

MOLECULAR DOCKING TURUNAN KALKON TERHADAP RESEPTOR ESTROGEN β (ER- β) SEBAGAI ANTIKANKER PAYUDARA

Dwi Koko Pratoko

Dosen Kimia Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Jember
Jl. Kalimantan 1 No. 2 Kampus Tegal Boto Jember 68121
Email : dwikoko.farmasi@unej.ac.id

Diterima : 2 Maret 2012; Disetujui : 12 April 2012

ABSTRAK

Reseptor estrogen- β (ER- β) merupakan faktor penting dalam penghambatan dan invasi terhadap sel kanker payudara. Reseptor estrogen- β yang terkompleks dengan genistein seringkali dijadikan model target terhadap aksi obat. Penambatan (*docking*) molekul turunan kalkon terhadap Reseptor estrogen- β telah dilakukan untuk menguji energi *docking* yang seringkali dihubungkan dengan afinitas ikatan antara ligan dengan reseptor. Berdasarkan hasil *docking* yang telah dilakukan Kalkon XII memiliki energi *docking* yang paling baik diantara turunan yang lain, sehingga senyawa ini dapat dilakukan sintesis dan diuji in vitro aktivitas sitotoksik

Kata kunci : *Docking*, kalkon, Reseptor estrogen- β , kanker payudara.

ABSTRACT

Estrogen receptor- β (ER- β) was also shown to be the important factor to inhibits proliferation and invasion of breast cancer cells. Estrogen receptor- β complexed with genistein is taken as a role model to target the drug action. Docking molecule chalcone derivatives on Estrogen receptor- β have been done to test the docking energy that associated with binding affinity between ligand and receptor. Based on docking result, Kalkon XII has shown best docking energy (MolDockScore). Thus Kalkon XII can be synthesized and used for in vitro cytotoxic activity.

Keywords : *Docking, chalcone, estrogen receptor- β , breast cancer.*

PENDAHULUAN

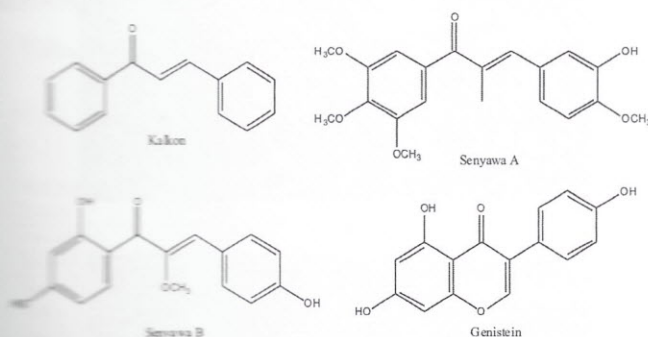
Kanker payudara merupakan suatu penyakit dimana sel-sel ganas terbentuk pada jaringan payudara. Kanker payudara umumnya terjadi pada wanita, lebih dari 100 kali dibandingkan kanker payudara pada pria⁽¹⁾. Insiden kanker payudara di dunia relatif tinggi, dilaporkan tahun 2008 sebesar 22,9 % dari seluruh keganasan kanker yang menyerang wanita. Kanker payudara juga menempati urutan pertama penyebab kematian wanita di seluruh dunia dengan angka 13,7 % atau 458.503 kematian dari keseluruhan mortalitas pada wanita di seluruh dunia⁽²⁾.

Beberapa kanker payudara sensitif terhadap hormon seperti estrogen. Terjadinya ekspresi berlebihan suatu reseptor estrogen pada sel – sel tumor akan meningkatkan terjadinya proliferasi yang berlebihan^(3,4). Penemuan reseptor estrogen, selain bisa digunakan sebagai prediksi dan penanda prognostik, tapi bisa juga sebagai target yang efisien untuk pengobatan kanker payudara *hormone dependent* dengan antiestrogen. Fungsi utama dari reseptor estrogen disini adalah sebagai faktor *DNA-binding transcription* yang mengatur ekspresi gen⁽⁵⁾.

