

KAJIAN DOCKING MOLEKULAR PADA BINDING SITE POCKETDARI FLAVOPIRIDOL DALAM MENGHAMBAT GLIKOGENFOSFORILASE MENGGUNAKAN PyRx-AUTODOCK-VINA

Miftah Farid Yoga Pratama¹⁾, Subhan Rosyad Abidi²⁾, Khisma Arum Firdaus³⁾, Alif Fitri Aulia⁴⁾ dan Broto Santoso⁵⁾

Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta

¹email: miftahfaridyogapratama@gmail.com

²email: subhan.ra037@gmail.com

³email: arum.khisma@gmail.com

⁴email: aalif.aulia@gmail.com

⁵email: Broto.Santoso@ums.ac.id

Abstract

Inhibition of the enzyme glycogen phosphorylase which break down glycogen into glucose 1-phosphate (glycogenolysis) is a target in the treatment of type 2 diabetes milletus. Interaction mechanism between glycogen phosphorylase with flavopiridol studied with molecular docking method for efficiently. Molecular docking use a set of brand ACER laptop with Intel Core i3 processor, 2GB RAM and VGA Intel (R) HD Graphics 3000 operating system windows 7 32bit. Software PyRx-Autodock-Vina, Chimera, MarvinSketch, MarvinSpace, PyMOL and Protein Ligand Interaction Profiler (PLIP) were used. Molecular docking involves 1c8k target protein, active compound, 100 decoys compound from www.dekois.com, CPB native ligand, active compound that has been marketed, drug compounds c21h20CINO5 (UNII-DRP53ZDY6H), ROHITUKINE, RIVICICLIB, and C21H20CLNO4 (CHE48614). Docking results obtained from the four drug compounds that were tested had the ability molecular interactions better as glycogen phosphorylase inhibitor than the native ligand of the target protein 1C8K so that it can be further developed in the laboratory in vitro and in vivo, similarity between the nature of the native ligand (1c8k) with best novel (test ligand) , when seen from the value of binding affinity zer on novel compounds showed greater potency than the native ligand as an antidiabetic

Keywords: *antidiabetic, glycogen phosphorylase, molecular docking, flavopiridol's binding site pocket, PyRx-AutoDock-Vina*

1. PENDAHULUAN

Diabetes mellitus (DM) merupakan gangguan metabolisme yang terus meningkat di dunia. Penyakit DM tipe 2 merupakan jenis yang paling banyak ditemukan, yaitu lebih dari 90-95% (American Diabetes Association, 2016).

Sementara itu, di Indonesia prevalensi DM tahun 2013 sebesar 2,1 % dan di Jawa Tengah sebesar 2,0 % (RISKESDAS, 2013).

Terapi DM tipe 2 dengan obat-obatan antidiabetes masih efektif untuk menurunkan kadar glukosa namun efek samping obat yang ditimbulkan untuk jangka panjang menjadi terakumulasi.

Pengembangan obat antidiabetes terus dilakukan guna memperoleh obat yang efektif dalam mengontrol kadar glukosa darah dengan efek samping yang minimum. Rancangan obat yang rasional dapat dikembangkan menggunakan komputasi dengan metode *molecular docking*. Metode *molecular docking* membutuhkan waktu dan biaya yang lebih sedikit dibandingkan dengan uji laboratorium. *Molecular docking* digunakan untuk memberikan gambaran tentang interaksi, ikatan, maupun afinitas suatu ligan (obat) dengan reseptor, maupun enzim dengan substrat atau inhibitor, serta dapat berguna dalam pengembangan

senyawa dengan aktivitas yang lebih baik (Agistia *et al.*, 2013). Salah satu program untuk *docking* yang gratis adalah PyRx: AutodockVina. Perangkat lunak ini memiliki tingkat akurasi tinggi dan cara penggunaan yang mudah (Sandeep *et al.*, 2011).

