

STUDI HKSA SENYAWA PIRAZOLO-(3,4-D)-PIRIMIDIN SEBAGAI INHIBITOR AXL DAN TYRO3 SERTA PERBANDINGANNYA DESKRIPTORNYA DENGAN INHIBITOR MER TIROSIN KINASE

Nursalam Hamzah

Jurusan Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan UIN Alauddin Makassar,
Jl Sultan Alauddin No. 36, Samata, Gowa
Email: nursalam.hamzah@yahoo.co.id

ABSTRAK

Mer Tirosin Kinase diekspresikan secara ektopik dalam sel T dan B pasien Leukemia Limfoblastik Akut (LLA), tetapi tidak diekspresikan pada sel T dan B manusia normal pada setiap tahap perkembangannya. Oleh karena itu, Mer tirosin kinase dapat menjadi target pengobatan LLA dengan selektifitas yang baik. Penghambatan fosforilasi reseptor Mer oleh suatu inhibitor transduksi sinyal dapat menurunkan proliferasi sel dan meningkatkan apoptosis, sehingga menekan perkembangan sel leukemia. Pirazolo-[3,4-d]-pirimidin adalah obat generasi baru yang bertindak sebagai inhibitor dari Mer tirosin kinase. Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan deskriptor yang berpengaruh terhadap aktivitas penghambatan reseptor Axl dan Tyro3, serta membandingkannya dengan deskriptor inhibitor Mer tirosin kinase, sehingga diperoleh senyawa turunan pirazolo-(3,4-d)-pirimidin dengan yang spesifik untuk inhibisi Mer. Pemodelan dan optimasi geometri menggunakan perangkat lunak HyperChem[®]. Struktur molekul optimasi geometri menggunakan metode *Ab initio*. Nilai prediktor dihitung menggunakan MOE[®] dan perhitungan statistik untuk menyusun persamaan HKSA menggunakan SPSS[®]. Persamaan terpilih ditentukan dengan kriteria statistik terbaik, yaitu r^2 , korelasi pearson, dan q^2 validasi *Leave One Out*. Lima deskriptor berperan penting dalam aktivitas inhibisi Axl dan Tyro3. Pengembangan senyawa yang selektif untuk menghambat aktivitas Mer dapat dibuat dengan modifikasi gugus yang meningkatkan volume van der waals dan penambahan gugus penarik elektron, sehingga dapat diperoleh obat dengan efek samping minimal.

Kata kunci: leukemia limfoblastik akut, pirazolo-[3,4-d]-pirimidin, Mer, Axl, Tyro3.

ABSTRACT

Mer Tyrosine Kinase is ectopically expressed in T and B cells of Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL) patient, but is not expressed in normal human T and B cells at any stage of its development. Therefore Mer Tyrosine Kinase can be a treatment target ALL with a good selectivity. Phosphorylation inhibition of Mer receptor by signal transduction inhibitor decreases cell proliferation and increases apoptosis, thereby suppressing the development of leukemia cells. Pirazolo-[3,4-d]-pyrimidines area new generation of drugs that act as inhibitors of Mer tyrosine kinase. The purposes of the present research are to determine descriptors that influence the inhibitory activity on Axl and Tyro3, and compare it with the Mer tyrosine kinase inhibitors descriptors, so that we can make derivative compounds pirazolo-(3,4-d)-pyrimidin with the specific inhibition on Mer.

Modeling and optimization geometry was carried out using HyperChem® software. Molecules structure were geometrically optimized using Ab initio method. Predictors values were computed using MOE® and statistical calculations of QSAR equations was carried out using SPSS®. The selected equation was determined by the best statistical criteria, such as r^2 , Pearson correlations, and q^2 Leave One Out validation. 5 descriptors play an important role in the inhibitory activity of Axl and Tyro3. Development of compounds that selectively inhibit the activity of Mer can be made by modifying groups that increases the volume of van der waals and the addition of an electron withdrawing groups, to obtain the drugs with minimal side effects.

Key words: acute lymphoblastic leukemia, pyrazolo-[3,4-d]-pyrimidine, Mer, Axl, Tyro3.

