

Studi *in silico* : Hubungan Kuantitatif Struktur-Aktivitas Antivirus SARS-COV2 Pada Senyawa Turunan N-4-benzoil-N'-(4-fluorofenil) tiourea

Anindi Lupita Nasyanka^{1*}, Diah Ratnasari¹, Janatun Na'imah¹, Dini Kesuma²

¹ Jurusan D3 Farmasi, Fakultas Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Gresik, Jl. Proklamasi No. 54, Gresik 61111, Indonesia

² Jurusan Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Surabaya Jl. Tenggilis Mejoyo Blok AM No.12, Surabaya 60293, Indonesia

* Penulis Korespondensi. Email: anindilupita@umg.ac.id

ABSTRAK

Terapi spesifik untuk virus SARS-COV2 masih dikembangkan di beberapa negara di dunia. Salah satu target molekuler yang diduga spesifik pada SARS COV2 adalah 3CLpro atau protease utama virus COVID-19. Berdasarkan target kerja tersebut, terdapat kemiripan antara senyawa turunan N-4-benzoyl-N'-(4-fluorophenyl)thiourea dengan inhibitornya. Penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan senyawa turunan N-4-benzoyl-N'-(4-fluorophenyl)thiourea sebagai calon obat yang dapat menghambat protein virus SARS-CoV2 menggunakan metode HKSA secara *in silico*. Berdasarkan hasil analisis tersebut didapatkan persamaan terbaik untuk pengembangan anti virus SARS-CoV2 $\text{Log } 1/C = 0,269 \text{ Log } P^2 - 2,776 \text{ Log } P + 0,221 \text{ cMR} + 3,195$ ($n = 8$; $R = 0,949$ $S = 0,11399$; $F = 12,119$; $\text{Sig} = 0,018$). Peran dari gugus yang mengandung lipofilik dan sterik dapat meningkatkan aktivitasnya sebagai anti virus SARS-CoV2 secara *In silico* pada modifikasi turunan tersebut.

Kata Kunci:

Covid-19, 3CLpro, HKSA, *In silico*, N-4-benzoyl-N'-(4-fluorofenil)thiourea

Diterima:
02-05-2022

Disetujui:
4-06-2022

Online:
25-06-2022

ABSTRACT

Specific therapies for the SARS-CoV2 virus are still being developed in several countries in the world. One of the suspected molecular targets specific to SARS COV2 is the 3CLpro or main protease of the COVID-19 virus. Based on the target of this work, there are similarities between the compounds N-4-benzoyl-N'-(4-fluorophenyl)thiourea derivatives with their inhibitors. This study aims to develop derivative compounds N-4-benzoyl-N'-(4-fluorophenyl)thiourea as a potential drug candidate inhibiting SARS-CoV2 viral protein using the HKSA method in silicon. Based on the results of the analysis, the best equation for the development of anti-virus SARS-CoV2 was $\text{Log } 1/C = 0.269 \text{ Log } P^2 - 2.776 \text{ Log } P + 0.221 \text{ cMR} + 3.195$ ($n = 8$; $R = 0.949$ $S = 0.11399$; $F = 12.119$; $\text{Sig} = 0.018$). The role of the lipophilic and -containing groups steric can increase its activity as an anti-virus SARS-CoV2 *In silico* on the modification of the derivative.

Copyright © 2022 Jsscr. All rights reserved.

Keywords:

Covid-19, 3CLpro, *In silico*, N-4-benzoyl-N'-(4-fluorophenyl)thiourea, QSAR

Received:

Accepted:

Online:

1. Pendahuluan

COVID-19 pertama dilaporkan di Indonesia pada tanggal 2 Maret 2020 sejumlah dua kasus. Data 31 Maret 2020 menunjukkan kasus yang terkonfirmasi berjumlah 1.528 kasus dan 136 kasus kematian. Tingkat mortalitas COVID-19 di Indonesia sebesar 8,9%, angka ini merupakan yang tertinggi di Asia Tenggara [1]. Saat ini terapi spesifik untuk virus SARS-COV2 masih dikembangkan di beberapa negara di dunia. Salah satu target molekuler yang diduga spesifik pada SARS COV2 adalah 3CLpro atau protease utama virus COVID-19 (Mpro) yang merupakan enzim CoV kunci yang memainkan peran penting dalam memediasi replikasi dan transkripsi virus [2]. Penghambatan main protease tersebut dapat menghentikan transkripsi dan replikasi virus SARS COV2 sehingga tidak berkembang dalam menginfeksi manusia.

