

Hubungan Kuantitatif Struktur-Aktivitas dan Desain Senyawa Novel Phenyl Benzimidazoles sebagai Penghambat Wnt/ β -Catenin untuk Terapi Pancreatic Ductal Adenocarcinoma

Quantitative Structure-Activity Relationship and Design of Novel Phenyl Benzimidazoles as Wnt/ β -Catenin Inhibitors for Pancreatic Ductal Adenocarcinoma Therapy

Dwi Syah Fitra Ramadhan^{1*}, Rusli¹, Taufik Muhammad Fakhil²

¹Program Studi Farmasi, Poltekkes Kemenkes Makassar, Makassar, Sulawesi Selatan, Indonesia

²Fakultas MIPA, Universitas Islam Bandung, Bandung, Jawa Barat, Indonesia

*Email Korespondensi: dwisyahfitra@poltekkes-mks.ac.id

Abstrak

Jalur pensinyalan Wnt/ β -Catenin sangat penting dalam inisiasi dan perkembangan dari *pancreatic ductal adenocarcinoma* (PDAC). Studi sebelumnya menunjukkan bahwa fenil benzimidazol baru memiliki aktivitas penghambatan di jalur Wnt/ β -Catenin. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk merancang fenil benzimidazol baru sebagai penghambat Wnt/ β -Catenin pada PDAC berdasarkan metode Hubungan Kuantitatif Struktur-Aktivitas (HKSA). Struktur molekul dibangun dan dioptimalkan dengan metode AM1 semi empiris menggunakan Gaussian. Sebanyak 12 Deskriptor dipilih yang mewakili parameter elektronik, hidrofobik, dan sterik menggunakan MOE 2014.0901. Senyawa-senyawa yang diduga outlier kemudian dikeluarkan dari kumpulan data berdasarkan nilai XZ-score, yaitu senyawa-senyawa dengan XZ-score di atas 2,5. Kumpulan data kemudian diklasifikasikan menjadi dua bagian, yaitu *training set* dan *test set*. Validasi dilakukan menggunakan metode statistik *Leave One Out* (LOO). Turunan baru dirancang menggunakan skema topliss, dimana senyawa induk dengan nilai IC terendah digunakan sebagai template. Analisis statistik menunjukkan bahwa ada dua deskriptor paling berpengaruh dari aktivitas penghambatan Wnt/ β -Catenin: mr dan LogS. Validasi LOO menunjukkan nilai $Q^2 = 0,7363$. Enam turunan baru, diprediksi memiliki IC yang lebih rendah dari senyawa induknya.

Kata Kunci: Benzimidazoles, PDAC, HKSA, Wnt/ β -Catenin

Abstract

In the pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC) initiation and progression, the Wnt/ β -Catenin signaling pathway showed a very important role. Earlier study showed that novel phenyl benzimidazoles have inhibition activity in Wnt/ β -Catenin pathway. The purpose of the present study was to design novel phenyl benzimidazoles as a Wnt/ β -Catenin inhibitor on PDAC based on the Quantitative Structure Activity Relationship (QSAR) method. The molecule structures were built optimized by semi empirical AM1 using Gaussian. 12 Descriptors were selected which represented electronical, hydrophobic, and steric parameters using MOE 2014.0901. The compounds suspected as an outlier were then removed from the data set based on XZ-score value, i.e. compounds with XZ-score above 2.5. The data set were then classified into two parts, i.e. training set and test set. Validation was performed using Leave One Out (LOO) method and F test. The new derivatives were designed using topliss scheme, in which parent compound with the lowest IC value was used as a 50 template. The statistical analysis showed that there were two most influential descriptors of Wnt/ β -Catenin inhibition activity: mr and LogS. The LOO validation gave $Q^2 = 0.7363$. Six new derivatives, predicted to have lower IC that of parent compound.

Keywords: Benzimidazoles, PDAC, QSAR, Wnt/ β -Catenin

Received: 17 January 2023

Accepted: 21 August 2023

DOI: <https://doi.org/10.25026/jsk.v5i5.1713>



Copyright (c) 2023, Jurnal Sains dan Kesehatan (J. Sains Kes.).
Published by Faculty of Pharmacy, University of Mulawarman, Samarinda, Indonesia.
This is an Open Access article under the CC-BY-NC License.