Pendahuluan

Leukemia merupakan penyakit yang jarang terjadi, tetapi insiden kematiannya cukup tinggi. Pada tahun 2008, insiden leukemia untuk setiap 100.000 penduduk pada negara maju adalah 9,1 untuk pria dan 6,0 pada wanita dengan kematian pada pria 53% dan wanita 48% dari total pasien. Sedangkan untuk negara kurang maju adalah 4,5 untuk pria dan 3,6 pada wanita dengan kematian pada pria 82% dan wanita 80% dari total pasien. Terdapat 5,8 (2.8%) insiden leukemia dari 206 pasien kanker untuk setiap 100.000 penduduk (Jemal dkk., 2008).

Umumnya leukemia terbagi atas dua yaitu akut dan kronik. Hal ini didasarkan pada perbedaan dalam sel asal dan pematangan sel *line*, presentasi klinis, cepatnya perkembangan penyakit yang tidak diobati, dan respon terhadap terapi. Empat leukemia utama yang diakui: leukemia limfositik (atau limfoblastik) akut (*Acute Lymphoblastic Leukemia/ALL*), leukemia mieloid akut (*Acute Myeloid Leukemia/AML*), leukemia limfositik kronis (*Cronic Lymphositic Leukemia/CLL*), dan leukemia mieloid kronis (*Cronic Myeloid Leukemia/CML*). Leukemia akut adalah

kanker yang paling umum pada anak-anak dan penyebab utama kematian terkait kanker pada pasien yang lebih muda dari usia 35 tahun (Dipiro dkk., 2008).

Mer adalah anggota dari keluarga reseptor tirosin kinase, disebut sebagai keluarga (Tyro3/Axl/Mer) TAM. Keluarga ini memiliki urutan kinase domain yang unik dan tentunya memiliki potensi untuk menjadi target selektif sehubungan dengan berbeda keluarga kinase lainnya. Mer tidak ditemukan dalam sel T dan B manusia dan tikus pada setiap tahap perkembangan limfosit, tetapi ditemukan sangat besar dalam sampel sel T *ALL* dan sel B *ALL*, akibat translokasi E2A-PBX1 yang secara drastis menghasilkan Mer-RNA. Ekspresi ektopik ini telah diidentifikasi sebagai produk sebagai kelangsungan hidup sel tumor pada sel *ALL* dan penyebab potensi resistensi kimia *ALL*.

Sebagaimana umumnya kelompok reseptor tirosin kinase (RTK), Mer terdapat pada membran sel (*trans-membran*) yang menghubungkan antara lingkungan ekstraselular ke sitoplasma dan nukleus. Reseptor TAM berfungsi sebagai reseptor *signaling* dalam regulasi pembersihan makrofag sel apoptosis, agregasi platelet dan

diferensiasi sel NK (*natural killer cells*) (Linger dkk., 2008).

ALL merupakan salah satu kanker ganas yang paling umum pada anak-anak. Pengobatan menggunakan kemoterapi saat ini masih menimbulkan masalah yang berhubungan dengan toksisitas jangka pendek dan jangka panjang. Oleh karena itu, senyawa baru dengan toksisitas yang rendah dan selektivitas yang baik sangat dibutuhkan. Reseptor Mer tirosin kinase yang diekspresikan secara ektopik dalam sampel sel *ALL*. Penghambatan ekspresi Mer mengurangi sinyal pro-hidup (*pro-survival signal*), khemosensitivitas meningkat, sehingga menunda perkembangan sel leukemia. Inhibitor Mer tirosin kinase adalah kandidat yang sangat baik sebagai target pengobatan leukemia. Pengembangan senyawa pirazolopirimidin menunjukkan keberhasilan sebagai strategi baru dalam pengobatan *ALL* (Linger dkk., 2008).

Penulis sebelumnya telah melakukan penelitian HKSA senyawa turunan pirazolo-(3,4-d)-pirimidin sebagai inhibitor Mer Tirosin Kinase (2012). Liu dkk. (2012) juga telah melakukan studi SAR (*Structure Activity Relationship*) senyawa turunan pirazolo-[3,4-d]-pirimidin terhadap aktivitas

inhibisi enzim Mer, Axl dan Tyro3 berdasarkan konstanta inhibisi ATP menggunakan *microfluidic capillary electrophoresis (MCE)*. Dari data tersebut dilanjutkan dengan studi HKSA terhadap senyawa turunan pirazolo-[3,4-d]-pirimidin sebagai inhibitor Axl dan Tyro3. Hasil HKSA ini akan diterapkan untuk memprediksi aktivitas beberapa senyawa turunan pirazolo-[3,4-d]-pirimidin. Hasil prediksi aktivitas diharapkan berguna dalam menentukan senyawa mana yang memiliki selektivitas yang lebih baik sehingga akan dilakukan disintesis dan uji selanjutnya. Tujuan penelitian ini adalah untuk memperoleh model HKSA senyawa turunan pirazolo-[3,4-d]-pirimidin sebagai inhibitor Axl dan Tyro3 serta membandingkan prediktor-prediktor model tersebut dengan Mer, sehingga dapat dikembangkan senyawa yang memiliki aktivitas yang lebih selektif.