Pengembangan obat secara rasional sangat dibutuhkan pada masa pandemi dengan pendekatan komputisasi melalui *in silico*. *In silico* adalah pendekatan untuk memprediksi kandidat obat yang potensial telah dikembangkan. *In silico* memiliki beberapa metode dalam pelaksanaannya yaitu *Molecular docking*, *Virtual High through put screening*, *QSAR (Quantitative structure-activity relationship)*, *Pharmacophore mapping*, dan *Fragment based screening* [3]. *In silico* yang dilakukan melalui metode QSAR atau HKSA bertujuan untuk mengembangkan senyawa-senyawa sebagai calon obat baru [4]. Teknik HKSA memiliki konsep bahwa struktur yang mirip memiliki sifat-sifat yang sama dan semakin banyak perbedaan diantara molekulnya, maka semakin sulit untuk menghubungkan sifat fisika dan kimianya dengan aktivitas biologis. Sifat fisika kimia yang memberikan andil terbesar terhadap aktivitas adalah sifat lipofilik, elektronik dan sterik [5].

Sebelum dilakukan metode HKSA harus dicari terlebih dahulu senyawa penuntun yang akan digunakan dalam metode ini. N-4-benzoyl-N'-(4-fluorophenyl)thiourea merupakan senyawa antikanker golongan thiourea yang diketahui mempunyai aktivitas dalam proses penghambatan replikasi sel kanker [6,7,8]. Kemiripan penghambatan replikasi tersebut mendorong penelitian ini untuk mengembangkan turunan tersebut menjadi calon obat antivirus SARS COV2 dengan *in silico* melalui metode HKSA.

2. Metode

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah Asus portable computer with specification Windows 8.1, Intel Core i5, and 4 GB RAM. ChemBioDraw Ultra 13.0, Igemdock 2.1, IBM® SPSS® 20.0

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah Senyawa turunan N-4-benzoyl-N'-(4-fluorophenyl) thiourea sebanyak 8 senyawa yang terdiri dari 2,4-diklorobenzoil N'-(4-fluorophenyl) thiourea, 4-klorobenzoil N'-(4-fluorophenyl) thiourea, 4-trifluorometilbenzoil N'-(4-fluorophenyl) thiourea, 4-metilbenzoil N'-(4-fluorophenyl) thiourea, 4-metoksibenzoil N'-(4-fluorophenyl) thiourea, 4-tertbutilbenzoil N'-(4-fluorophenyl) thiourea, 4-bromobenzoil N'-(4-fluorophenyl) thiourea ; reseptor sarscov2 (PDB ID: 2gz7).

Jalannya Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada beberapa tahapan sebagai berikut :

1. Penentuan sifat kimia dan fisika senyawa turunan
Sifat kimia fisika dari 8 turunan N-4-benzoyl-N'-(4-fluorophenyl)thiourea dilakukan uji penentuan menggunakan software ChemBioDraw 3D. Sifat kimia dan fisika yang digunakan antara lain : Lipofilik (Log P) , elektronik (energi total), dan sterik (cMR).
2. Uji aktivitas *in silico*
Uji aktivitas antivirus sarscov2 dilakukan secara *in silico* menggunakan software igemdock. 2.1 pada reseptor 3cLpro yang merupakan main protease virus tersebut (PDB ID: 2gz7). Tipe docking yang digunakan adalah *accurate docking* [9].
3. Penentuan persamaan terbaik menggunakan analisis statistik
Analisis dilakukan pada sifat fisiko kimia yang telah ditentukan dengan log aktivitas prediksi melalui *in silico* di reseptor 3cLpro. Penentuan sifat kimia dan fisika senyawa turunan. Sifat kimia fisika dari 8 turunan N-4-benzoyl-N'-(4-fluorophenyl)thiourea dilakukan uji penentuan menggunakan software ChemBioDraw 3D. Penentuan korelasi bivariate antar variabel. Penentuan persamaan terbaik menggunakan analisis statistic parameter R, F, S, dan sig <0,05).