How to Cite:

Ramadhan, D. S. F., Rusli, R., Fakhri, T. M., 2023. Hubungan Kuantitatif Struktur-Aktivitas dan Desain Senyawa *Novel Phenyl Benzimidazoles* sebagai Penghambat Wnt/ β -Catenin untuk Terapi *Pancreatic Ductal Adenocarcinoma*. *J. Sains Kes.*, 5(5). 576-582. DOI: <https://doi.org/10.25026/jsk.v5i5.1713>

1 Pendahuluan

Analisis hubungan kuantitatif dari struktur dan aktivitas (HKSA) adalah studi yang mengaitkan antara struktur suatu senyawa atau obat dengan aktivitas biologis. Paradigma dasar HKSA adalah bahwa terdapat hubungan dari sifat struktur kimia molekul dan aktivitas biologisnya [1]. HKSA didasari oleh pengetahuan bahwa struktur yang mirip dapat memiliki aktivitas biologis yang serupa [2], selain itu merupakan perbandingan struktur kimia dengan efek farmakologis secara kuantitatif [3]. Apabila dari kajian sebelumnya

senyawa turunan atau analog diketahui memiliki aktivitas farmakologis atau efek toksik tertentu, maka kemudian senyawa yang memiliki struktur dasar yang mirip (analog/turunan) dapat diprediksi aktivitasnya atau toksisitasnya melalui studi hubungan kuantitatif dari struktur dan aktivitas (HKSA) menggunakan deskriptor yang sesuai untuk senyawa yang dikaji [4].

Jalur pensinyalan Wnt / β -Catenin memiliki peran yang sangat penting dalam inisiasi dan perkembangan in *pancreatic ductal adenocarcinoma* (PDAC) [5], [6]. Saat ini tidak

ada molekul kecil yang disetujui oleh FDA sebagai penghambat Wnt/ β -Catenin untuk pengobatan kanker [7]. Pengobatan PDAC saat ini hanya melalui reseksi bedah, sehingga masih perlu dikembangkan strategi pengobatan PDAC melalui jalur Wnt/ β -Catenin [8]. Pathak [7] telah mensintesis dan menguji aktivitas fenil benzimidazol baru untuk pengobatan PDAC dengan mekanisme penghambatan Wnt/ β -Catenin [7]. Sampai saat ini, studi HKSA terhadap novel phenyl benzimidazoles belum dilakukan sebagai inhibitor Wnt/ β -Catenin. Terdapat LGK974, satu-satunya molekul kecil yang memiliki mekanisme sebagai inhibitor Wnt/ β -Catenin, namun masih dalam tahap uji klinis fase I. Oleh karena itu, tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengembangkan novel phenyl benzimidazoles sebagai inhibitor Wnt/ β -Catenin berdasarkan metode HKSA.

2 Metode Penelitian

2.1 Penyiapan Struktur Senyawa Aktif

Kajian HKSA disini menggunakan senyawa turunan *phenyl benzimidazoles* yang di dapatkan struktur 25 senyawa turunan Benzimidazole beserta aktivitasnya dari penelitian [7], yang digambar dan diptimasi strukturnya dengan menggunakan Gaussview dan Gaussian 03W menggunakan skema semi-empirik AM1 [9].

2.2 Pemilihan dan Perhitungan Nilai Deskriptor

Tiap-tiap senyawa hasil optimasi ini dihitung nilai deskriptornya menggunakan program *software* MOE 2009.10. Nilai deskriptor kemudian dikalkulasi, sebanyak 12 parameter kimia fisika dihitung, sesuai dengan pendekatan Hansch [10], [11].

2.3 Penghilangan Outlier dan Pembagian Data Set

Outlier adalah sebuah data/nilai yang menyimpang jauh dalam suatu rangkain data. Dengan adanya *outlier* maka akan membuat serangkain data menjadi bias, atau tidak menggambarkan fenomena nilai yang sebenarnya. Senyawa yang dihapus adalah senyawa dengan nilai XZ-score > 2,5. Kemudian senyawa yang tersisa dibagi menjadi 3 bagian

yaitu senyawa dengan nilai Log IC₅₀ tertinggi, sedang, dan terendah [12].