Berdasarkan review artikel Bouker and Hilakivi-Clarke, dilaporkan bahwa genistein (Gambar 1) berpotensi kuat dalam pencegahan dan pengobatan kanker payudara dikarenakan kemampuan antiproliferasinya⁽⁶⁾. Genistein sendiri berhubungan dengan reseptor estrogen baik reseptor estrogen- α (ER- α) maupun reseptor estrogen- β (ER- β). Keduanya terdistribusi pada sel yang berbeda, mengatur gen yang terpisah yang menyebabkan memiliki efek yang berbeda.

Sebagai target terapeutik, ER- α merupakan faktor yang penting untuk memprediksi prognosis kanker payudara. Sedangkan ER- β dapat menghambat proliferasi dan invasi sel kanker payudara⁽⁷⁾. Pada Bank Data Protein (www.pdb.org), genistein merupakan ligan dari reseptor estrogen antara lain ER- α (PDB ID : 2QA8 dan 1X7R) serta ER- β (PDB ID : 1X7J dan 1QKM) yang diidentifikasi dengan metode difraksi X-Ray dengan resolusi tertentu.

Kalkon (Gambar 1) merupakan struktur umum yang banyak terdapat pada golongan flavonoid. Kalkon dan turunannya telah dilaporkan memiliki beberapa aktivitas biologis, seperti sitotoksik, antimalaria, antileishmania, antiinflamasi, antiHIV, antifungi dan sebagai *tyrosine kinase inhibitor*. Karena memiliki aktivitas farmakologi yang bervariasi, banyak peneliti kimia medisinal tertarik untuk meneliti dan mengembangkan serta mensintesisnya⁽⁸⁾. Dari penelitian aktivitas antikanker payudara terhadap MCF-7 yang telah dilakukan didapatkan kalkon dengan gugus trimetoksifenil (Gambar 1), senyawa A) yang memiliki efek sitotoksik dengan IC_{50} = 0,21 μ M, dan senyawa ini merupakan salah satu senyawa turunan kalkon yang telah disintesis^(8,9). Baru – baru ini juga telah dilakukan penelitian *molecular docking* terhadap turunan kalkon dan estrogen reseptor yang didapatkan hasil senyawa yang berpotensi memiliki potensi memiliki aktivitas antikanker payudara seperti pada Gambar 1, senyawa B⁽¹⁰⁾.



Gambar 1. Kalkon dan turunan kalkon yang telah diteliti (I-III) serta Genistein (IV)

Biologi komputasi dan bioinformatika berpotensi tinggi dalam ilmu kimia medisinal, tidak hanya mempercepat proses penemuan obat tetapi juga mengubah cara penemuan dan perancangan

obat. *Rational Drug Design* (RDD) memfasilitasi dan mempercepat proses rancangan obat, yang melibatkan berbagai metode untuk mengidentifikasi senyawa baru. Salah satu contoh metode yang digunakan adalah penambatan molekul obat dengan reseptor yang sering disebut *molecular docking*. Reseptor disini merupakan sisi aktif dari kerja obat yang berperan terhadap efek farmakologi. Penambatan (*Docking*) adalah proses dimana dua molekul dicocokkan melalui penambatan dalam ruang 3D⁽¹¹⁾.

Berdasarkan uraian di atas, untuk mendapatkan senyawa yang diperkirakan memiliki aktivitas antikanker payudara maka dilakukan penelitian *molecular docking* terhadap turunan kalkon menggunakan reseptor estrogen- β dengan PDB ID 1QKM yang terkompleks dengan genistein. Diharapkan dari penelitian ini didapatkan senyawa yang lebih poten berdasarkan hasil *docking* terhadap reseptor 1QKM dan kemudian dapat disintesis dan dilakukan uji aktivitas antikanker.

