

DOCKING ANALOG KURKUMIN TURUNAN PIPERAZINDION DENGAN TUBULIN (1TUB) RANTAI β MENGGUNAKAN VINA DAN AUTODOCK¹

Broto Santoso

Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta
broto.santoso@gmail.com

ABSTRAK

Program Autodock mampu memprediksi energi bebas dan konformasi ikatan antara fleksibel ligan dan makromolekul target yang telah diketahui. Senyawa turunan dan analog kurkumin adalah ligan yang telah banyak dihasilkan dan diuji aktivitasnya. Beberapa diantaranya memiliki khasiat yang lebih baik dari kurkumin. Enam senyawa turunan piperazindion, kurkumin, PGV-0, dan PGV-1 dihitung energi optimasi geometrinya menggunakan density functional theory (DFT) – Gaussian. Ligan hasil optimasi dicari energi ikatan ligan dengan reseptor 1TUB rantai β melalui docking menggunakan Vina dan Autodock dengan metode Lamarckian Genetic Algorithm (LGA), traditional Genetic Algorithm (tGA), dan Simulated Annealing (SA) Monte Carlo. Data energi ikatan (affinitas) terbaik yang diperoleh dianalisis dengan Anova: Two-Factor Without Replication ($P=0,01$). Hasil docking dengan semua metode menunjukkan bahwa senyawa analog kurkumin turunan piperazindion mempunyai potensi ikatan lebih baik dibanding senyawa induknya

Kata Kunci: 1TUB, Autodock, docking, kurkumin, piperazindion

ABSTRACT

Autodock could predict free energy and bonding conformation between flexible ligand and macromolecular of target which has been known earlier. Derivates and analogues of curcumin are ligands have been widely produced and tested for its activity. Some of them have a better efficacy than curcumin. Six molecules of piperazinedione derivates along with curcumin, PGV-0, and PGV-1 have been calculated their geometry optimization using Density Functional Theory (DFT) method of Gaussian. Their conformation molecules have been docked to receptor of 1TUB chain β to calculate their binding energy using Vina and Autodock with methods of Lamarckian Genetic Algorithm (LGA), traditional Genetic Algorithm (tGA), dan Simulated Annealing (SA) Monte Carlo. The best data of binding energy (affinity) each molecules were analyzed using Anova: Two-Factor Without Replication ($P=0.01$). The result of all methods of docking calculation show those curcumin analogues: piperazinedione derivates have a better binding potency than curcumin, their lead compound.

Kata Kunci: 1TUB, Autodock, docking, curcumin, piperazinedione

¹ Telah dipresentasikan di Kongres IAI XVIII, Makasar, 10 Desember 2010.

PENDAHULUAN

Desain obat secara rasional menggunakan bantuan komputer mulai membuahkan hasil. Senyawa obat baru hasil rancang obat dapat dihitung aktivitas ikatannya secara komputasi pada protein yang bertanggung jawab terhadap suatu penyakit. Beberapa telah dilaporkan dan diantaranya adalah terhadap HIV-1 protease (protein retrovirus *Human Immunodeficiency Virus* yang menyebabkan *Acquired Immune Deficiency Syndrome* atau AIDS), sintase timidilat (anti-kanker), dan fosforilasa nukleosida purin (gangguan autoimun) telah masuk dalam tahapan uji klinis (Trylska *et al.*, 2007; Kubinyi, 1998; Goodsell *et al.*, 1996; Touroutoglou and Pazdur, 1996) bahkan ada yang sudah mampu dibuat dalam bentuk pemodelan aktivitas ikatan

vernakalant (ligan) dengan Kv1,5 channels (protein) (Eldstrom and Fedida, 2009).

Rancangan obat rasional dikembangkan melalui penggunaan komputasi untuk menemukan konformasi ikatan ligan untuk target makromolekul struktur yang telah diketahui. Komputasi merupakan alat untuk menguji dan melakukan urutan peringkat geometri calon obat berdasarkan modifikasi senyawa penuntun atau melakukan skrining database molekul yang tersedia untuk mencari senyawa penuntun baru (Goodsell *et al.*, 1996).