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa penghambatan enzim glikogen fosforilase memiliki potensi sebagai terapi pengobatan DM tipe 2 (Aiston *et al.*, 2001, 2003; McCormack *et al.*, 2001; Treadway *et al.*, 2001). Flavopiridol berperan sebagai inhibitor enzim glikogen fosforilase yang memiliki target protein 1c8k. Protein ini dihambat agar tidak menempati reseptor sehingga aktivitas enzim glikogen fosforilase dalam pembentukan glukosa berkurang. Senyawa flavopiridol dapat menghambat kedua bentuk enzim defosforilase (GPb) dan SER fosforilase (GPa) (Oikonomakos *et al.*, 2000). Santoso *et al.* (2015) telah melaporkan penelitian *in silico* turunan zerumbon yang digunakan penelitian ini terhadap PTP1B.

Penelitian ini bertujuan untuk memberikan gambaran mengenai interaksi antara glikogen fosforilase dengan flavopiridol serta untuk memprediksi aktivitas senyawa obat yang dapat dikembangkan menjadi obat antidiabetes.

2. KAJIAN LITERATUR

Glikogen fosforilase

Glikogen fosforilase (GP) merupakan enzim yang berperan dalam pengaturan kadar glukosa darah. Enzim glikogen fosforilase bekerja pada proses glikolisis dengan memecah glikogen menjadi glukosa-1-fosfat (G-1-P). Penghambatan kerja GP dapat menjadi target terapi pada DM 2 (Treadway, Mendys and Hoover, 2001). Diantara *binding site* pada enzim yang meliputi sisi katalitik dan allosterik merupakan target spesifik inhibitor (Somsaet *al.* 2001, 2003; Treadway *et al.* 2001; Oikonomakos 2002; Kurukulasuriya *et al.* 2003).

Molecular docking

Molecular docking merupakan metode yang tepat untuk memberikan gambaran

interaksi penghambatan glikogen fosforilase oleh *binding site* dari flavopiridol. *Molecular docking* merupakan salah satu metode *Rational Drug Design* (RDD) untuk pencocokan molekul obat dengan reseptor. *Docking* adalah proses pencocokkan dua molekul dalam ruang 3D (Ramya *et al.*, 2011).

Docking merupakan metode memprediksi orientasi molekul yang saling berikatan untuk membentuk kompleks yang stabil. Umumnya, tujuan *docking* ada 2 yaitu permodelan struktur yang akurat dan memprediksi aktivitas (Kitchen *et al.*, 2004). Pendekatan yang digunakan untuk indentifikasi senyawa ialah senyawa yang memiliki bobot molekul yang rendah dan afinitas binding pada range mikromolekular, nilai afinitas merupakan parameter untuk menentukan senyawa yang memiliki efek terapi (Sheinerman, Giraud and Laoui, 2005).

3. METODE PENELITIAN

Perangkat keras yang digunakan laptop dengan merek ACER Travelmate dengan spesifikasi prosesor Intel core-i3, RAM 2 Gb dan VGA Intel^(R) HD graphics 3000 dengan sistem operasi Windows 7 32bit. Perangkat lunak yang digunakan PyRx AutoDock Vina, Chimera, MarvinBeans Suite, PyMOL dan PLIP.

Protein target 1c8k, senyawa aktif pembanding, senyawa decoys dan senyawa aktif yang telah dipasarkan, senyawa obat UNII-DRP53ZDY6H, ROHITUKINE, RIVICICLIB, dan ChEMBL48614 yang diperoleh dari www.pdb.org.

1. Preparasi ligan dan protein

Pada tahap ini menyiapkan senyawa ligan dan protein dengan menggunakan chimera, protein target yang telah disiapkan lalu dipotong menjadi 1 chain dan untuk mendapatkan ligan native dapat menggunakan protein yang sudah dipotong lalu dipilih dari sisi residue yang telah ditentukan.