2.4 Validasi Persamaan HKSA

Deskriptor yang digunakan tertera dalam Tabel 3. Perhitungan regresi multilinear (MLR) dilakukan dengan program IBM SPSS Statistic 19. Penelitian terdahulu yang memiliki nilai Log IC₅₀ kemudian digunakan sebagai variabel tak bebas dan ke 12 deskriptor sebagai variable bebasnya. Kemudian dianalisis dengan menggunakan metode *Stepwise*. Metode tersebut bekerja dengan memasukkan variabel bebas yang paling berpengaruh satu persatu pada perhitungan regresi multilinear. Selanjutnya model persamaan yang diperoleh dari hasil regresi Multilinear tersebut kemudian divalidasi dengan metode *leave-one-out* (LOO) yang dihitung dan ditetapkan melalui kriteria Q² [13].

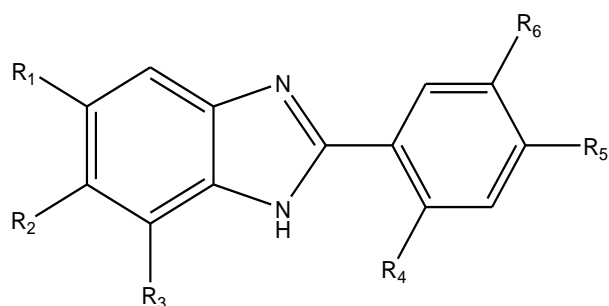
2.5 Desain Senyawa Novel Phenyl Benzimidazole

Desain senyawa *Novel Phenyl Benzimidazole* dilakukan dengan melakukan penambahan gugus-gugus tertentu (subtituen) pada senyawa induk terpilih. Senyawa induk adalah senyawa dengan IC₅₀ paling rendah. Pemilihan subtituen menggunakan skema Topliss yaitu skema yang menambahkan gugus-gugus fungsi dengan berbagai sifat kimia yang berbeda, diantaranya gugus Cl, Br, I, F, CF₃, NO₂, OCH₃, N(CH₃)₂, N(C₂H₅)₂, NH₂, CONH₂, Etil, Propil, Tert-butyl, Iso-propil pada posisi tertentu pada senyawa induk [14], [15]. Selanjutnya, nilai IC₅₀ senyawa desain dihitung menggunakan persamaan HKSA terbaik yang diperoleh, dan kemudian ditetapkan senyawa baru yang menunjukkan nilai IC₅₀ yang lebih rendah dari senyawa induk.

3 Hasil dan Pembahasan

3.1 Penyiapan Struktur Senyawa Aktif

Senyawa aktif yang diperoleh dari penelitian [7] berhasil digambar menggunakan Gaussview, dan berhasil dioptimasi menggunakan Gaussian dengan skema semi-empirik AM1. Struktur atau kerangka dasar senyawa fenil benzimidazol (Gambar 1) dan subtituennya dapat dilihat pada Tabel 1.



Gambar 1. Struktur atau kerangka dasar senyawa fenil benzimidazol

Tabel 1. Substituen Turunan Banzimidazole [7]

Senyawa	R1	R2	R3	R4	R5	R6	Log IC ₅₀
1	F	Cl	H	OH	H	F	0.447
2	Cl	Cl	H	OH	H	Cl	0.579
3	Cl	Cl	H	OH	H	F	0.785
4	Cl	H	Cl	OH	H	F	0.113
5	H	NO ₂	H	OH	H	Cl	-0.045
6	H	Cl	H	OH	H	F	0.698
7	H	NO ₂	H	OH	H	NO ₂	0.579
8	H	CF ₃	H	OH	H	Cl	0.322
9	H	CF ₃	H	OH	H	F	0.505
10	H	NO ₂	H	OH	H	F	0.623
11	Cl	Cl	H	H	F	OCF ₃	0.623
12	Cl	Cl	H	H	OCF ₃	H	-0.397
13	Cl	Cl	H	H	CF ₃	H	0.041
14	Cl	Cl	H	H	Methyl	H	0.477
15	Cl	H	Cl	H	CF ₃	H	0.778
16	Cl	H	Cl	H	OCF ₃	H	0.898
17	CF ₃	H	Cl	H	OCF ₃	H	0.230
18	H	Cl	H	H	CF ₃	H	0.477
19	H	Cl	H	H	OCF ₃	H	0.230
20	Cl	Cl	H	H	N-Me-piperazine	H	-1.745
21	Cl	Cl	H	H	Piperidine	H	-2.699
22	Cl	Cl	H	H	Pyrrolidine	H	-2.699
23	Cl	Cl	H	H	Azapane	H	0.041
24	H	F	H	H	Piperidine	H	0.477
25	H	F	H	H	Pyrrolidine	H	0.778