Metode Penelitian

Software

HyperChem® Release 8.0, Molecular Operating Environment (MOE 2009.10), SPSS Statistics 17.0.

Hardware

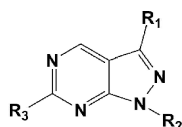
Prosesor: Intel® Core™ i5-3210M
CPU @ 2.50 GHz 2.50 GHz; RAM : 4 GB;

Tipe system: 64 bit *Operating System*;
Sistem Operasi : *Windows® 7 Professional*.

Prosedur

Penyusunan Model Persamaan HKSA

Pemodelan struktur senyawa dibuat dengan menggunakan paket program *HyperChem*. Senyawa-senyawa ini merupakan senyawa turunan pirazolo-[3,4-*d*]-pirimidin sesuai dengan hasil penelitian Liu (2012). Pembuatan model terdiri atas pemilihan atom, jenis ikatan, dan muatan total dari molekul uji. Struktur tiga dimensi (3D) setiap senyawa disimpan dalam format ekstensi *.hin.



Gambar 1. Struktur senyawa pirazolo-[3,4-*d*]-pirimidin dengan tiga posisi substituent.

Struktur senyawa dioptimasi dengan perangkat lunak *HyperChem* menggunakan metode *Ab initio* dengan parameter basis set minimal dan *convergence limit* 10^{-5} . File yang telah dioptimasi disimpan dalam format ekstensi *.mol. Hasil perhitungan *Ab initio* lebih akurat bila dibandingkan

dengan semiempirik, sebab *Ab initio* menyelesaikan semua persamaan mekanika kuantum secara eksak dan semua elektron yang ada diperhitungkan (Pranowo dkk., 2011).

Senyawa-senyawa yang akan dihitung nilai deskriptornya dibuka dengan MOE dan digabungkan dalam satu file dengan format *.mdb. Nilai deskriptor dikalkulasi menggunakan perangkat lunak MOE. Sebanyak 13 sifat kimia fisika dihitung yang mewakili parameter hidrofobik, elektronik dan sterik, sesuai dengan model HKSA dengan pendekatan Hansch.

Pencarian model persamaan terbaik menggunakan variabel tak bebas aktivitas inhibisi Mer ($\log 1/IC_{50}$) hasil eksperimen dan variabel bebas yang digunakan berupa nilai deskriptor. Semua variabel dianalisis menggunakan regresi multilinear metode *enter*. Hasil yang diperoleh berupa persamaan HKSA beserta nilai parameter statistik seperti nilai r , r^2 dan F . Nilai F menunjukkan kemaknaan hubungan bila dibandingkan dengan F tabel. Nilai F adalah indikator bilangan untuk menunjukkan bahwa hubungan, yang dinyatakan oleh persamaan yang didapat, adalah benar atau merupakan kejadian kebetulan. Untuk mendapatkan model dengan nilai

r tertinggi, dilakukan eliminasi senyawa yang memiliki deviasi terbesar berdasarkan nilai Z pada hasil komputasi MOE, dimana struktur senyawa dengan nilai $Z > 2$ dieliminasi dari perhitungan statistik. Selain parameter statistik tersebut, dari hasil perhitungan juga diperoleh nilai tetapan dan nilai koefisien setiap variable bebas yang terlibat dalam persamaan yang dihasilkan. Nilai koefisien yang diperoleh

digunakan untuk menghitung aktivitas inhibisi teoritis.