3. Hasil dan Pembahasan

Penentuan sifat kimia dan fisika senyawa turunan

Hasil penentuan sifat kimia fisika 8 senyawa turunan tersaji pada tabel 1

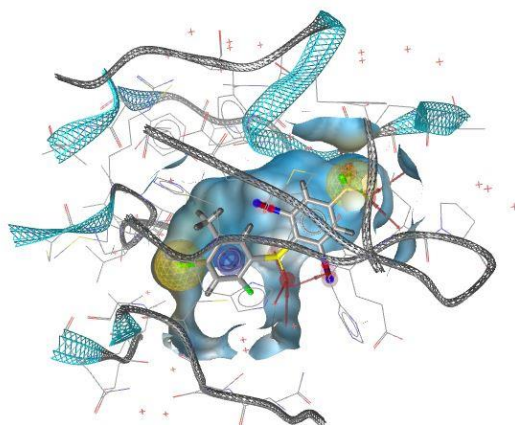
Tabel 1. Sifat kimia fisika senyawa turunan N-4-benzoyl-N'-(4-fluorophenyl) thiourea

R	Log P	Log P2	cMR	Total Energy (Kcal/mol)
4-tertC(CH ₃) ₃	5,167	26,69789	9,66	-8.57215,1174
4-Br	4,292	18,42126	8,58	-23.658.72,9612
4-Cl	4,021	16,16844	8,30	-10.463.66,6578
4-CH ₃	3,95	15,6025	8,27	-7.841.33,1031
2,4-diCl	4,579	20,96724	8,79	-13.329.48,1154
4-CF ₃	4,384	19,21946	8,32	-9.692.46,2188
H	3,463	11,99237	7,81	-7.597.73,7244
4-OCH ₃	3,336	11,1289	8,42	-8.308.44,5698

Pemilihan senyawa turunan menggunakan campuran sifat ke-elektronegatifan tinggi hingga rendah serta sifat lipofilik tinggi dan rendah. Pada tabel 1. Semua senyawa masih masuk dalam rentang lipinski rule yakni memiliki log P ≥ 5, sehingga memenuhi syarat untuk menjadi calon obat baru yang akan dikembangkan [10,11].

Prediksi Uji aktivitas *in silico* pada reseptor 3cLpro SARSCOV2

Uji *in silico* menggunakan software igemdock 2.1 pada reseptor 3cLpro yang merupakan main protease virus SARS COV2(PDB ID: 2gz7). Ligand inhibitor yang sudah terdapat pada reseptor tersebut dengan kode D3F_307[A]. Reseptor tersebut ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Reseptor 3cLpro (PDB ID:2gz7) dengan ligand inhibitor D3F_307[A] beserta farmakofornya dan binding site (berupa awan berwarna biru putih)

Hasil dari *docking* dapat diketahui dua hal yaitu energi ikatan dengan reseptor yang ditunjukkan pada energi total dan juga asam amino yang berikatan pada interaksi tersebut (ditunjukkan pada tabel 2).

Tabel 2. Total energi ikatan antara ligan dan reseptor

R	Docking Score
4- <i>tert</i> C(CH ₃) ₃	-77,60
4-Br	-75,40
4-Cl	-74,5
4-CH ₃	-71,20
2,4- <i>di</i> Cl	-70,40
4-CF ₃	-31,70
H	-71,90
4-OCH ₃	-13,50

Hasil Tabel 2. menunjukkan bahwa semua turunan memiliki total energi yang lebih kecil dari ligand awal yang terdapat dalam reseptor. Dimana energi ikatan yang kecil akan memudahkan interaksi antar ligan dan reseptor dan semakin besar afinitasnya sehingga diprediksi bahwa 8 senyawa turunan memiliki aktivitas anti virus SARS-COV2 lebih baik dibanding senyawa ligand [12,13].