2. Docking molekuler

Proses ini menggunakan aplikasi Pyrx autodock Vina yang didalamnya terdapat

beberapa metode yakni Autodock Vina, Simulated Annealing (SA), Genetic Algorithm (GA) atau Lamarckian Genetic Algorithm (LGA). Senyawa yang telah disiapkan lalu dimasukkan kedalam aplikasi dan dilakukan proses docking berdasarkan metode yang dipilih. Hasil yang didapat dari aplikasi tersebut berupa konformasi 3D dan nilai *binding affinity*

3. Visualisasi Hasil

Setelah dilakukan proses docking lalu dipilih senyawa yang mempunyai nilai score binding affinity terbaik dan untuk melihat senyawa yang telah didocking dapat dilihat dengan aplikasi PyMOL, selain melihat hasil docking perlu diketahui juga interaksi yang terjadi didalam senyawa hasil docking dengan PLIP.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

Ligand dan protein target yang didapat setelah melalui proses preparasi dengan aplikasi Chimera menghasilkan nilai gridbox dan protein dengan jumlah 1 chain.



Gambar 1. Hasil preparasi A. ligan B. protein dengan aplikasi Chimera

Senyawa riviciclib (metode vina dan AD-LGA) dan CHEMBL48614 (metode AD-LGA, AD-SA dan AD-GA) memiliki *binding affinity* yang lebih kecil dibandingkan *native ligand*. Hal ini menunjukkan bahwa hasil *docking* dari senyawa riviciclib dan CHEMBL48614 memiliki hasil yang relatif lebih baik daripada *nativeligand*, sedangkan senyawa UNII-DRP53ZDY6H dan rohukitin memiliki *binding affinity* yang lebih besar dibandingkan *native ligand*, (**Tabel 1**).

Senyawa ZER17 sebagai *novel* yang menunjukkan nilai *binding affinity* terbaik hanya pada algoritma vina dan pada SA, GA dan LGA tidak bisa melebihi nilai *native ligand*, dataset dan *decoys* (**Tabel 1**).

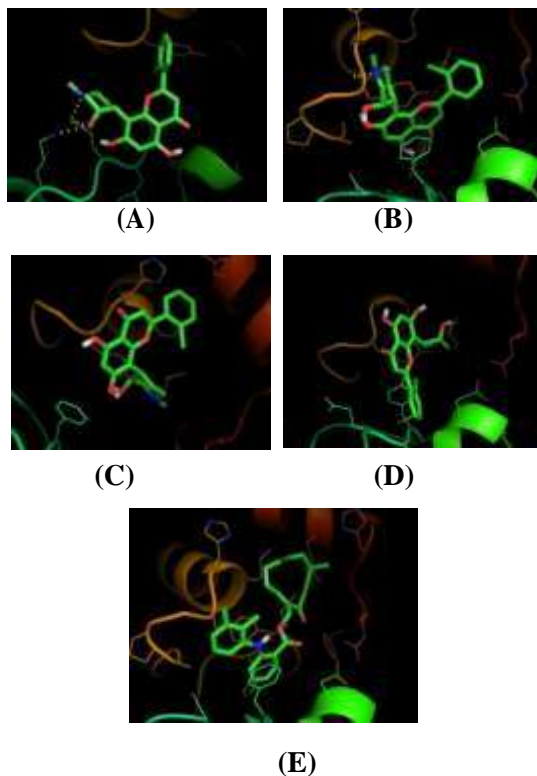
Hasil analisis PLIP (*Protein-Ligand Interaction Profiler*) digunakan untuk memprediksi interaksi antara protein target yang diuji (1C8K) dengan ligannya (Mysinger *et al.*, 2011). *Binding site* protein merupakan area dari pengikatan protein terhadap molekul-molekul dan ion-ion (ligan) yang akan mempengaruhi konformasi maupun fungsi dari protein. Area *binding site* melibatkan residu-residu asam amino yang berperan penting pada pengikatan dengan ligan.