Salah satu program komputasi yang gratis adalah AutoDock yang merupakan program *docking* otomatis yang dirancang untuk memprediksi energi bebas dan konformasi ikatan antara *flexible* ligand dan makromolekul target (struktur kimia 3 dimensi)

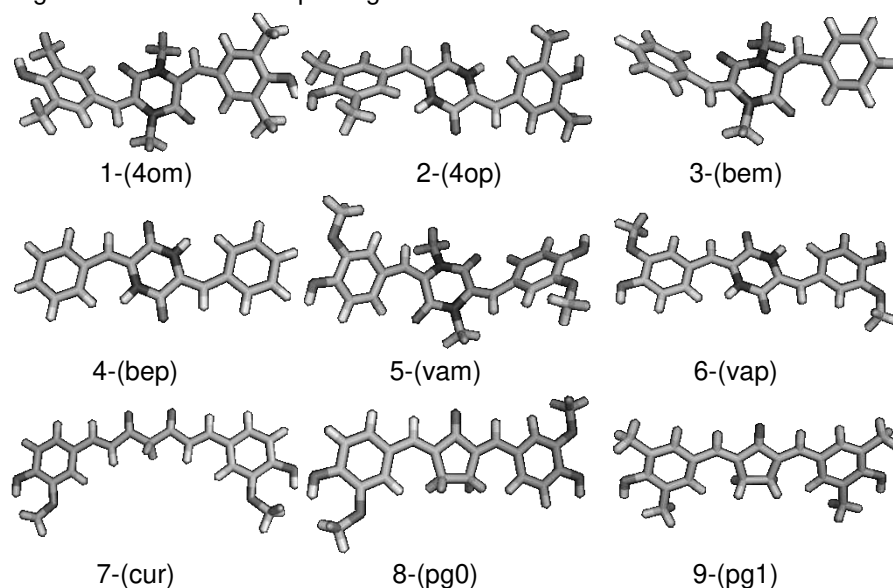
yang telah diketahui. Begitu pula dengan Autodock Vina yang merupakan program *docking* lainnya dengan kemampuan dalam penemuan obat, *molecular docking*, dan skrining senyawa baru secara virtual (Trott and Olson, 2010; Morris *et al.*, 2009; Goodsell *et al.*, 1996).

Senyawa turunan dan analog kurkumin adalah ligan yang telah banyak dihasilkan dan diuji aktivitasnya. Beberapa diantaranya, Pentagamavunon-0 (2,5-bis-(4-hidroksi-3-metoksi)-benzilidin-siklopentanon) dan PGV-1 (2,5-bis-(4-hidroksi-3,5-dimetil)-benzilidin-siklopentanon), kedua analog ini memiliki potensi aktivitas (terutama anti-kanker sel T47D) yang lebih baik dari kurkumin (Da'i *et al.*, 2007; Reksohadiprodjo *et al.*, 2004).

Kelompok lain analog kurkumin adalah turunan piperazindion. Piperazindion dapat digunakan sebagai pengganti gugus tengah diketon kurkumin dan dengan mempertahankan gugus samping PGV-0 dan PGV-1 diperoleh senyawa turunan piperazindion. Beberapa turunan piperazindion telah diteliti dan memiliki aktivitas inhibisi pertumbuhan sel, sitostatik, dan sitotoksik (Andreani *et al.*, 2008), dan antikanker sporidesmins merupakan turunan piperazin-2,5-dion (Polaske *et al.*, 2009). Pembuktian adanya aktivitas ini dapat dilakukan melalui teknik *molecular docking* terhadap salah satu protein yang ditengarai paling banyak berperan dalam siklus sel kanker, yaitu tubulin (Davis *et al.*, 1999). Protein 1TUB dipilih karena dapat mewakili tubulin yang terdapat dalam siklus sel kanker dalam manusia.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat yang digunakan adalah seperangkat



Gambar 1- Struktur 3D hasil optimasi geometri menggunakan perhitungan DFT-Gaussian (*view in PyMol*).

komputer dengan prosesor Intel Core2Quad 4GHz dan RAM 4GB untuk menghitung kimia komputasi dengan memanfaatkan program Vina dan Autodock yang dipermudah dengan Pyrx, GaussView-Gaussian 2003 *release E.01*, dan PyMol.

Metode Kerja

Optimasi energi geometri. Struktur 3D ligan, yaitu enam senyawa turunan piperazindion, kurkumin, PGV-0, dan PGV-1, telah dilakukan dengan Gaussian menggunakan perhitungan DFT: B3LYP/6-31(g).