Penentuan persamaan linier dan non linier dalam HKSA

Penentuan persamaan linier dan nonlinier dalam HKSA menggunakan variabel tergantung Log 1/c yang didapatkan dari prediksi aktivitas antivirus SARS COV2 sedangkan variabel bebas adalah sifat fisikokimia yang ditunjukkan pada Tabel 3

Tabel 3. Nilai parameter sifat fisika kimia dan aktivitas antivirus SARSCOV2 senyawa N-4-benzoyl-N'-(4-fluorophenyl)

R	Log P	Log P ²	Energi Total	cMR	Log 1/c
4- <i>tert</i> C(CH ₃) ₃	5,17	26,70	-857215,12	9,66	-1,89
4-Br	4,29	18,42	-2365872,96	8,58	-1,88
4-Cl	4,02	16,17	-1046366,66	8,30	-1,87
H	3,95	15,60	-784133,10	8,27	-1,86
4-CH ₃	4,58	20,97	-1332948,12	8,79	-1,85
2,4- <i>di</i> Cl	4,38	19,22	-969246,22	8,32	-1,85
4-CF ₃	3,46	11,99	-759773,72	7,81	-1,50
4-OCH ₃	3,34	11,13	-830844,57	8,42	-1,13

Kemudian menggunakan dianalisis persamaan regresi linier dan non linier satu parameter yang ditunjukkan pada tabel 4.

Tabel 4. Persamaan regresi linier dan non linier satu parameter senyawa N-4-benzoyl-N'-(4-fluorophenyl) dan Turunannya

Satu Parameter	
Regresi linier	
1	Log 1/C = -0,348 Log P + (-0,283) (1) (n= 8; R = 0,758; S= 0,19279; F=8,108;Sig =0,029)
2	Log 1/C = 1,746 x 10 ⁻⁷ Energi total + (-1,533) (2) (n= 8; R = 0,343; S= 0, 27772; F=0,798 ;Sig =0,406)
3	Log 1/C = -0,176 cMR + (-0,225) (3) (n= 8; R =0,348; S= 0, 27713; F=0,828;Sig =0,398)
Regresi Non Linier	
1	Log 1/C = 0,405 Log P ² -3,758 Log P + 6,759 (4) (n= 8; R =0,937; S= 0,11299; F=18,037;Sig =0,005)

Hasil persamaan terbaik Tabel 4 pada satu parameter yaitu persamaan (4). Dari persamaan tersebut dapat diketahui bahwa adanya kolerasi linier dengan Log P dengan kurva parabolik, dimana artinya semakin tinggi nilai log P akan semakin tinggi aktivitasnya sampai mencapai nilai yang optimum [14]. Sedangkan analisis hasil persamaan regresi linier dan non linier dua parameter ditunjukkan pada tabel 5.

Tabel 5. Persamaan regresi linier dan non linier Dua parameter senyawa N-4-benzoyl-N'-(4-fluorophenyl) dan Turunannya

Dua Parameter	
Regresi linier	
1	$\text{Log } 1/C = -0,329 \text{ Log } P + 8,893 \times 10^{-8} \text{ Energi total} + (-0,262)$ (5) (n= 8; R = 0,777; S= 0,20391; F=3,805;Sig =0,099)
2	$\text{Log } 1/C = -0,715 \text{ Log } P + 0,484 \text{ cMR} + (-2,884)$ (6) (n= 8; R = 0,921; S= 0,12621; F=13,960;Sig =0,009)
3	$\text{Log } 1/C = 1,552 \times 10^{-7} \text{ Energi total} + (-0,158) \text{ cMR} + (-0,212)$ (7) (n= 8; R = 0,461; S= 0, 28734; F=0,675;Sig =0,550)
Regresi Non Linier	
1	$\text{Log } 1/C = 0,447 \text{ Log } P^2 -4,120 \text{ Log } P - 6,222 \times 10^{-8} \text{ Energi total} +7,464$ (8) (n= 8; R =0,943 S= 0,12053; F=10,699;Sig =0,022)
2	$\text{Log } 1/C = 0,269 \text{ Log } P^2 - 2,776 \text{ Log } P + 0,221 \text{ cMR} +3,195$ (9) (n= 8; R =0,949 S= 0,11399; F=12,119;Sig =0,018)

Hasil persamaan terbaik pada dua parameter yaitu persamaan (9). Dari persamaan tersebut dapat diketahui bahwa adanya kolerasi linier dengan Log P dengan kurva parabolik, dimana artinya semakin tinggi nilai log P akan semakin tinggi aktivitasnya sampai mencapai nilai yang optimum. Hal ini sejalan dengan nilai sterik atau keruahan yang semakin besar pada gugus yang ditambahkan akan semakin meningkatkan aktivitasnya pada reseptor main protease SARS-COV2. Sedangkan analisis hasil persamaan regresi linier dan non linier tiga parameter ditunjukkan pada Tabel 6.