10 model persamaan terbaik selanjutnya divalidasi silang dengan metode *Leave One Out*, yaitu dengan cara setiap senyawa terprediksi dihilangkan dalam perhitungan analisis regresi linear. Nilai q^2 sebagai hasil validasi silang, dihitung menurut persamaan:

Tabel 1. Daftar deskriptor

No	Simbol pada software	Simbol Umum	Deskriptor
1	AM1_dipole	μ	Momen dipol
2	AM1_E	E_{Tot}	Energi total
3	AM1_Eele	E_{Ele}	Energi elektronik
4	AM1_HOMO	E_{HOMO}	Energi HOMO
5	AM1_LUMO	E_{LUMO}	Energi LUMO
6	AM1_HF	HF	Panas pembentukan
7	ASA_H	\AA	Luas permukaan hidrofobik
8	Glob	glob	Globularitas
9	log P (o/w)	log P	Koefisien partisi
10	log S	log S	Logaritma kelarutan dalam air
11	Mr	MR	Refraktivitas molar
12	vol_vdw	Vw	Volume Van Der Waals
13	Vol	vol	Volume molekuler

$$q^2 = 1 - \frac{\sum(y_i - \hat{y}_i)^2}{\sum(y_i - \bar{y})^2}$$

y_i = aktivitas eksperimen senyawa ke-i

\bar{y} = aktivitas eksperimen rata-rata

\hat{y}_i = aktivitas prediksi validasi silang

senyawa ke-i Persamaan HKSA yang dipilih adalah persamaan dengan nilai kriteria statistik terbaik dan memenuhi kriteria validasi yaitu $q^2 \geq 0.5$ (JinCan dkk., 2008)

Hasil dan Pembahasan

Kajian HKSA

Kajian HKSA menggunakan 12 senyawa. Pemilihan senyawa-senyawa ini didasarkan pada kemiripan kerangka

struktur dari senyawa tersebut, dan aktivitas inhibisi Axl dan Tyro3 diperoleh dari hasil penelitian Liu dkk. (2012). Nilai deskriptor untuk setiap senyawa dihitung dengan program MOE. Senyawa-senyawa yang digunakan harus memiliki nilai Z aktivitas ≤ 2 , yang berarti bahwa IC_{50} berada dibawah 2 kali simpangan baku (Tabel 2).

Hasil perhitungan prediktor yang didapat selanjutnya dianalisis statistik menggunakan analisis regresi multilinier dengan bantuan perangkat lunak SPSS 17. Prediktor-prediktor tersebut diregresikan terhadap aktivitas inhibisi Mer ($\text{Log } 1/IC_{50}$, μM) sebagai variabel dependen. Prediktor-prediktor diposisikan sebagai variabel independen pada proses analisis regresi dikombinasikan antara satu dengan lainnya dengan kombinasi 3 – 5 jenis prediktor.

Hasil regresi multilinier tersebut kemudian disusun dan dirangking berdasarkan nilai parameter statistik, meliputi koefisien korelasi (r), koefisien regresi (r^2), standar error (SE), kriteria Fischer (F) (lihat tabel 3 dan 4). 10 model persamaan terbaik kemudian divalidasi silang *leave-one-out* (LOO) menggunakan kriteria q^2 . Model persamaan harus memenuhi kriteria yaitu nilai $q^2 \geq 0,5$.

Pemeriksaan aktivitas prediksi yang dibuat oleh model ini dibandingkan dengan aktivitas eksperimen tidak menunjukkan pola yang jelas jika hanya aktivitas prediksi molekul yang diperiksa. Namun, jika pemeriksaan meliputi nilai q^2 , pola mulai berkembang. Nilai q^2 , dalam konteks ini, merupakan selisih kesalahan bahwa model dimana model tidak sesuai. Nilai-nilai q^2 yang lebih dekat ke 1 menunjukkan jumlah yang lebih kecil dari kesalahan, dan nilai-nilai yang lebih kecil dari 1 menunjukkan kuantitas yang lebih besar dari kesalahan yang tersisa. Nilai negatif dari q^2 menunjukkan ketidaksesuaian yang besar.