Tabel 2. Deskriptor yang digunakan dalam analisis HKSA

No.	Simbol pada software	Simbol Umum	Deskriptor
1.	AM1_dipole	M	Momen dipol
2.	AM1_E	E _{Tot}	Energi total
3.	AM1_Eele	E _{ele}	Energi elektronik
4.	AM1_HF	HF	Panas pembentukan
5.	AM1_HOMO	E _{HOMO}	Energi HOMO
6.	AM1_LUMO	E _{LUMO}	Energi LUMO
7.	Glob	Glob	Globularitas
8.	Log P(o/w)	log P	Koefisien partisi
9.	Mr	MR	Refraktivitas molar
10.	ASA_H	Å	Luas permukaan hidrofobik
11.	Log S	log S	Logaritma kelarutan dalam air
12.	Vol	Vol	Volume molekuler

3.2 Pemilihan dan Perhitungan Nilai Deskriptor

Deskriptor yang dipilih adalah 12 deskriptor dengan menggunakan pendekatan Hansch yang menggambarkan sifat hidrofobik, sterik, dan elektronik diantaranya dapat dilihat pada Tabel 2. Selanjutnya dihitung nilai deskriptornya terhadap masing-masing senyawa.

3.3 Penghilangan Outlier dan Pembagian Data Set

Kemudian dihitung nilai XZ-SCORE-nya menggunakan Senyawa tersebut kemudian dihitung nilai *studentized deleted residual*-nya menggunakan aplikasi SPSS.19. *Studentized deleted residual* yang nilainya > 2,5 dikeluarkan karena dianggap sebagai *outlier*, data yang dianalisis dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil analisis XZ-SCORE senyawa uji

Senyawa	XZ-SCORE
1	0.389
2	0.472
3	0.577
4	0.638
5	0.041
6	0.489
7	2.325
8	0.061
9	0.123
10	0.010
11	0.550
12	1.713
13	1.202
14	0.714
15	0.367
16	1.075
17	0.384
18	0.318
19	0.395
20	0.777
21	2.320
22*	3.639
23	0.370
24	2.098
25	0.028

*senyawa yang dikeluarkan dari dataset senyawa

Senyawa 22 menunjukkan nilai XZ-SCORE 3.639 dan dikeluarkan dari dataset. Data set yang tersisa kemudian dibagi menjadi 3 bagian yaitu senyawa dengan nilai IC₅₀ tertinggi, sedang, dan terendah, dipilih *test set* secara acak dari masing-masing kelompok untuk

mengevaluasi kemampuan memprediksi dari model persamaan yang terpilih. Dan sisanya dijadikan *training set* untuk membentuk model persamaan. Hasil pembagian dapat dilihat dalam Gambar 2.

log IC ₅₀	Senyw.
-2.69897	21
-2.69897	22
-2.30103	23
-1.74473	20
-1.06048	25
-0.67778	24
-0.39794	12
-0.04576	5
0.041393	13
0.079181	10
0.113943	4
0.230449	17
0.230449	19
0.322219	8
0.447158	1
0.477121	14
0.477121	18
0.50515	9
0.579784	2
0.579784	7
0.623249	11
0.69897	6
0.778151	15
0.78533	3
0.897627	16