Tabel 6. Persamaan regresi linier dan non linier tiga parameter senyawa N-4-benzoyl-N'-(4-fluorophenyl) dan Turunannya

Tiga Parameter	
Regresi linier	
1	$\text{Log } 1/C = -0,695 \text{ Log } P + 5,172 \times 10^{-8} \text{ Energi total} + 0,471 \text{ cMR} + (-2,803)$ (10) (n= 8; R = 0,926; S= 0, 13659; F=8,035;Sig =0,036)
Regresi Non Linier	
1	$\text{Log } 1/C = 0,308 \text{ Log } P^2 -3,090 \text{ Log } P - 3,028 \times 10^{-8} \text{ Energi total} + 0,190 \text{ cMR} + 4,038$ (11) (n= 8; R =0,950; S= 0, 13019; F=6,984;Sig =0,071)

Hasil persamaan terbaik pada tiga parameter yaitu persamaan (10). Dari persamaan tersebut dapat diketahui bahwa adanya kolerasi linier dengan Log P, Energi total, dan keruahan senyawa. Namun arah negatif pada Log P menggambarkan bahwa seiring peningkatan energi total dan keruahan maka nilai Log P lebih baik dikurangi untuk meningkatkan efektifitas antivirus SARSCOV2. Sebelas persamaan yang dihasilkan berdasarkan analisa persamaan regresi linier dan non linier satu hingga tiga parameter, maka ditentukan persamaan yang paling terbaik dalam pengembangan senyawa turunan dengan aktivitas antivirus SARSCOV2 adalah persamaan (9).

$$\text{Log } 1/C = 0,269 \text{ Log } P^2 - 2,776 \text{ Log } P + 0,221 \text{ cMR } +3,195 \quad (9)$$

$$(n= 8; R =0,949 S= 0,11399; F=12,119; \text{Sig } =0,018)$$

Persamaan diatas terpilih berdasarkan nilai-nilai statistika antara lain :

- Nilai Koefisien regresi mendekati 1 artinya meningkatnya hubungan antara aktivitas dan parameter-parameter pada persamaan tersebut
- Nilai signifikansi $<0,05$, dimana menunjukkan bahwa ada hubungan bermakna antara parameter-parameter kimia fisika dengan aktivitas SARSCOV2
- Nilai F cenderung besar dan standar deviasi relatif lebih kecil dibanding lainnya

Hasil tersebut menunjukkan bahwa pengaruh sifat lipofilik yang diwakili oleh Log P dan sterik sangat dominan dalam interaksi antara ligan dan reseptor SARSCOV2 dalam mencapai efek terapi. Melalui persamaan tersebut, dapat dikembangkan senyawa turunan N-4-benzoyl-N'-(4-fluorophenyl) yang memiliki sifat lipofilik yang relatif besar namun harus memenuhi kaidah lipinski serta gugus yang memiliki sifat sterik yang semakin meningkat juga [15].

4. Kesimpulan

Persamaan terbaik dalam hubungan kuantitatif struktur aktivitas antivirus SARSCOV2 pada senyawa N-4-benzoyl-N'-(4-fluorophenyl), sebagai berikut :

$$\text{Log } 1/C = 0,269 \text{ Log } P^2 - 2,776 \text{ Log } P + 0,221 \text{ cMR } +3,195$$

$$(n= 8; R =0,949 S= 0,11399; F=12,119; \text{Sig } =0,018)$$

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada DPPM Universitas Muhammadiyah Gresik yang telah mendanai penelitian internal ini.