Model HKSA yang dipilih adalah model dengan nilai kriteria statistik terbaik. Tabel 5 menyajikan komparasi 4 kriteria statistik dari model-model persamaan yang memiliki nilai koefisien regresi r^2 dan validasi silang LOO q^2 tertinggi. Kedua nilai kriteria model-model persamaan ini tidak jauh berbeda sehingga sulit untuk menentukan persamaan terbaik jika hanya menggunakan kedua nilai kriteria ini. Untuk itu perlu ditentukan pula kriteria statistik lain yaitu koefisien regresi kurva hubungan IC_{50} eksperimen dengan prediksi dan nilai korelasi Pearson

descriptor (lihat tabel 6). Untuk HKSA inhibitor Axl, dipilih persamaan 1 sebab nilai koefisien regresi kurva hubungan IC₅₀ eksperimen dengan prediksi dan nilai korelasi Pearson deskriptor lebih besar dari persamaan 3. Persamaan 6 dipilih sebagai model persamaan HKSA inhibitor Tyro3 sebab memiliki nilai

korelasi Pearson deskriptor lebih baik dari pada persamaan 1 (Tabel 7).

Regresi multilinier terbaik berisi lima deskriptor menghasilkan korelasi yang kuat dengan hasil eksperimen ($r^2 > 0.98$)

Tabel 2. Nilai Aktivitas dan Z senyawa 9 dieliminasi dari perhitungan

Senyawa	Log sepeIC ₅₀ Axl	Nilai Z Axl	Nilai Z Axl yang baru	Log sepeIC ₅₀ Tyro3	Nilai Z Tyro3
9	-0.3802	2.3411*	-	-	-
13	0.4202	0.2369	0.5556	-1.1139	0.6524
14	1.0809	1.2604	1.2512	-0.4472	0.1887
15	0.7212	0.1738	0.3607	-0.5441	0.3769
16	1.0915	1.3772	1.1816	-0.1461	0.4867
17	0.4318	0.6208	1.7878	-0.6812	0.5638
39	1.9208	0.5049	0.8498	1.8539	0.5951
40	2.4318	0.8578	1.0806	1.6576	1.4271
41	2.3979	1.0046	1.2445	2.5376	1.9894
42	2.8539	0.4872	0.7713	2.2291	0.2505
43	1.4318	0.2806	0.5128	1.3188	1.4894
44	1.7959	0.4961	0.3268	0.8239	1.1011

Tabel 3. Rangkaing model persamaan untuk inhibitor Axl

No	Jumlah prediktor	Prediktor	R	r ²	Standar deviasi	Fischer	signifkansi	q ²
1	5	vol, AM1_HF, AM1_HOMO, glob, AM1_Eele	0.9927	0.9855	0.1430	67.78	1.36E-04	0.9047
2	5	vol, AM1_LUMO, AM1_HF, glob, AM1_Eele	0.9926	0.9853	0.1436	67.20	1.39E-04	0.9149
3	5	vdw_vol, LogP, AM1_HF, glob, vol	0.9917	0.9836	0.1521	59.80	1.85E-04	0.9160
4	5	vol, LogP, glob, LogS, mr	0.9914	0.9829	0.1549	57.63	2.03E-04	0.8932
5	5	vdw_vol, AM1_LUMO, AM1_HF, glob, AM1_E	0.9911	0.9823	0.1578	55.50	2.22E-04	0.8832
6	5	vol, AM1_HF, glob, AM1_E, AM1_Eele	0.9904	0.9810	0.1636	51.52	2.66E-04	0.9085
7	5	vdw_vol, AM1_HF, LogS, glob, vol	0.9902	0.9804	0.1659	50.08	2.85E-04	0.8954
8	5	vdw_vol, LogP, glob, LogS, mr	0.9888	0.9777	0.1770	43.91	3.92E-04	0.9010
9	5	vol, LogP, AM1_HF, glob, AM1_Eele	0.9884	0.9769	0.1803	42.26	4.31E-04	0.9061

10	5	vol, AM1_HF, LogS, glob, AM1_Eele	0.9884	0.9769	0.1803	42.25	4.31E-04	0.9015
----	---	-----------------------------------	--------	--------	--------	-------	----------	--------