BAHAN DAN METODA

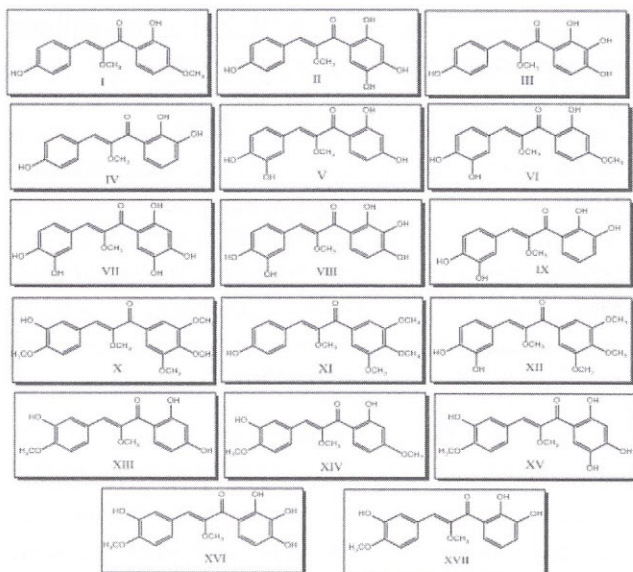
Analisis Struktur Kristal Estrogen Receptor- β (ER- β)

Struktur 3D dari *Estrogen Receptor- β* yang digunakan pada penelitian ini didapat dari bank data protein (PDB) (www.pdb.org). PDB merupakan satu-satunya arsip tunggal dunia data struktur dari makromolekul biologis yang berisi informasi struktur pada makromolekul yang ditentukan dengan X-Ray Kristalografi, metode NMR dan lain lain.

Estrogen Receptor- β yang digunakan pada penelitian ini yaitu reseptor dengan PDB ID 1QKM yang terkompleks dengan ligan genistein.

Desain Senyawa Turunan Kalkon

Berdasarkan beberapa penelitian yang sudah dilakukan, maka didapatkan 17 desain struktur molekul senyawa turunan kalkon yang dimungkinkan memiliki aktivitas antikanker. Pada senyawa turunan ini dilakukan modifikasi pada masing – masing molekul dengan gugus metoksi dan hidroksi (Gambar 2).



Gambar 2. Desain 17 struktur senyawa turunan kalkon

Molecular Docking

Dalam penelitian ini dilakukan *molecular docking* 17 senyawa turunan kalkon ke *Estrogen Receptor- α* menggunakan *software Molegro Virtual Docker (MVD) 5.0.0* (www.molegro.com)⁽¹²⁾. MVD merupakan program yang terintegrasi untuk memprediksi interaksi (pengikatan) antara ligan dengan reseptor (protein). MVD dapat menangani semua aspek dalam proses *docking* dari preparasi molekul guna penentuan situs aktif pengikatan yang potensial dari protein target serta prediksi model pengikatan dari ligan. Molekul ligan berikatan dengan reseptor, menghambat fungsi dari reseptor, sehingga ligan tersebut bertindak sebagai obat.

Algoritma MVD memanfaatkan rongga (*cavity*) untuk mendeteksi tempat ikatan protein yang berpotensi sebagai sisi aktif untuk berikatan dengan ligan (obat). Penyaringan bentuk ligan yang paling stabil dikombinasikan dengan MM2 dalam pencarian konformasi untuk menghasilkan pose ligan yang stabil dengan sisi aktif dari protein (*Estrogen Receptor- β*) diantara desain molekul yang telah dipersiapkan.

Parameter yang digunakan pada proses *docking* antara lain :

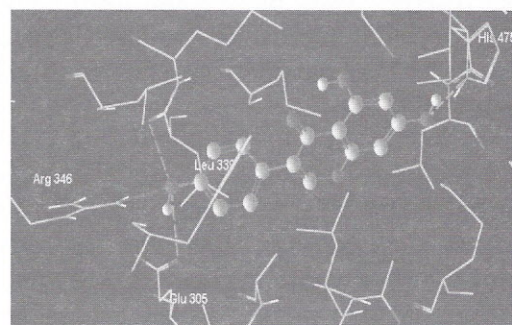
- Score : MolDock Score [GRID]
- Grid resolution : 0,30 Å