Persiapan protein reseptor dan ligan percobaan

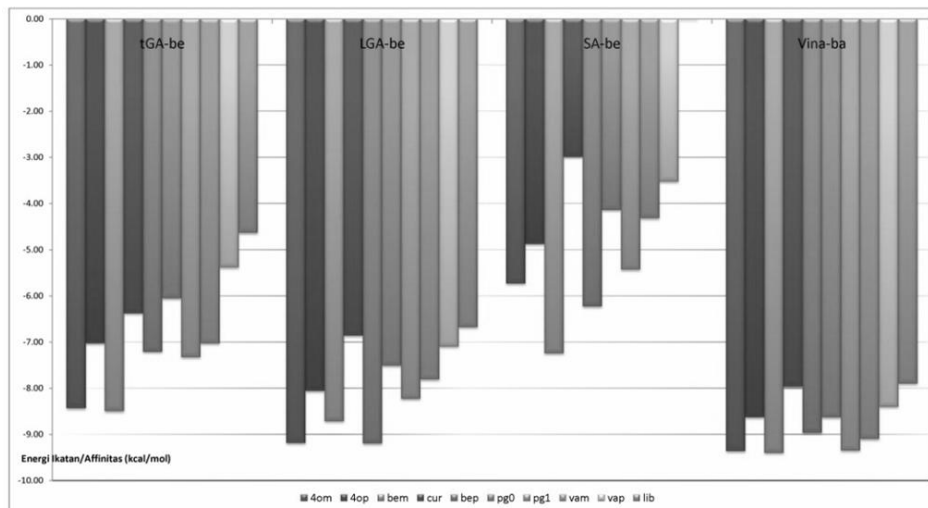
Tubulin α - β dimer (1TUB) dengan ligan Guanodin-5'-Difosfat (GDP), Guanodin-5'-Trifosfat (GTP) dan Taxotere (TXL) diperoleh dari www.pdb.org. Rantai β tubulin dengan daerah binding site untuk Taxotere adalah bagian protein 1TUB yang digunakan dalam *molecular docking*.

Aktivitas docking. Semua ligan diuji secara *docking* untuk mencari energi ikatan terendah dengan protein target menggunakan perhitungan Vina, dan AutoDock metode Lamarckian Genetic Algorithm (LGA), traditional Genetic Algorithm (tGA), dan Simulated Annealing (SA) Monte Carlo. Analisis data dilakukan dengan ANOVA: Two-Factor Without Replication ($P=0,01$) menggunakan fasilitas dari Microsoft Excel.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Optimasi Geometri

Perhitungan DFT:B3LYP/6-31(g) dilakukan untuk memperoleh molekul 3D ligan yang paling stabil (teroptimasi) **Gambar 1**.

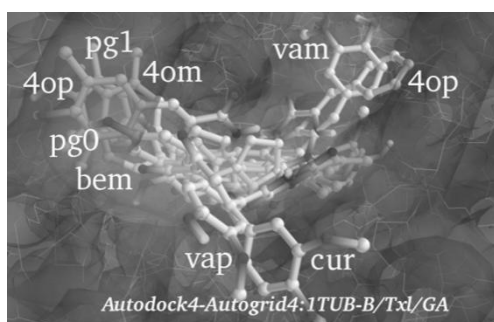


Gambar 2- Energi ikatan (kcal/mol) *docking* antara *ligand* dengan 1TUB rantai β (be=*binding energy*; ba=*binding affinity*; n=6; turunan piperazindion = 4om, 4op, bem, bep, vam, vap; cur = kurkumin; pg0 = PGV-0; dan pg1 = PGV-1).

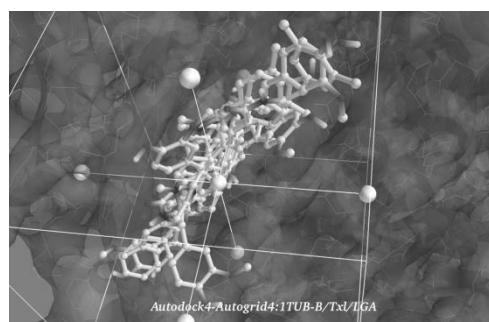
Docking analog kurkumin turunan piperazindion

Docking masing-masing *ligand* dilakukan dengan 6 kali replikasi perhitungan di setiap metodenya. Hasil yang diperoleh adalah seperti yang ditampilkan pada **Gambar 2**. Energi ikatan dihitung pada daerah *binding site* dari Taxotere. Data hasil memperlihatkan bahwa