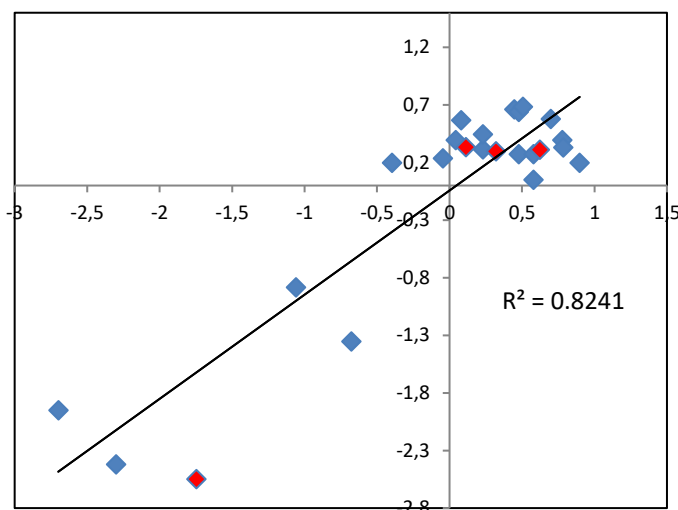
Gambar 2. Hasil Pembagian dataset

3.4 Validasi Persamaan HKSA

Dari hasil analisis regresi Multilinear diperoleh 2 model, yang direpresentasikan dalam Tabel 4. Model persamaan yang diperoleh memiliki 2 deskriptor yaitu *mr* dan *LogS*. Model 2 dipilih dikarenakan memiliki nilai *R* tertinggi yaitu 0,907. Model HKSA tersebut kemudian divalidasi dengan teknik *leave-one-out* (LOO) dan dihitung menggunakan kriteria *Q*². Hasil analisis LOO *Q*² yang diterima adalah $\geq 0,5$. Berdasarkan analisis LOO *Q*² terhadap seluruh dataset, diperoleh nilai *Q*² yaitu 0.736, dengan persamaan HKSA yang diperoleh adalah $\text{Log IC}_{50} = 6.500241 + (-0.383862 \times \text{LogS}) + (-1.157881 \times \text{mr})$. Validasi selanjutnya yang dilakukan adalah dengan memprediksi *IC*₅₀ menggunakan persamaan yang diperoleh terhadap keduanya, yaitu *training set* dan *test set*, dan dihitung linearitasnya dengan membuat grafik regresi antara *Log IC*₅₀ prediksi dan *Log IC*₅₀ eksperimen, yang dapat dilihat pada Gambar 3. Hasil analisis menunjukkan linearitas yang cukup tinggi antara *Log IC*₅₀ prediksi dan *Log IC*₅₀ eksperimen yang ditunjukkan oleh nilai $R^2 = 0,8241$.

Tabel 4. Hasil analisis Regresi Multilinear

Model	R	R square	Std	Predictors: (Constant), <i>mr</i>
1	0.867	0.751	0.5058846	Predictors: (Constant), <i>mr</i>
2	0.907	0.822	0.4399629	Predictors: (Constant), <i>mr</i> , <i>LogS</i>

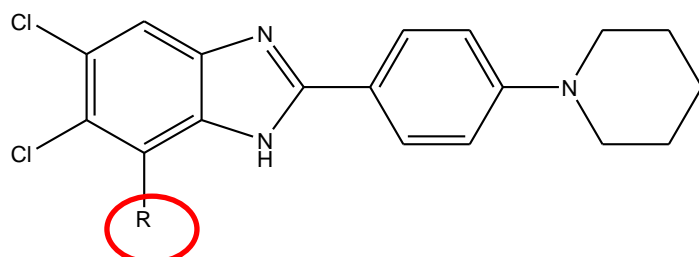


Gambar 3. Grafik *Log IC*₅₀ prediksi dan eksperimen (Titik merah menunjukkan grafik senyawa *test set*)