- Algorithm : MolDock SE
- Number of run algorithm : 10
- Max iterations : 1500
- Max population size : 50
- Energy threshold pose generation : 100

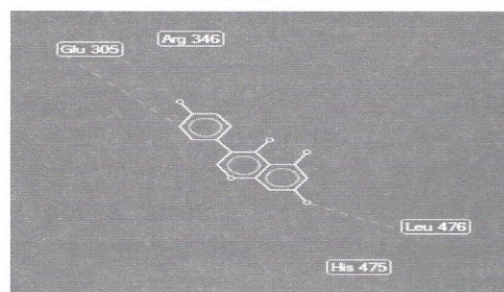
Senyawa turunan kalkon dilakukan *docking* dengan reseptor estrogen 1QKM menggunakan parameter – parameter di atas.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini digunakan struktur difraksi sinar X-Ray dari reseptor estrogen 1QKM yang terkompleks dengan genistein yang digunakan sebagai model pengembangan obat dalam menghambat proliferasi dan invasi sel kanker payudara. Setelah dilakukan analisis sisi aktif residu dari reseptor estrogen melalui visualisasi molekul, didapatkan genistein memiliki interaksi berupa ikatan hidrogen dengan His 475 (panjang ikatan 2,56 Å), Glu 305 (3,15 Å), Leu 339 (3,23 Å) serta dengan Arg 346 (2,79 Å) yang ditunjukkan dengan garis putus warna biru (gambar 3a). Selain itu, didapatkan pula bahwa pada genistein juga terjadi interaksi sterik dengan Leu 476 dan Glu 305 yang ditunjukkan dengan garis putus warna merah (Gambar 3b).



(a)



(b)

Gambar 3. Sisi Aktif dari ER- β yang terkompleks dengan genistein (a) interaksi ikatan hidrogen dan (b) interaksi sterik

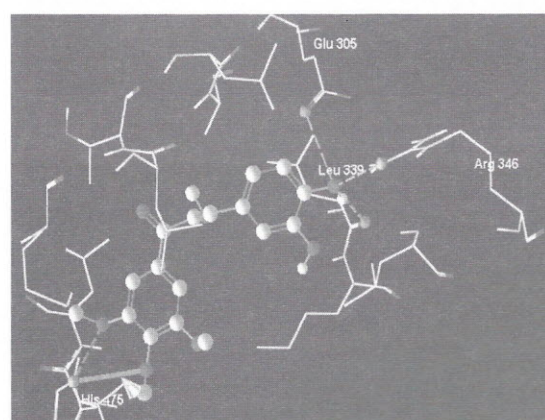
Dari reseptor 1QKM, ligan genistein diekstraksi dan dimasukkan ke tempat sisi aktif yang sesuai dalam pengikatan untuk menentukan kemampuan ligan dalam mereproduksi orientasi dan posisi inhibitor yang diamati pada struktur kristal di dalam *cavity*. Setelah dilakukan pencarian, maka didapatkan *cavity* dengan volume 67,072 yang dalam penelitian ini digunakan sebagai tempat senyawa turunan kalkon ditambatkan pada reseptor.

Genistein yang energinya telah diminimalkan dengan MM2, dimasukkan lagi dalam *cavity* kemudian dilakukan *docking* dengan reseptor. Adapun hasil yang didapat meliputi parameter *MolDockScore* dan RMSD (untuk genistein). *MolDockScore* menunjukkan energi yang digunakan selama proses *docking* serta RMSD yang merupakan deviasi antara molekul ligan dan ligan referensi. Hasil yang didapat adalah *MolDockScore* -107,582 dengan RMSD (*Root Mean Square Deviation*) 0,430. Bila dilihat dari RMSD yang < 2,00 maka dapat dikatakan protokol *docking* ini sudah valid dan dapat diaplikasikan untuk *men-docking* senyawa lain pada reseptor 1QKM. Setelah dilakukan *docking* genistein dengan reseptor, kemudian dilanjutkan dengan kalkon dan kalkon hasil penelitian sebelumnya serta 17 desain struktur senyawa turunan kalkon yang telah dibuat. Prosedur yang dilakukan sama seperti melakukan *docking* pada genistein, hanya pada *docking* turunan kalkon tidak dilakukan penilaian RMSD. Pada penelitian ini dilakukan *docking* dengan replikasi sebanyak 3 kali.