Tabel 1. *Binding affinity* (kcal/mol)

Senyawa	Vina	AD-LGA	AD-GA	AD-SA
<i>Native ligand</i>	-9.9	-7.95	-6.88	-4.68
UNII-DRP53ZDY6H	-9.6	-7.53	-5.8	-2.89
ROHUKITIN	-8.1	-6.42	-5.78	-2.39
RIVICICLIB	-9.9	-8.33	-5.6	-3.5
CHEMBL48614	-9.4	-8.49	-7.31	-5.21
Best-dataset-1	-10.5 Chembl 196600 1	-8.77 Chembl 133832	-7.58 Chembl 13923	-4.94 Chembl 137196
Best-dataset-2	-10.1 Chembl 194245	-8.36 Chembl 137198 6	-7.51 Chembl 137308 2	-4.32 Chembl 133733 2
Best-Novel-1	-10.8 zer17	-7.84 zer17	-6.71 Zer 17	-4.06 zer_b31 YP
Best-Novel-2	-5.8 zer02	-7.42 zer	-6.67 zer	-2.99 zer11
Best-Decoys-1	-10.6 Zinc 643921 70	-9.51 Zinc 545014 06	-7.51 Zinc 663736 89	-4.82 Zinc 545014 06
Best-Decoys-2	-10.1 Zinc 071128 196	-9.29 Zinc 396653 91	-8.11 Zinc 633728 04	-4.55 Zinc 455410 54

Interaksi yang terjadi antara ligan dan residu-residu asam amino makromolekul terbentuk sebagai ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik dan interaksi elektrostatis. Pembentukan ikatan hidrofobik

meminimalkan interaksi residu nonpolar dengan air. Hidrofobik merupakan residu dari asam amino yang bersifat nonpolar. Residu asam amino yang bersifat nonpolar (hidrofobik) cenderung membentuk kelompok pada bagian interior protein (Syahputra, 2014). Semakin banyak residu yang mirip antara *native ligand* dan suatu senyawa, maka tingkat kemiripan sifatnya akan semakin tinggi.

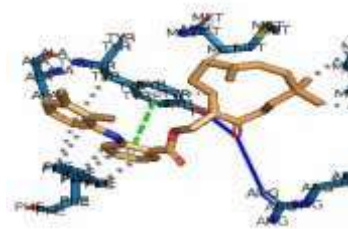


Gambar 2. Konformasi 3D hasil *docking* ligan native dan senyawa zer terhadap protein 1C8K dengan algoritma (A);ligan native GA (B); ligan native LGA (C);ligan native SA (D) ligan native Vina (E) senyawa zer dengan menggunakan aplikasi PyMOL

Ikatan hidogen pada *native ligand* dibentuk oleh beberapa residu yang mirip, antara lain PHE 285 (Vina, AD-LGA dan AD-GA), TYR 613 (AD-LGA dan AD-GA), GLU 382 (AD-LGA) dan GLY 612 (AD-GA), sedangkan pada algoritma AD-SA tidak terdapat residu. Residu interaksi hidrofobik yang muncul pada *native ligand*, yaitu GLY 612 (AD-LGA dan AD-GA) dan GLU 382 (Vina) (tabel 2).

Residu ikatan hidrogen PHE 285 (Vina dan AD-LGA) dan TYR 613 (AD-LGA) ditemukan mirip antara *native ligand* dan senyawa *best novel*, sedangkan GLY 612 (AD-GA) adalah residu interaksi hidrofobik yang ditemukan mirip antara *native ligand* dan senyawa *best novel*. Kemiripan residu antara *native ligand* dan senyawa *best novel* tidak ditemukan pada algoritma AD-SA.

Residu PHE 285 adalah residu ikatan hidrogen yang ditemukan mirip dengan *native ligand* pada algoritma Vina (riviciclib dan CHEMBL48614), sedangkan residu ikatan hidrofobik yang mirip adalah GLU 382 (rohukitin dan CHEMBL48614). Residu ikatan hidrofobik PHE 285 dan TYR 613 yang mirip dengan *native ligand* muncul hampir pada setiap senyawa dalam algoritma AD-LGA, sedangkan GLU 382 hanya terdapat pada *native ligand* dan senyawa UNII-DRP53ZDY6H. Residu interaksi hidrofobik GLY 612 yang mirip ditemukan (*native ligand*, rohukitin dan riviciclib) pada algoritma AD-LGA. Residu ikatan hidrogen PHE 285 (rohukitin dan riviciclib) dan TYR 613 (rohukitin dan CHEMBL48614) ditemukan mirip dengan *native ligand* pada algoritma AD-GA, sedangkan GLY 612 merupakan residu interaksi hidrofobik yang ditemukan mirip dengan *native ligand* dimiliki oleh CHEMBL48614. Hasil docking dengan algoritma AD-SA tidak ditemukan kemiripan residu ikatan hidrogen dan interaksi hidrofobik dengan *native ligand*.