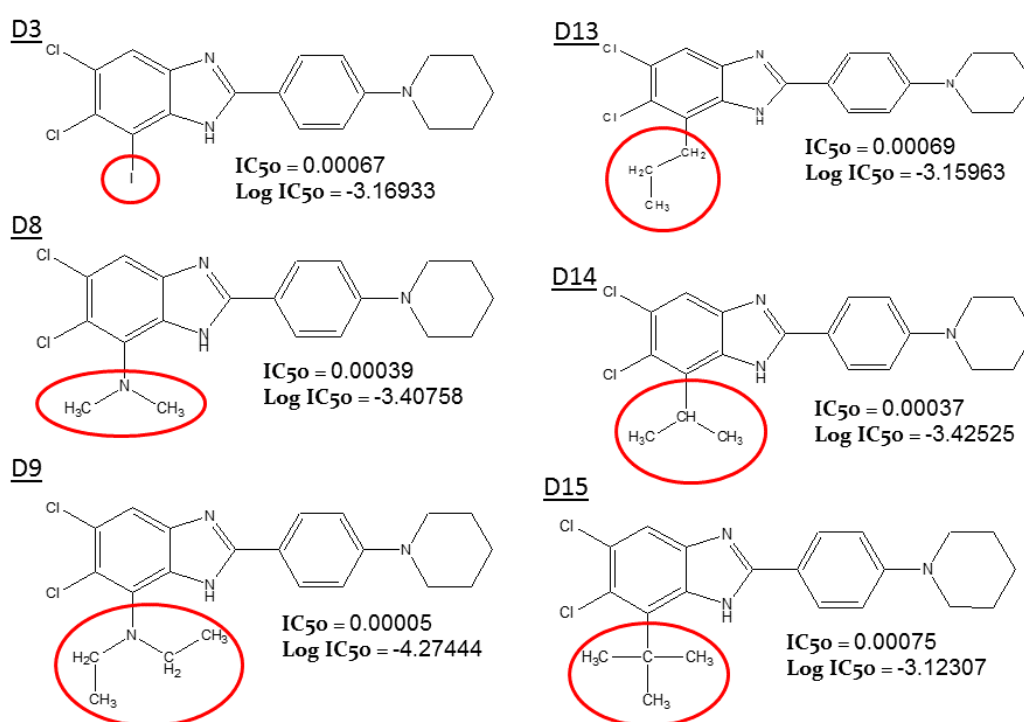
3.5 Hasil Desain Senyawa Novel Phenyl Benzimidazole

Dari persamaan HKSA yang telah diperoleh, dilakukan desain terhadap struktur kimia senyawa turunan senyawa fenil benzimidazol dengan memperhatikan deskriptor yang mempengaruhi persamaan HKSA. Desain dan modifikasi struktur senyawa dilakukan menggunakan pendekatan dan skema Topliss, yaitu teknik dimana gugus-gugus yang mempunyai sifat lipofilik, elektronik dan sterik dimasukkan pada posisi tertentu dari struktur senyawa induk.

Senyawa desain yang dipilih adalah senyawa 21 (Gambar 4) yang diambil dari [7] Senyawa 21 dipilih dan digambar menggunakan program *Gaussian* dan di optimasi dengan metode *semi empirical* AM1, kemudian dihitung nilai deskriptor dan *Log IC*₅₀ prediksinya berdasarkan hasil persamaan yang telah di dapatkan.



Gambar 4. Senyawa induk yang digunakan sebagai *template* desain



Gambar 5. Senyawa hasil desain dengan Log IC_{50} prediksi yang lebih rendah dibandingkan senyawa induk

Tabel 5. Urutan senyawa desain dan substituenya

Senyawa Desain	Substituen
D1	Cl
D2	Br
D3	I
D4	F
D5	CF ₃
D6	NO ₂
D7	OCH ₃
D8	N(CH ₃) ₂
D9	N(C ₂ H ₅) ₂
D10	NH ₂
D11	CONH ₂
D12	Etil
D13	Propil
D14	Tert-butil
D15	Iso-propil

Sebanyak 15 senyawa yang didesain dan diurutkan seperti pada Tabel 5. Senyawa tersebut digambar menggunakan program *Gaussian* dan di optimasi dengan metode *semi empirical AM1* dan dihitung nilai deskriptor dan Log IC_{50} prediksinya berdasarkan hasil persamaan yang telah di dapatkan. Hasil prediksi Log IC_{50} terhadap senyawa desain dapat dilihat pada Gambar 5. Diperoleh Log IC_{50} 6 senyawa hasil desain lebih rendah dibandingkan Log IC_{50} senyawa penuntun/induk, dimana diketahui Log IC_{50} senyawa induk adalah -2.6989701.

4 Kesimpulan

Persamaan HKSA terbaik adalah $\text{Log IC}_{50} = 6.500241 - (0.383862 \times \text{Log S}) - (1.157881 \times \text{mr})$. Enam senyawa desain memiliki Log IC_{50} lebih rendah dari senyawa induk. Disimpulkan bahwa keenam senyawa tersebut menunjukkan peluang potensial sebagai kandidat baru penghambat Wnt/ β -katenin pada PDAC.

5 Pernyataan

5.1 Kontribusi Penulis

Seluruh Penulis berkontribusi dalam penyusunan artikel mulai dari desain, konsep analisis dan interpretasi data.

5.2 Penyandang Dana

Penelitian ini tidak mendapatkan pendanaan dari sumber manapun.

5.3 Konflik Kepentingan

Tidak ada konflik kepentingan.

