir, I., 2003, *Berkala Ilmu Kedokteran*, 35 (2), 67-74
- Istyastono, E.P., Martono, S., Pranowo, H.D., and Tahir, I., 2003, *Indo. J. Chem.*, 3 (3), 179-186
- Yuliana, Pranowo, H.D., Jumina, and Tahir, I., 2004, *Indo. J. Chem.*, 4 (1), 68-75
- Tahir, I., Mudasir, Yulistia, I., and Mustofa, 2005, *Indo. J. Chem.*, 5 (3), 255-260
- Istyastono, E.P., Supardjan, and Pranowo, H.D., 2003, *Majalah Farmasi Indonesia* 14(3), 107-113.