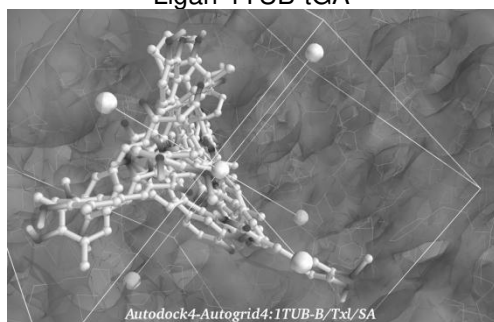
turunan piperazindion: 4om, bem, dan bep memiliki energi ikatan terkuat secara berurutan pada metode Vina (bersama dengan bem dan pg1), tGA-SA, dan LGA. Namun tiga besar molekul yang menunjukkan interaksi ikatan lebih kuat dibandingkan dengan ligan lainnya adalah 4om, bem, bep dan pg1 (Gambar 2).



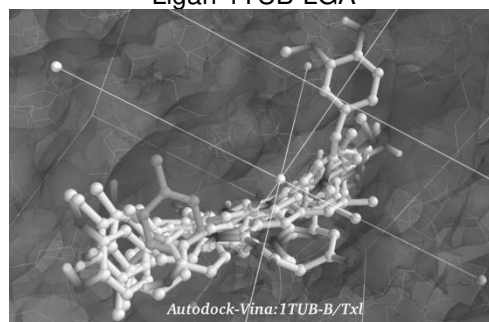
Ligan-1TUB-tGA



Ligan-1TUB-LGA



Ligan-1TUB-SA



Ligan-1TUB-Vina

Gambar 3- Interaksi semua ligand dengan 1TUB rantai β . *Docking* dilakukan menggunakan metode Vina dan Autodock metode *Lamarckian Genetic Algorithm* (LGA), *traditional Genetic Algorithm* (tGA), dan *Simulated Annealing* (SA) Monte Carlo. Semua ligan berinteraksi pada *pocket binding site* dari Taxotere.

Hal lain yang menarik adalah hasil *docking* juga menunjukkan bahwa secara keseluruhan PGV-0 dan PGV-1 memiliki energi ikatan yang lebih kuat dibandingkan dengan kurkumin.

Perbandingan hasil *docking* antara PGV-0 dan PGV-1 dengan kurkumin sama dengan hasil penelitian yang telah dilakukan Da'i *et al.* (2007), yaitu kedua analog kurkumin tersebut

memiliki aktivitas anti-kanker yang lebih baik terhadap protein tubulin.

Gambar 3 memperlihatkan bahwa semua konformasi molekul hasil *docking* berbagai metode masih berada di dalam *binding pocket* dari molekul ligan hasil kristalografi, yaitu Taxotere. Hal ini membuktikan bahwa Vina dan Autodock selektif dalam melakukan perhitungan komputasi walaupun *gridbox* yang digunakan adalah seluruh *molecular space* dari protein target.

Analisis Data

Data *docking* berupa energi ikatan (kcal/mol) ligan dengan 1TUB rantai β dihitung dengan ANOVA: *Two-Factor Without Replication* (faktor ligan dan metode) diperoleh hasil bahwa setiap

metode memiliki hasil yang berbeda nyata untuk masing-masing *ligand* dan nilai energi ikatan setiap *ligand* berbeda nyata satu dengan ligan lainnya dalam metode *docking* yang sama ($P=0,01$).

KESIMPULAN

Turunan piperazindion (4om, bem dan bep) yang merupakan analog dari kurkumin memiliki potensi aktivitas yang lebih baik dibandingkan kurkumin dalam hal interaksinya dengan protein tubulin melalui perhitungan *docking*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis ucapkan terima kasih kepada Fakultas Farmasi UMS atas dukungannya dalam penyelesaian penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

Andreani, A., Burnelli, S., Granaiola, M., Leoni, A., Locatelli, A., Morigi, R., Rambaldi, M., Varoli, L., Landi, L., Prata, C., Berridge, M. V., Grasso, C., Fiebig, H.-H. dan Kelter, G., 2008, "Antitumor Activity of Bis-indole Derivatives(1)." *Journal of Medicinal Chemistry*, 51 (15): 4563-4570.

Da'i, M., Edy Meiyanto, E., Supardjan, Jenie, U.A., dan Kawaichi, M., 2007, Potensi Antiproliferative Analog Kurkumin Pentagamavunon terhadap Sel Kanker Payudara T47D, *Artocarpus*, 7 (1): 14-20.