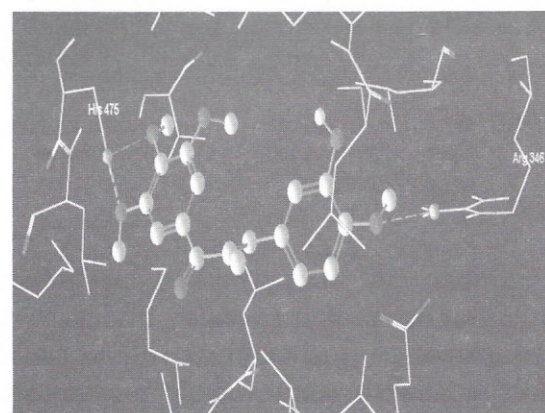
Tabel 1. Data hasil Docking ligan dengan sisi aktif Reseptor Estrogen (1QKM)

Nama Ligan	Replikasi 1 <i>MolDockScore</i>	Replikasi 2 <i>MolDockScore</i>	Replikasi 3 <i>MolDockScore</i>
Genistein	-107,581	-107,578	-107,587
Kalkon	-103,59	-107,615	-91,894
Senyawa A	-128,668	-127,869	-126,786
Senyawa B	-112,645	-112,461	-112,470
Kalkon I	-110,456	-108,501	-110,594
Kalkon II	-111,440	-114,607	-112,167
Kalkon III	-112,823	-113,017	-107,704
Kalkon IV	-115,606	-116,250	-117,604
Kalkon V	-116,649	-117,758	-117,729
Kalkon VI	-110,236	-111,114	-113,607
Kalkon VII	-120,818	-116,373	-121,010
Kalkon VIII	-116,745	-118,206	-116,804
Kalkon IX	-118,670	-118,708	-118,676
Kalkon X	-125,776	-125,793	-122,582
Kalkon XI	-127,942	-125,629	-125,152
Kalkon XII	-129,009	-129,370	-128,767
Kalkon XIII	-117,001	-117,479	-118,834
Kalkon XIV	-106,309	-108,113	-108,779
Kalkon XV	-108,358	-114,433	-115,729
Kalkon XVI	-118,147	-112,483	-112,059
Kalkon XVII	-117,790	-115,842	-117,948

Berdasarkan data analisis hasil *docking* terhadap senyawa turunan kalkon dengan reseptor 1QKM (Tabel 1), didapatkan nilai *MolDockScore* terendah pada senyawa Kalkon XII. Energi yang rendah pada Kalkon XII, mengakibatkan kestabilan dan keselarasan dalam pengikatan dengan reseptor estrogen- β dibandingkan dengan turunan kalkon lainnya yang telah didesain. Energi pada proses *docking* ini seringkali dikaitkan dengan daya afinitas ikatan ligan terhadap reseptor. Bila dibandingkan dengan "Senyawa A" yang telah diketahui aktivitas sitotoksiknya, diketahui bahwa "Kalkon XII" memiliki energi yang lebih rendah, sehingga dimungkinkan memiliki efek sitotoksik yang lebih tinggi daripada "Senyawa A". Kestabilan "Kalkon XII" dibandingkan "Senyawa A" dapat diakibatkan karena lebih rendahnya energi ikatan hidrogen dengan reseptor dan afinitas ligan terhadap reseptor lebih tinggi.