Referensi

- [1] Susilo, A., Rumende, M. C., Pitoyo, W.C., Djoko, W., Santoso, Yulianti, M., Herikurniawan, Robert Sinto R., Singh, G. Nainggolan, L., Nelwan, E.J., Chen L.K, Widhani, A., Wijaya E., Wicaksana, B., Maksum M., Annisa, F., Jasirwan, C.O.M, Yunihastuti, E. (2020). Coronavirus Disease 2019: Tinjauan Literatur Terkini Coronavirus Disease 2019: Review of Current Literatures. Jurnal Penyakit Dalam Indonesia, 7(1), 45-67
- [2] Li, Q., Kang, C. (2020). Review Progress in Developing Inhibitors of SARS-CoV-2 3C-Like Protease. Microorganisms, 8, 1250
- [3] Sotriffer, C. A. (2016). Protein-Ligand Docking: From Basic Principles to Advanced Applications. In Cavasotto, C. N., In silico drug discovery and design, Theory, Methods, Challenges, and Applications, 155-188, New York : Crc Press.
- [4] Siswandono. (2016). Kimia Medisinal 1. Surabaya : Airlangga University Press
- [5] Kesuma, D., Nasyanka, A.L., Rudyanto, M., Siswandono, Purwanto, B.T., & Sumartha, I.G.A. (2020). A Prospective Modification Structure: The Effect Of Lipophilic And Electronic Properties Of N-(Phenylcarbamoithyol)Benzamide

- Derivatives On Cytotoxic Activity By In Silico And In Vitro Assay With T47d Cells. Rasayan Journal of Chemistry, 13 (3), 1914-1918*
- [6] Nasyanka, A.L. 2019. Quantitative Structure Cytotoxic Activity Relationship of Phenylthiourea Derivatives From ChEMBL Database On Sirtuin-1 Receptor By In Silico. *Farmasains : Jurnal Farmasi dan Ilmu Kesehatan*, 4(1): 25-30
- [7] Purwanto, B.T., Hardjono, S., Widiandani, T., Nasyanka, A.L., & Siswanto, I. (2021). [In Silico Study and ADMET prediction of N-\(4-fluorophenylcarbamoethyl\) Benzamide Derivatives as Cytotoxic Agents.](#) *Journal of Hunan University Natural Sciences*, 48(2),78-85
- [8] Hardjono, S., Widiandani, T., Purwanto, B.T., & Nasyanka, A.L. (2019). Molecular docking of N-benzoyl-N'-(4-fluorophenyl) thiourea derivatives as anticancer drug candidate and their ADMET prediction. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 12(5), 2160-2166
- [9] Taylor, R. D., Jewsbury, P. J. & Essex, J. W. (2002). A review of protein-small molecule docking methods. *Journal Computer Aided Molecule Design*, 16, 151-166
- [10] Benet, L.Z., Hosey, C.M., Ursu, O., Oprea, T.I. 2016. BDDCS, the Rule of 5 and Drugability. *Advance Drug Delivery Review*, 101, 89-98
- [11] Kesuma, D., Santosa, H., Nasyanka, A.L., & Ruswanto, R. (2021). [Quantitative Structure-Activity Relationship \(QSAR\) Of N-Benzoyl-N'-Phenylthiourea Compound And Derivatives In MCF-7 Cancer Cells.](#) *Rasayan Journal of Chemistry*, 14 (4), 2698-2704
- [12] Hsu, KC., Chen, YF., Lin, SR., Yang, and JM. (2011). iGEMDOCK: a graphical environment of enhancing GEMDOCK using pharmacological interactions and post-screening analysis . *BMC Bioinformatics*, 12(1), 533
- [13] Jenzen F. 2007. *Introduction to Computational Chemistry 2 nd Ed*, Denmark: Odense,
- [14] Roy, K., Kar, S., Das, R. N. 2015. *Understanding the basic of qsar for applications in pharmaceutical sciences and risk assessment.* Oxford : Academic Press
- [15] Kesuma, D., Siswandono, Purwanto, B.T., Rudyanto, M. 2020. Synthesis and anticancer evaluation of N-benzoyl-N'-phenylthiourea derivatives against human breast cancer cells (T47D). *Journal of Chinese Pharmaceutical Science*, 29(2), 123-129