6 Daftar Pustaka

- [1] R. Perkins, H. Fang, W. Tong, and W. J. Welsh, "Quantitative structure-activity relationship methods: perspectives on drug discovery and toxicology," *Environ. Toxicol. Chem.*, vol. 22, no. 8, pp. 1666–1679, Aug. 2003, doi: 10.1897/01-171.
- [2] K. Roy and I. Mitra, "On various metrics used for validation of predictive QSAR models with applications in virtual screening and focused library design," *Comb. Chem. High Throughput Screen.*, vol. 14, no. 6, pp. 450–474, Jul. 2011, doi: 10.2174/138620711795767893.
- [3] K. L. E. Kaiser, "Evolution of the international workshops on quantitative structure-activity relationships (QSARs) in environmental toxicology," *SAR QSAR Environ. Res.*, vol. 18, no. 1–2, pp. 3–20, 2007, doi: 10.1080/10629360601053927.
- [4] C. J. Moudgal *et al.*, "Application of QSARs and VFARs to the rapid risk assessment process at US EPA," *SAR QSAR Environ. Res.*, vol. 19, no. 5–6, pp. 579–587, 2008, doi: 10.1080/10629360802348944.
- [5] F. Raineri *et al.*, "Nucleolin Targeting by N6L Inhibits Wnt/ β -Catenin Pathway Activation in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma," *Cancers (Basel)*, vol. 13, no. 12, Jun. 2021, doi: 10.3390/cancers13122986.
- [6] X. Zhang *et al.*, "FAM84B, amplified in pancreatic ductal adenocarcinoma, promotes tumorigenesis through the Wnt/ β -catenin pathway," *Aging (Albany. NY)*, vol. 12, no. 8, pp. 6808–6822, Apr. 2020, doi: 10.18632/aging.103044.
- [7] V. Pathak *et al.*, "Retraction of 'Design and Synthesis of Novel Cyclic Amine Benzimidazoles for the Treatment of Pancreatic Cancer'," *J. Med. Chem.*, vol. 60, no. 17, p. 7615, Sep. 2017, doi: 10.1021/acs.jmedchem.6b01417.
- [8] F. Camelo and A. Le, "The Intricate Metabolism of Pancreatic Cancers," *Adv. Exp. Med. Biol.*, vol. 1311, pp. 77–88, 2021, doi: 10.1007/978-3-030-65768-0_5.
- [9] D. Bálint and L. Jäntschi, "Comparison of molecular geometry optimization methods based on molecular descriptors," *Mathematics*, vol. 9, no. 22, pp. 1–12, 2021, doi: 10.3390/math9222855.
- [10] J. Spiegel and H. Senderowitz, "Evaluation of QSAR Equations for Virtual Screening," *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 21, no. 21, Oct. 2020, doi: 10.3390/ijms21217828.
- [11] Danishuddin and A. U. Khan, "Descriptors and their selection methods in QSAR analysis: paradigm for drug design," *Drug Discov. Today*, vol. 21, no. 8, pp. 1291–1302, Aug. 2016, doi: 10.1016/j.drudis.2016.06.013.
- [12] K. H. Kim, "Outliers in SAR and QSAR: is unusual binding mode a possible source of outliers?," *J. Comput. Aided. Mol. Des.*, vol. 21, no. 1–3, pp. 63–86, 2007, doi: 10.1007/s10822-007-9106-2.
- [13] A. Golbraikh, M. Shen, Z. Xiao, Y.-D. Xiao, K.-H. Lee, and A. Tropsha, "Rational selection of training and test sets for the development of validated QSAR models," *J. Comput. Aided. Mol. Des.*, vol. 17, no. 2–4, pp. 241–253, 2003, doi: 10.1023/a:1025386326946.
- [14] M. da Silva *et al.*, "Topliss method in the optimization of salicylic Acid derivatives as potential antimycobacterial agents," *Chem. Biol. Drug Des.*, vol. 71, no. 2, pp. 167–172, Feb. 2008, doi: 10.1111/j.1747-0285.2007.00621.x.
- [15] R. A. Yunes, V. E. F. Heinzen, V. Cechinel Filho, and M. Lazzarotto, "From the manual method of Topliss to a modified quantitative method," *Arzneimittelforschung.*, vol. 52, no. 2, pp. 125–132, 2002.