Gambar 2. Konformasi 3D hasil *docking* senyawa zer terhadap protein 1C8K dengan algoritma Vina dengan menggunakan aplikasi plip

Residu PHE 285 dan TYR 613 dalam konformasi merupakan residu karakteristik dan yang paling dominan dalam flavopiridol (ligan

native reseptor 4yu1) (Oikonomakos *et al.*, 2000).

5. SIMPULAN

Berdasarkan *docking* molekular yang telah dilakukan, diperoleh kemiripan sifat antara *nativeligand* (1c8k) dengan *best novel* (ligan uji), jika dilihat dari nilai *binding affinity*, senyawa ZER17 menunjukkan potensi yang lebih besar sebagai antidiabetes daripada *native ligand*.

6. REFERENSI

- American Diabetes Asociation, 2016, *Diabetes Type 1*, Terdapat di: <http://www.diabetes.org/diabetes-basics/type-1> [Diakses pada 20 juni 2016].
- Anderka O., Loenze P., Klabunde T., Dreyer M.K., Defossa E., Wendt K.U., and Schmoll D. 2008. Thermodynamic Characterization of Allosteric Glycogen Phosphorylase Inhibitors. *Biochemistry* 2008, 47, 4683–4691.
- Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian RI, 2013, Riset Kesehatan Dasar.
- Kitchen D.B., Decornez H., Furr J. D., & Bajorath J., 2004, Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications, *Nature Reviews Drug Discovery*, 3(11), 935–949.
- Lins L. and Brasseur R., 1995, The hydrophobic effect in protein folding, *The FASEB J.* 9(7): 535–540.
- Oikonomakos N.G., Schnier J.B., Zographos S.E., Skamnaki V.T., Tsitsanou K.E. and Johnson L.N., 2000, Flavopiridol Inhibits Glycogen Phosphorylase by Binding at the Inhibitor Site. *J Biol Chem.* 275 (44), 34566–34573.
- Santoso B., Haqqi M., Da' i M., Hanwar D. and Suhendi A., 2016, Zerumbon dengan Protein Tyrosine Phosphatase 1B (PTP1B), 221–228.
- Setiawan F.F. and Istyastono E.P., 2015, Uji *In Silico* Senyawa 2,6-Dihidroksiantraquinon Sebagai Ligan Pada Reseptor Estrogen Alfa, *Jurnal Farmasi Sains Dan Komunitas*, Vol. 12 No. 2 hlm. 76-79.
- Syahputra G., 2014, Simulasi Docking Senyawa Kurkumin Dan Analognya Sebagai Inhibitor Enzim 12-Lipoksigenase, Tesis, IPB Bogor Indonesia.
- Yuniyati L., 2014, Pemodelan Tiga Dimensi (3d) Ikatan Hasil *Docking* Molekular Turunan Diketopiperazin (Dkp) Dengan Bcl-2 Pada Sel MCF-7, *Naskah Publikasi*, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.
- Sheinerman, F. B.; Giraud, E.; Laoui, A. 2005. High affinity targets of protein kinase inhibitors have similar residues at the positions energetically important for binding. *J. Mol. Biol.*, 352, 1134-1156).
- Treadway JL, Mendys P, and Hoover DJ, 2005, Glycogen phosphorylase inhibitors for treatment of type 2 diabetes mellitus. *Exp Opin Invest Drugs* 10:439–444
- Ramya T. Sri, V. Sathyanathan, Kumar D. P., Chowdhari M, 2011, Docking Studies on Synthesized Quinazoline Compounds Against Androgen Receptor. *Int. J. Pharm & Ind. Res* 01 (04): 266 – 269.