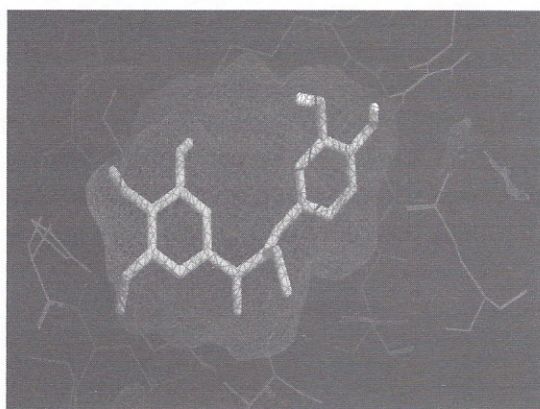
(a)



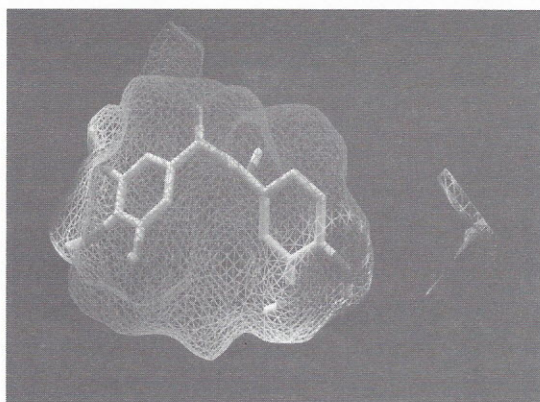
(b)

Gambar 4. Interaksi ikatan hidrogen reseptor dengan senyawa turunan kalkon (a) Kalkon XII dan (b) Senyawa A

Pada Gambar 4, "Kalkon XII" lebih banyak berikatan hidrogen dengan sisi aktif protein dari reseptor daripada "Senyawa A". Ikatan hidrogen dari "Kalkon XII" terdiri dari 2 ikatan H dengan His 475, masing – masing 1 ikatan H dengan Glu 305, Leu 339 dan Arg 346 Sedangkan pada "Senyawa A" terdiri dari 2 ikatan hidrogen dengan His 475 dan 1 ikatan hidrogen dengan Arg 346. Hal inilah yang dimungkinkan menyebabkan lebih stabilnya ikatan antara "Kalkon XII" dengan reseptor estrogen β .



(a)



(b)

Gambar 5. Tampilan permukaan (*surfaces*) *residue* dengan ligan berdasarkan (a) hidrofobisitas dan (b) elektrostatik

Gambar 5a menunjukkan permukaan hidrofobisitas dari protein (*residue*), dimana warna biru pada permukaan menunjukkan *residue* bersifat hidrofob sedangkan warna merah menunjukkan *residue* bersifat hidrofil. Ligan yang terikat di dalamnya harus memiliki sifat sama dengan *residue*. Pada ligan "Kalkon XII" yang terikat, warna hijau menunjukkan sifat hidrofob,

sedangkan warna jingga menunjukkan sifat hidrofil. Sehingga dapat disimpulkan kesesuaian sifat hidrofobisitas antara ligan dan reseptor juga menyumbangkan kestabilan ikatan antara ligan dan reseptor.

Gambar 5b menunjukkan permukaan elektrostatis yaitu berhubungan dengan muatan parsial dari protein (*residue*), dimana warna biru menunjukkan *residue* bermuatan parsial positif sehingga dengan adanya ligan yang bermuatan negatif parsial akan menyebabkan kestabilan ikatan ligan dan reseptor. Warna merah pada permukaan menunjukkan *residue* bermuatan negatif parsial sehingga dengan adanya ligan yang bermuatan positif parsial akan menyebabkan kestabilan ikatan ligan dan reseptor. Pada Gambar 5b, pada ligan warna merah menunjukkan atom bermuatan negatif parsial terutama pada atom O. Atom O pada ujung memiliki interaksi dengan muatan positif parsial pada *residue* yang menyumbangkan kestabilan ikatan antara ligan dan reseptor.

