

EVALUASI INTERAKSI TIGA DIMENSI INHIBITOR GLIKOGEN FOSFORILASE (3CEM) MENGGUNAKAN VINA DAN AUTODOCK

Arsy Asyafra Nabila¹, Rizmi Febriani², Lamtana Eka³ Kartikasari⁴, Isna Anggaranti⁴ dan Broto Santoso⁵

Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Jawa Tengah Indonesia

¹email: asyafranabils@gmail.com

²email: rizmifebriani@gmail.com

³email: lamtanakartikasari@gmail.com

⁴email: rara.anggaranti40@gmail.com

⁵email: Broto.Santoso@ums.ac.id

Abstract

Glycogen phosphorylase is a target in the treatment of diabetes type 2. The high-potential drug compounds as inhibitors of glycogen phosphorylase and use of target proteins 3CEM. Docking using a set of Acer brand laptop with intel core i3 processors and 2GB of RAM with Windows 7 32-bit operating system. Used active compound and the ligand decoys comparison obtained from www.dekois.com, AVD as native ligand, drug compounds CHEMBL1234956, SCHEMBL8180780, SCHEMBL7680418, CP-91149 and test novel Zerumbone b3lyp. The results showed binding affinity of the drug compounds 2 approaches the native ligand binding affinity by methods Vina is -12.4 kcal/mol, and test novel Zerumbone showed that binding affinity lower than native ligand's but the similarity $\pm 85,7\%$. From these results indicate that Zerumbone has anti-diabetic activity. Further research must be carried out in the laboratory to validate and prove the activity of Molecular Docking Reverse approach(RMD).

Keywords: 3CEM, glycogen phosphorylase, Vina, AutoDock, Zerumbone

1. PENDAHULUAN

Docking protein-ligan adalah alat komputasi yang banyak digunakan untuk mencoba memprediksi struktur yang paling menguntungkan dari kompleks yang terbentuk antara dua atau lebih konstituen generik molekul seperti protein-target (sering kali merupakan enzim) dan ligan-molekul kecil. Hal ini dapat dianggap sebagai bagian dari *moleculardocking* (Sousa *et al.*, 2013).

Diabetes melitus tipe 2 merupakan sindrom metabolik yang pertumbuhannya sangat cepat dengan berbagai etiologi termasuk dislipidemia. DM tipe 2 secara luas disebabkan oleh resistensi insulin yang disebabkan alterasi reseptor dan *post-receptor* pada *signaling* insulin (Sentilraja *et al.*, 2013).

Sintesis glikogen tak terfosforilasi akan aktif dan dapat mensintesis glikogen. Hal ini berpengaruh pada transduksi pada regulator dan proliferasi sinyal yang muncul pada membrane sel pada jalur *signaling* insulin,

mengarah ke modulasi secara potensial dari kadar glukosa darah. Biologi komputasional dan bioinformatika tidak hanya mempercepat proses pengembangan obat sehingga biayanya rendah, tetapi juga mengubah desain obat. Desain obat rasional (*Rational Drug Discovery*). Keduanya memfasilitasi dan mempercepat proses desain obat, dengan berbagai metode untuk mengidentifikasi komponen novel.

Salah satu metodenya adalah *docking* molekul obat dengan reseptor (target). Sisi aksi obat yang biasanya mempunyai efek farmasetis adalah reseptor sedang *docking* adalah proses yang melibatkan dua molekul dan digabung dalam bentuk 3D (Arumugam *et al.*, 2011). *Docking* merupakan metode yang cepat dan ekonomis untuk alternatif eksperimental standar yang memungkinkan prediksi *in silico* (komputasi) dari model pengikatan dan afinitasnya (Sousa *et al.*, 2013)