Tabel 4. Ranging model persamaan untuk inhibitor Tyro3

No	Jumlah prediktor	Prediktor	R	r ²	Standar deviasi	Fischer	signifikansi	q ²
1	5	vdw_vol, AM1_LUMO, LogP, glob, mr	0.9971	0.9943	0.1401	3.41	1.34E-05	0.9607
2	5	vdw_vol, LogP, AM1_HOMO, glob, mr	0.9964	0.9928	0.1569	138.21	2.36E-05	0.9658
3	5	vol, AM1_LUMO, AM1_HF, AM1_HOMO, AM1_E	0.9964	0.9927	0.1579	136.40	2.44E-05	0.9592
4	5	vdw_vol, LogS, glob, AM1_E, mr	0.9960	0.9920	0.1660	123.36	3.12E-05	0.9717
5	5	mr, AM1_dipole, LogS, AM1_E, AM1_Eele	0.9960	0.9919	0.1663	122.96	3.15E-05	0.9584
6	5	vdw_vol, LogS, glob, mr, AM1_Eele	0.9960	0.9919	0.1663	122.87	3.15E-05	0.9732
7	5	vol, AM1_LUMO, AM1_HF, AM1_HOMO, AM1_Eele	0.9959	0.9919	0.1667	122.35	3.19E-05	0.9446
8	5	vol, LogS, glob, mr, AM1_Eele	0.9959	0.9918	0.1673	121.47	3.24E-05	0.9616
9	5	LogS, AM1_HF, AM1_LUMO, AM1_E, AM1_Eele	0.9958	0.9917	0.1691	118.82	3.43E-05	0.9423
10	5	vol, LogP, AM1_HF, LogS, mr	0.9956	0.9913	0.1731	113.42	3.84E-05	0.9555

Tabel 5. Perbandingan persamaan antar model persamaan dengan kriteria statistik terbaik

Aktivitas	Model persamaan	A	B	C	D
Inhibitor Axl	1 ^{*♦}	0.9855	0.9047	1 S, 4 SS	0.969
	3 ^{**}	0.9836	0.9160	1 S, 3 SS	0.9194
Inhibitor Tyro3	1 [*]	0.9943	0.9607	1 S, 2 SS	0.9746
	6 ^{**♦}	0.9919	0.9732	2 S, 3 SS	0.9696

A : r² model persamaan, * Model persamaan dengan nilai r2 tertinggi,

B : q² validasi silang leave one out, ** Model persamaan dengan nilai validasi silang LOO tertinggi.

C : Signifikansi Korelasi Pearson Deskriptor, ♦ Model persamaan yang dipilih

D : r² kurva hubungan IC₅₀ Eksperimen dengan Prediksi,

S : Signifikan,

SS : Sangat Signifikan.

Tabel 6. Korelasi Pearson prediktor inhibitor Axl dengan log 1/IC₅₀

Persamaan 1 (dengan nilai koefisien regresi (r ²) terbaik)					
Korelasi Pearson	AM1_Eele	AM1_HF	AM1_HOMO	Glob	Vol
Log 1/IC ₅₀	-0.9593**	0.6218*	0.7476**	-0.7646**	0.9629**
Signifikansi	3.06 E-06	0.042	0.008172	0.00613	2.01 E-06

* korelasi signifikansi pada level 0.05 1 deskriptor

** korelasi signifikansi pada level 0.01 4 deskriptor

Persamaan 3 (dengan nilai validasi silang *Leave One Out* q^2 terbaik)

Korelasi Pearson	AM1_HF	glob	LogP	vdw_vol	Vol
Log 1/IC ₅₀	0.622*	-0.765**	0.537	0.963**	0.963**
Signifikansi	4.11E-02	6.13E-03	8.87E-02	2.12E-06	2.01E-06

* korelasi signifikansi pada level 0.05 1 deskriptor
 ** korelasi signifikansi pada level 0.01 3 deskriptor

Tabel 7. Korelasi Pearson prediktor inhibitor Tyro3 dengan log 1/IC₅₀

Persamaan 1 (dengan nilai koefisien regresi (r^2) terbaik)

Korelasi Pearson	AM1_LUMO	glob	LogP	mr	vdw_vol
Log 1/IC ₅₀	-0.1772	-0.6999*	0.4875	0.8965**	0.9102**
Signifikansi	0.6022	0.0165	0.1283	0.0002	0.0001

* korelasi signifikansi pada level 0.05 1 deskriptor
 ** korelasi signifikansi pada level 0.01 2 deskriptor

Persamaan 6 (dengan nilai validasi silang *Leave One Out* q^2 terbaik)

Korelasi Pearson	AM1_Eele	glob	LogS	mr	vdw_vol
Log 1/IC ₅₀	-0.912**	-0.700*	-0.648*	0.897**	0.910**
Signifikansi	9.01E-05	1.65E-02	3.12E-02	1.86E-04	1.00E-04

* korelasi signifikansi pada level 0.05 2 deskriptor
 ** korelasi signifikansi pada level 0.01 3 deskriptor