Berdasarkan hasil docking, ikatan hidrogen, sifat hidrofobisitas dan elektrostatis diatas dapat diambil kesimpulan bahwa senyawa "Kalkon XII" merupakan ligan yang paling baik untuk reseptor estrogen β (ER- β) diantara senyawa yang telah diteliti diatas sehingga dapat dilakukan analisis lebih lanjut.

KESIMPULAN

Tujuan utama dalam studi *molecular docking* dengan metode "Molegro Virtual Docker" senyawa turunan kalkon terhadap reseptor estrogen β (ER- β) adalah untuk memilih inhibitor aktif yang terbaik sebagai antikanker payudara. Dari hasil docking, menunjukkan senyawa "Kalkon XII" memiliki energi yang paling rendah dibandingkan senyawa turunan kalkon maupun ligan asli (genistein) yang menunjukkan afinitas yang bagus terhadap ikatan dengan reseptor. Berdasarkan ikatan hidrogen, sifat hidrofobisitas maupun elektrostatis, senyawa "Kalkon XII" memiliki kesesuaian yang menyebabkan kestabilan ikatan dengan reseptor yang lebih baik. Sehingga senyawa "Kalkon XII" dapat disintesis dan dilakukan analisis lebih lanjut terutama uji *in vitro* untuk membuktikan aktivitas penghambatan proliferasi dari senyawa ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. National Cancer Institute. 2009. Cancer of the Breast (invasive) : Age-adjusted SEER Incidence Rates by Year, Race and Sex. <http://seer.cancer.gov/csr>, diakses tanggal 15 Maret 2012.
2. J. Ferlay ., H. R. Shin., F. Bray., D. Forman ., C. Mathers ., D. M. Parkin Cancer Incidence and Mortality Worldwide : IARC Cancer Base No. 10, International Agency for Research on Cancer GLOBOCAN 2008, Lyon, 2010
3. J. D . Yager., N. E. Davidson. *Estrogen Carcinogenesis in Breast Cancer. N Engl J Med.* 354 : 270–282 (2006)
4. V. C. Jordan ., Antiestrogen and selective estrogen receptor modulators as multifunctional medicines. *J Med Chem.* 46 : 883-907 (2003)
5. E. R. Levin., Integration of the extranuclear and nuclear actions of estrogen. *Mol. Endocrinol.* 19(8) : 1951-1959 (2005)
6. B. Kerrie., Bouker and Leena, Hilakivi-Clarke. Genistein : Does it Prevent or Promote Breast Cancer ?. *Environ Health Perspect* 108(8): 701-708 (2000)
7. G. Lazennec., D. Bresson., A. Lucas., C. Chauveau., F. Vignon . *Erb* Inhibits proliferation and invasion of breast cancer cells. *Endocrinology* 142 : 4120–4130 (2001)
8. H.O. Saxena., U. Faridi., J.K. Kumar., S. Luqman., M. P. Darokar., K. Shanker., C.S. Chanotiya M. M Gupta., A.S. Negi., Synthesis of chalcone derivatives on steroidal framework and their anticancer activities. *Steroids.* 72 : 892-900 (2007)
9. N. J. Lawrence., D. Rennison., A. T. McGown., J. A. Hadfield., The total synthesis of an aurone isolated from *Uvaria hamiltonii*: aurones and flavones as anticancer agents. *Bioorg Med Chem Lett* 13 : 3759–3763 (2003)
10. V. Swamy., J. Dashpande., J.S. Pathageri., VKothekar ., S. Padhye., Molecular Docking Studies on Estrogen Receptor – A and Chalcone Derivatives. *IJAPBOnline* 1 (3) : 87–93 (2011)
11. T. Ramya., V. Sri., Sathyanathan, D. P. Kumar., M. Chowdhari., Docking Studies on Synthesizwd Quinazoline Compounds Against Androgen Receptor. *Int. J. Pharm & Ind. Res* 01 (04) : 266–269 (2011)
12. R. Thomsen., M. H. Christensen., MolDock: A New Technique for High-Accuracy Molecular Docking. *J. Med. Chem.*, 49(11), pp 3315 – 3321 (2006)