Salah satu program komputasi yang tidak berbayar adalah PyRx. Perangkat lunak ini merupakan sebuah program untuk merancang obat yang dapat menyaring senyawa yang memiliki aktivitas terhadap target obat. Selain mudah untuk digunakan PyRx juga dapat digunakan untuk berbagai sistem operasi, PyRx mampu bekerja pada Linux, Windows, dan Mac OS X (Jacob *et al.*, 2012). PyRx mempunyai 2 kelompok metode yaitu AutoDock dan Vina, sebuah penyederhanaan dari AutoDockTools. AutoDock yang merupakan program *docking* yang otomatis dirancang untuk memprediksi energi bebas serta diperoleh konformasi ikatan antara ligan dan protein target yang sudah diketahui. Sama halnya dengan Vina adalah program *docking* lain yang memiliki kemampuan dalam penemuan obat, *docking* molekuler, dan skrining senyawa baru secara virtual (Trott and Olson, 2010).

Pemodelan *molecular docking* diperlukan senyawa aktif pembeding, senyawa *decoys* dan senyawa aktif yang telah dipasarkan, hal ini karena *molecular docking* bertujuan untuk mengidentifikasi konformasi yang benar dan orientasi ligan yang dikenal serta memprediksi senyawa baru sehingga diperlukan senyawa aktif pembeding, senyawa *decoys* dan senyawa aktif yang telah dipasarkan untuk memprediksi konfigurasi ligan yang salah dan meminimalkan kesalahan konformasi ligan, serta untuk meningkatkan algoritma prediksi struktur protein dan algoritma *docking* protein-protein, *decoys* mampu mengembangkan dan meningkatkan fungsi *docking* dan memperbaiki kesalahan yang terjadi pada saat *docking* (Graves *et al.*, 2004)

Tujuan dari *molecular docking* dalam penelitian ini adalah memprediksi senyawa obat yang memiliki kemampuan inhibitor alosterik glikogen fosforilase yang dapat dikembangkan menjadi obat antidiabetes.

2. KAJIAN LITERATUR DAN PENGEMBANGAN HIPOTESIS

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa inhibitor glikogen fosforilase mengikat sisi aktif, mengikat sisi efektor

alosterik AMP, sisi purin atau sisi indol. Ada 2 asil urea hasil optimasi, yaitu AVE5688 dan AVE2865, yang memberikan aksi paling poten terhadap inhibitor glikogen fosforilase (Anderka *et al.*, 2008). Adanya inhibitor glikogen fosforilase menunjukkan adanya penurunan kadar glukosa dengan menghambat glukosa hepatic yang diproduksi pada DM tipe 2 (Furukawa *et al.*, 2005).

Penelitian tentang senyawa-senyawa pada tumbuhan juga sedang berkembang pesat. Penelitian tentang zerumbon menunjukkan bahwa zerumbon dan turunannya memiliki aktivitas antidiabetik (Tzeng, Thing-Fong *et al.*, 2016). Reverse *docking* telah dilakukan terhadap turunan zerumbon, penelitian tersebut membuktikan bahwa zerumbon memiliki aktivitas sebagai antidiabetik dan antikanker dalam mekanisme masing-masing berdasarkan target proteinnya menggunakan metode DOCK6 (Santoso *et al.*, 2014).

Berdasarkan hal tersebut diperlukan uji senyawa yang diprediksi memiliki kemampuan inhibitor alosterik glikogen fosforilase yang dapat dikembangkan menjadi obat antidiabetes seperti CHEMBL1234956 (CB956), CP91149, SCHEMBL8180780 (SCB780), SCHEMBL7680418 (SCB418). Selain itu diuji pula senyawa novel yang mempunyai aktivitas antidiabetik yaitu turunan zerumbon menggunakan metode *docking* Vina dan AutoDock yaitu LGA, GA, dan SA.

3. METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan laptop Acer *processors* intel core i3 dan RAM 2GB untuk mengetahui nilai kimia komputasi dengan perangkat lunak yang terdiri dari Python 2.7.10, Autodock, PyRx dan PyMOL, Marvin Sketch 15.4.20, Chimera 1.10.2 dan PLIP. Terdapat 1 protein 3CEM dengan ligan AVD yang akan diuji dengan novel uji (zerumbon) serta empat senyawa obat yang memiliki aktivitas inhibitor allosterik glikogen

fosforilase yaitu CB956,CP91149, SCB780, SCB418.