Tabel 8. Nilai IC₅₀ inhibisi model persamaan terbaik

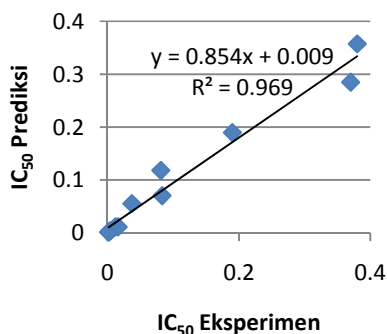
Senyawa	IC ₅₀ Axl (μ M) Persamaan 1		IC ₅₀ Tyro3 (μ M) Persamaan 6	
	Eksperimen	Prediksi	Eksperimen	Prediksi
13	0.38	0.35727	13	13.1122
14	0.083	0.07049	2.8	2.6214
15	0.19	0.18966	3.5	3.3257
16	0.081	0.11824	1.4	2.5067
17	0.37	0.28499	4.8	2.9378
39	0.012	0.01178	0.014	0.0119
40	0.0037	0.00376	0.022	0.0266
41	0.004	0.00367	0.0029	0.0027
42	0.0014	0.00159	0.0059	0.0059
43	0.037	0.05553	0.048	0.0598
44	0.016	0.01146	0.15	0.1256

Sebagian deskriptor tampaknya termasuk deskriptor yang relevan dengan interaksi protein-ligan, yaitu deskriptor elektronik dan sterik. Deskriptor dalam model ini memungkinkan untuk ditafsirkan untuk modifikasi struktur secara sistematis dalam rangka mengembangkan SAR yang

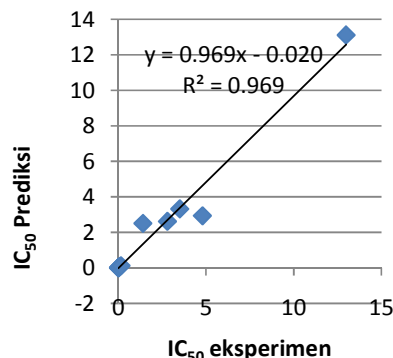
pada akhirnya akan mengarah pada inhibitor lebih kuat dan spesifik.

Berdasarkan penelitian Jing Liu (2012), tampak bahwa sebuah gugus aril lebih dipilih pada posisi R1 dan gugus alkil lebih dipilih di posisi R3. Hal ini sesuai dengan deskriptor yang diidentifikasi paling berpengaruh,

termasuk dalam deskriptor sterik. Pada model persamaan inhibitor Mer deskriptor yang paling berpengaruh adalah refraktifitas molar (mr)



Gambar 2. Kurva hubungan IC₅₀ inhibitor Axl eksperimen dan prediksi persamaan 1



Gambar 3. Kurva hubungan IC₅₀ inhibitor Tyro3 eksperimen dan prediksi persamaan 6.

Tabel 9. Model persamaan terpilih (inhibitor reseptor keluarga TAM)

Reseptor	Model Persamaan Terpilih
Log 1/IC ₅₀ Mer	1.731 - 3.201 AM1_LUMO - 0.065 ASA_H - 0.846 LogS - 8.348 mr + 0.243 vdw_vol
Log 1/IC ₅₀ Axl	- 20.995 + 2.24E-005 AM1_Eele - 0.016 AM1_HF - 1.835 AM1_HOMO - 36.317 glob + 0.078 vol,
Log 1/IC ₅₀ Tyro3	1.924 + 0.089 vdw_vol - 1.028 LogS - 21.113 Glob - 5.940 mr - 1.42E-05 AM1_Eele

Model persamaan inhibitor Mer diperoleh dari penelitian penulis sebelumnya (Hamzah, 2012). Untuk persamaan inhibitor axl adalah volume (vol) dan untuk persamaan inhibitor Tyro3 adalah volume van der waals (vdw_vol). Terdapat kesamaan deskriptor inhibitor MER dan Tyro3 yang berpengaruh sangat signifikan yaitu vdw_vol dan mr, tetapi memiliki nilai koefisien persamaan yang berbeda (Tabel 9). Penambahan gugus

meruah/*bulky* sebagai substituen akan meningkatkan aktivitas MER dan Tyro3, tetapi karena koefisien persamaan inhibitor Mer vdw_vol lebih besar daripada Tyro3 (0.243 : 0.089), maka aktivitas inhibitor Mer akan meningkat lebih besar daripada Tyro3. Selain itu, deskriptor elektronik inhibitor Mer memiliki pengaruh berlawanan terhadap aktivitas bila dibandingkan deskriptor elektronik inhibitor Axl. Penurunan energi LUMO atau peningkatan energi