Davis, A., Jiang, J.D., Middleton, K.M., Wang, Y., Weisz, I., Ling, Y.H., and Bekesi, J.G., 1999, Novel Suicide Ligands of Tubulin Arrest Cancer Cells in S-Phase, *Neoplasma*, 1 (6): 498 - 507

Eldstrom, J. and Fedida, D., 2009, Modeling of high-affinity binding of the novel atrial anti-arrhythmic agent, vernakalant, to Kv1.5 channels, *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, 28: 226–235.

Frisch, M. J., Trucks, G. W., Schlegel, H. B., Scuseria, G. E., Robb, M. A., Cheeseman, J. R., Montgomery, Jr., J. A., Vreven, T., Kudin, K. N., Burant, J. C., Millam, J. M., Iyengar, S. S., Tomasi, J., Barone, V., Mennucci, B., Cossi, M., Scalmani, G., Rega, N., Petersson, G. A., Nakatsuji, H., Hada, M., Ehara, M., Toyota, K., Fukuda, R., Hasegawa, J., Ishida, M., T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, M. Klene, X. Li, J. E. Knox, H. P. Hratchian, J. B. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R. E. Stratmann, O. Yazyev, A. J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J. W. Ochterski, P. Y. Ayala, K. Morokuma, G. A. Voth, P. Salvador, J. J. Dannenberg, V. G. Zakrzewski, S. Dapprich, A. D. Daniels, M. C. Strain, O. Farkas, D. K. Malick, A. D. Rabuck, K. Raghavachari, J. B. Foresman, J. V. Ortiz, Q. Cui, A. G. Baboul, S. Clifford, J. Cioslowski, B. B. Stefanov, G. Liu, A. Liashenko, P. Piskorz, I. Komaromi, R. L. Martin, D. J. Fox, T. Keith, M. A. Al-Laham, C. Y. Peng, A. Nanayakkara, M. Challacombe, P. M. W. Gill, B. Johnson, W. Chen, M. W. Wong, C. Gonzalez, and J. A. Pople, 2004, *Gaussian 03 - Revision E.01*, Gaussian, Inc., Wallingford CT, www.gaussian.com.

Goodsell, D.S., Morris, G.M., and Olson, A.J., 1996, Automated Docking of Flexible Ligands: Applications of AutoDock, *Journal of Molecular Recognition*, 9: 1-5.

Kubinyi, H., 1998, Structure-based Design of Enzyme Inhibitors and Receptor Ligands, *Current Opinion in Drug Discovery and Development*, 1 (1): 4-15.

Morris, G.M., Huey, R., Pique, M., Hart, W.E., Halliday, R.S., Lindstrom, W., Chang, M., Gillet, A., Forli, S., Belew, R.K., Goodsell, D.S., and Olson, A.J., 2009, *AutoDock 4.2 -Release 4.2.3*, The Scripps Research Institute.

Polaske, N. W., Nichol, G. S. dan Olenyuk, B., 2009, "Polymorphism and phase transition behavior of 6,6'-bis(chloromethyl)-1,1',4,4'-tetramethyl-3,3'-(-phenylenedimethylene)bis(piperazine-2,5-dione)." *Acta Crystallographica Section C*, 65 (8): o381-o384.

Reksohadiprodjo, M. S., Timmerman, H., Sardjiman, Margono, S. A., Martono, S., Sugiyanto, Hakim, L. R., Nurlaila, Hakim, A. R., Puspitasari, I., Nurrochmad, A., Purwantiningsih, Oetari, R. A. dan Yuwono, T., 2004, Derivatives of Benzylidene Cyclohexanone, Benzylidene Cyclopentanone, and Benzylidene Acetone, and Therapeutic Uses Thereof, *United States Patent, USA*, US006777447B2: 1-12.

Touroutoglou, N., and Pazdur, R., 1996, Minireview: Thymidylate Synthase Inhibitors, *Clinical Cancer Research*, 2: 227-243.

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: 455-461.

Trylska, J., Tozzini, V., Chang, C.A., and McCammon, J.A., 2007, HIV-1 Protease Substrate Binding and Product Release Pathways Explored with Coarse-Grained Molecular Dynamics, *Biophysical Journal*, 92: 4179-4187.

Wolf, L.K., 2009, New software and Websites for the Chemical Enterprise, *Chemical and Engineering News*, 87:31.