Protein, ligan *native*, novel uji dan *decoys* dipreparasi dan optimasi terlebih dahulu menggunakan Chimera, MarvinSketch, PyRx OpenBabel. Optimasi dilakukan dengan mengatur nilai *gridbox*

parameter meliputi ukuran koordinat (x, y, z) dan besar volume dalam Å. Hasil tersebut digunakan dalam *molecular docking* untuk mencari energi ikatan terendah dengan protein menggunakan PyRx dengan metode Vina dan AutoDock

Tabel 1. Hasil *molecular docking* dengan berbagai algoritma menggunakan PyRx **Binding Affinity (kcal/mol)**

Senyawa	Binding Affinity (kcal/mol)			
	Vina	AD-LGA	AD-GA	AD-SA
<i>Native ligand</i>	-14.0	-12,82	-6,22	-2,63
SCB418	-12,1	-1,52	-5,19	-2,62
SCB780	-12,4	-7,81	-3,93	-2,5
CP91149	-9,5	-7,47	-3,65	-1,67
CB956	-9,4	-6,52	-3,09	0,76
Dataset	-10,6	-9,98	-6,71	-3,58
Novel-1	-10,1	-9,47	-6,06	-3,98
Decoys-1	-11,6	-9,5	-5,86	-2,75

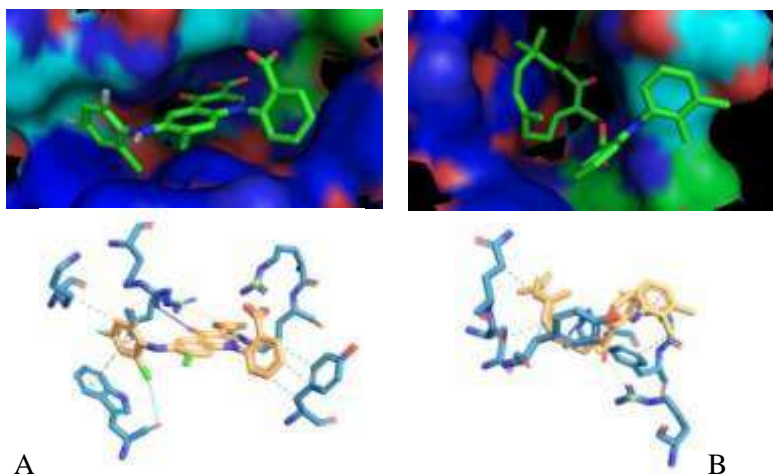
(LGA, GA, dan SA). Konformasi 3D hasil *molecular docking* sertadata *bindingaffinity* yang diperoleh dianalisis menggunakan PLIP dan dilakukan visualisasi dengan PyMOL.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

Docking adalah interaksi pengikatan antara protein dan ligan yang digunakan dalam memprediksi konformasi dan orientasi ligan yang terikat pada reseptor protein (Girijaet al., 2010). Preparasi perlu dilakukan

sebelum *docking* dikerjakan. Preparasi dilakukan menggunakan Chimera, preparasi bertujuan untuk memisahkan protein dari ligan, selain itu preparasi juga bertujuan menghilangkan H₂O serta membuat protein menjadi 1 rantai.

Molecular docking dilakukan dengan PyRx dan menggunakan metode Vina dan AutoDock



Gambar 1. Salah satu visualisasi hasil menggunakan PyMOL dan PLIP untuk senyawa novel terbaik (B) dibandingkan dengan ligan native (A)

(LGA, GA, dan SA) dengan nilai *gridbox* 106, 92, dan 80 (x,y,z). Hasil *docking* ditampilkandalam **Tabel 1** dan diperoleh hasil terbaik *docking* dari masing-masing algoritma. Kecepatan *docking* untuk metode Vina dan LGA lebih baik dari metode GA dan SA. Nilai *binding affinity* dari *native* yang terbaik menggunakan metode Vina. Hasil yang semakin kecil menunjukkan bahwa *binding affinity* yang semakin baik, urutan hasil terbaik yaitu Vina, LGA, GA dan SA. Hasil metode Vina memperlihatkan bahwa diperoleh *binding affinity* yang mendekati ligand *native* adalah senyawa 2 yaitu SCB780 dengan nilai *binding affinity* -12,4 kkal/mol. Metode LGA menunjukkan bahwa senyawa yang memiliki *binding affinity* terbaik adalah senyawa 2 juga dengan nilai *binding affinity* -7,81 kkal/mol.