HOMO akan meningkatkan aktivitas inhibisi MER dan menurunkan aktivitas inhibisi Axl, sehingga penambahan substituen gugus pendorong elektron akan meningkatkan selektivitas inhibisi Mer. Gugus penarik elektron menurunkan energi orbital molekul, sedangkan gugus pendonor elektron meningkatkan energi orbital molekul. Gugus pendorong elektron mempengaruhi sistem π sehingga meningkatkan energi HOMO dan menurunkan energi LUMO. Gugus penarik elektron mempengaruhi sistem π sehingga menurunkan energi HOMO dan menaikkan energi LUMO.

Selain itu, sebagian deskriptor termasuk deskriptor yang relevan dengan interaksi protein-ligan, yaitu deskriptor elektronik dan sterik. Deskriptor dalam model ini memungkinkan untuk ditafsirkan untuk modifikasi struktur secara sistematis dalam rangka mengembangkan obat baru yang pada akhirnya akan mengarah pada inhibitor lebih kuat dan spesifik.

Kesimpulan

Hubungan kuantitatif struktur dan aktivitas senyawa turunan pirazolo-[3,4-d]-pirimidin sebagai inhibitor Axl dan Tyro3 menunjukkan bahwa lima

prediktor berpengaruh terhadap aktivitas senyawa (Tabel 9). Deskriptor sterik (v_{dw_vol}) dan elektronik (penurunan energi HOMO atau kenaikan energi LUMO) dapat meningkatkan aktivitas inhibisi Mer, tetapi menurunkan aktivitas inhibisi Axl dan Tyro3. Modifikasi dengan penambahan gugus *bulky* dan gugus penarik elektron dapat meningkatkan selektivitas inhibisi Mer tirosin kinase, sehingga menurunkan efek samping.

Pustaka

- DiPiro, J.T., Talbert, R.L., Yee, G.C, Matzke, G.R., Wells, B.G., dan Posey, L.M., 2008, *Pharmacotherapy: A Pathophysiologic Approach*, Edisi ke-7, McGraw-Hill Co. Inc., New York, 2259.
- Hamzah, N., *Studi Hubungan Kuantitatif Struktur-Aktivitas, Fitur Farmakofor dan Docking Molekuler Senyawa Turunan Pirazolo-(3,4-D)-pirimidin sebagai Inhibitor Mer Tirosin Kinase*, Tesis, Institut Teknologi Bandung, 2013, Bandung.
- Jemal, A, Siegel, R., Ward, E., Hao, Y., Xu, J., Murray T, Thun MJ., 2008, Cancer statistik 2008, *CA Cancer J Clin.* **58**(2):71-96.
- JinCan, C., Li, Q., Yong, S., LanMei, C., dan KangCheng, Z.A., 2008, QSAR Study and Molecular Design of Benzothiazole Derivatives as A Potent Anticancer Agents, *Sci. in China Ser B.*, **51**(2), 111-119

- Linger, R. M. A.; Keating, A. K.; Earp, H. S.; Graham, D. K., 2008, TAM Receptor Tyrosine Kinases: Biologic Functions, Signaling, and Potential Therapeutic Targeting in Human Cancer. *In Advanced Cancer Research*; Academic Press: New York, **100**, 35-83.
- Liu, J., Yang, C., Simpson, C., DeRyckere, D., Van Deusen, A., Miley, M., J., Kireev, D., Norris-Drouin, J., Sather, S., Hunter, D., Korboukh, V.K., Patel, H.S., Janzen, W.P., Machius, M., Johnson, G.L., Earp, H.S., Graham, D.K., Frye, S.V., Wang, X., 2012, Discovery of SmALL Molecule Mer Kinase Inhibitors for the Treatment of Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia, *Med. Chem. Lett.*, **3**(2), 129-134
- Pranowo, H.D., Hetadi, A.K.B., 2011, *Pengantar Kimia Komputasi*, Lubuk Agung, Bandung,