Senyawa novel yang diuji, turunan zerumbon, memiliki nilai *binding affinity* yang mendekati ligan *native* namun nilainya masih lebih kecil dari ligan *native*. Beberapa metode ditemukan bahwa tidak ada turunan zerumbon yang mempunyai nilai *binding affinity* lebih baik dari *decoys*. Kemungkinan adanya aktivitas ditunjukkan dengan kemiripan nilai *binding affinity* dan diperoleh 85,7% yang mempunyai kesamaan interaksi. *Decoys* digunakan sebagai kontrol negatif pada penelitian ini, *decoys* tidak memiliki aktivitas antidiabetik namun berikatan pada protein yang sama. Sedangkan, ligan *native* digunakan sebagai kontrol positif Ligan *native* memiliki aktivitas antidiabetik yang baik.

Tabel2. Hasil analisis PLIP

No Senyawa	<i>Protein-ligand interaction</i>			
	Vina	AD-LGA	AD-GA	AD-SA
0 <i>Nativeligand</i>	HI: TYR75, LYS191	HI: GLN71, ALA313 HB: ARG193, GLU195	HI: GLN71, TYR75, ARG310	HI: GLN71, TYR75, ARG310
1 SCB418	HI: TYR75, LYS191	HI: ALA313	HI: ILE68, GLN71, GLN72, TYR75, PHE196, ARG309 HB: GLN72, ARG193	HI: GLN71, PHE196
2 SCB780	HI: TYR75	HI: GLN71, GLN72 HB: ARG309	HI: VAL64, TRP67, ILE68, GLN72, GLU195	HI: ILE68, ARG69
3 CP91149	HI: TYR75	HI: GLN71, GLN72 HB: ARG309	HI: GLN71, ILE68 HB: GLN71, TYR155, ARG193, GLU195, ARG310	HB: ASN250
4 CBL956	HI: TYR75	HI: GLN71, ALA313 HB: ARG310	HI: TRP67, ILE68, LYS191 HB: TRP67, ASN187, GLU190	HI: ASP61, ILE68
5 Best-Dataset-1	HI: TYR75	HI: GLN71, GLN72 HB: GLN71, TYR75, THR240	-	HI: GLN71
6 Best-Novel-1	HI: TYR75	HI: GLN71, GLN72 HB: ARG81, TYR155, ARG309, ARG310	HI: GLN71, GLN72	-

7 Best- Decoys-1	HI:TYR75 HB:ARG309	HI:GLN71 HB:ARG309	HI:GLN71 HB:TYR75	HI:GLN72
---------------------	-----------------------	-----------------------	----------------------	----------

Ligan *native* ini dapat digunakan sebagai kontrol positif karena ligan *native* merupakan potret kristalografi hasil pengukuran X-ray yang berikatan dengan protein target. Sehingga apabila senyawa uji memiliki energi ikatan yang sama dengan ligan *native* bisa disimpulkan senyawa tersebut memiliki aktivitas yang sama dengan ligan *native*. Senyawa uji perlu dilakukan uji dalam laboratorium untuk mengetahui secara pasti aktivitas diabetiknya.

Analisis hasil *molecular docking* menggunakan PLIP. Hasil menunjukkan kemiripan hasil interaksi senyawa uji dengan ligan *native* hasil interaksi dengan protein menunjukkan bahwa adanya aktivitas yang sama atau lebih dari ligan *native*. Hasil tersebut digambarkan dengan adanya asam amino yang sama yang berperan dalam ikatannya dengan protein. Misalnya pada metode Vina, asam amino yang berperan dalam interaksi hidrofobik antara protein target dengan ligan *native* adalah TYR75, LYS191, sehingga senyawa yang paling mirip aktivitasnya adalah SCB418 karena memiliki ikatan asam amino ditempat yang sama yaitu TYR75 dan LYS191. Hasil senyawa novel memiliki kemiripan ikatan pada asam amino TYR75 yang sama dengan ligan *native* pada metode Vina, sedangkan pada metode LGA pada asam amino GLN71, serta pada metode GA GLN71. Hal ini menunjukkan senyawa novel mempunyai ikatan yang tidak sepenuhnya sama dngan ligan *native*.

Hasil *molecular docking* juga divisualisasi menggunakan PyMOL, hasil visualisasi senyawa novel terbaik ditampilkan pada Gambar 1.

5. SIMPULAN

Berdasarkan *molecular docking* novel uji mempunyai nilai *binding affinity* yang mendekati dengan ligan *native* namun dibawah decoys, disimpulkan bahwa senyawa novel memiliki nilai yang hampir sama dengan ligan *native* sebagai antidiabetik namun decoys mengganggu

proses *docking*. Sehingga diperlukan uji lebih lanjut pada laboratorium untuk menguji aktivitas antidiabetik senyawa novel secara pasti.

6. REFERENSI

- Anderka O, Loenze P., Klabunde T., Matthias K. Dreyer, Defossa E., K. Ulrich W., and Schmoll D., 2008, Thermodynamic Characterization of Allosteric Glycogen Phosphorylase Inhibitors, *Journal of Biochemistry*.47,4683–4691.
- Arumugam, Sudha., Manikandan R., and Arulvasu C., 2011, Molecular Docking Studies of 1,2 Disubstituted Idopyranose from Vitex Negundo with Anti-Diabetic Activity of Type 2 Diabetes, *Journal of Pharma and Bio Science*.
- Furukawa *et al.*, 2005, FR258900, a Novel Glycogen Phosphorylase Inhibitor Isolated from Fungus, *Journal of Antibiotics Research*. 58(8): 497-502.
- Girija CR, Karunakar P, Poojari CS, Begum NS, Syed AA, 2010, Molecular docking studies of curcumin derivative with multiple protein targets for procarcinogen activating enzyme inhibition, *Journal of Proteomics Bioinform*. 3(6): 200-203.
- Graves, A.P., Brenk, R., and Shoichet, B.K., 2005, Decoys for Docking, *Journal Medicine Chemistry*.
- Jacob, R.B., Andersen, T., OwenM., &McDougal., 2012, Accessible High-Throughput Virtual Screening Molecular Docking Software for Student and Educators, *Journal of Boise State University*.
- Santoso, Broto., Hanwar, Dedi, Suhendi, Andi, Kusumowati, I.T.D. dan Melannisa, R., 2014, *Docking Molekular Terbalik dari Senyawa Zerumbon(Reverse Molecular Docking of Zerumbone).Prosiding*

- Simposium Penelitian Bahan Obat Alami [SPBOA] XVI & Mukthamar XII PERHIPBA 2014* (ISBN: 978-602-225-861-2). Universitas Sebelas Maret Surakarta, 464-474.
- Sousa, S.F., Ribeiro, A.J.M., Coimbra, J.T.S., Neves, R.P.P., Martins, S.A., Moorthy N.S.H.N., 2013, *Protein-Ligand Docking in the New Millennium-A Retrospective of 10 Years in the Field*, *Current Medicinal Chemistry*, 20, 2296-2314.
- Trott O. and Olson A.J., 2010, AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading. *Journal of computational Chemistry*, 31: 456-461.
- TzengT-F., Liou, S-S., TzengY-C., Liu, M., 2016., Zerumbone, a Phytochemical of Subtropical Ginger, Protects against Hyperglycemia-Induced Retinal Damage in Experimental Diabetic Rats, *Nutrients*8(8), 449; doi:10.3390/nu8080449.