

KEMAMPUAN INTERAKSI 3D TURUNAN ZERUMBON DENGAN PROTEIN TYROSINE PHOSPHATASE 1B (PTP1B)

Broto Santoso*, Muhammad Haqqi, Muhammad Da'i, Dedi Hanwar, Andi Suhendi
Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta
Jl A. Yani Tromol Pos I Pabelan Kartasura,
*Email: Broto.Santoso@ums.ac.id

Abstrak

Penghambatan enzim protein tirosin fosfatase 1B (PTP1B) menghasilkan sensitisasi fungsi *signalling* dan proteksi pada insulin terhadap diet yang diinduksi obesitas. *Docking* molekular dapat menampakkan pendekatan posisi, orientasi dan konformasi 3D suatu ligan yang terikat dengan reseptor target. Penelitian telah dilakukan menggunakan perangkat lunak Marvin Beans Suite, Chimera, DOCK6, PyMOL dan *Protein Ligand Interaction Profiler* (PLIP) pada OS Linux. *Docking* molekular melibatkan 117 protein target dari PTP1B dan 3 ligan uji yang merupakan turunan poli-hidroksil zerumbon. Hasil yang diperoleh menunjukkan adanya 4 interaksi ligan-protein (1ECV, 1T48, 2F6W and 2F6Y) yang memberikan skor grid yang lebih baik dibandingkan dengan ligan *native* menggunakan metode fleksibel. Substitusi gugus metil pada zerumbon dengan gugus polar meningkatkan afinitas ikatan dengan protein target. Semua ligan uji memiliki skor grid lebih rendah dibandingkan dengan ligan *native* untuk protein 2F6W dan 2F6Y. Terdapat 2 ligan (ZERPH04 and ZERPH05) yang mempunyai afinitas lebih baik pada 1T48, sedangkan hanya ada 1 ligan (ZERPH05) yang memberikan skor grid lebih kuat dibandingkan dengan ligan *native* setelah dilakukan *docking*.

Kata Kunci: docking molekular, PTP1B, turunan zerumbon, energi afinitas ikatan

I. PENDAHULUAN

Berdasarkan data dari International Diabetes Foundation, angka kejadian diabetes di dunia pada tahun 2014 adalah 387 miliar. Sementara itu, di Indonesia terdapat 9 juta kasus diabetes. Dengan menggunakan data ini, proyeksi kasus pada 2035 akan meningkat menjadi 21,3 juta (Wild *et al.*, 2004). Protein target yang bertanggung jawab pada penyakit diabetes mellitus telah dipelajari lebih lanjut dan salah satunya melalui mekanisme penghambatan PTP1B.

Penghambatan PTP1B menghasilkan sensitisasi fungsi *signalling* insulin dan proteksi pada insulin terhadap diet yang diinduksi obesitas. Efek ganda PTP1B ini membuatnya menjadi target menarik dalam pengobatan Diabetes Mellitus Tipe 2 dengan membahas

isu penting untuk metode pengobatan saat ini (Montalibet dan Kennedy, 2005). Enzim PTP memainkan peran kunci dalam regulasi aksi insulin dengan de fosforilasi teraktifkan, auto fosforilasi IR dan downstream protein substrat seperti IRS-1/2 (Koren dan Fantus, 2007). Studi docking molekular antara PTP1B dan ligan zerumbon menunjukkan adanya afinitas pengikatan. Aktivitas dari senyawa diisolasi dengan enzim PTP1B masih lemah. Ini terkait dengan polaritas ligan (Saifudin *et al.*, 2013).

Zerumbon adalah senyawa mayor yang terdapat pada *Zingiber zerumbet*, Smith (Tzeng *et al.*, 2013). Zerumbon memiliki berbagai efek farmakologis, termasuk antioksidan, antivirus, antiinflamasi, hepatoprotection, antiplatelet agregasi, dan antibakteri (Zhang *et al.*, 2012). Zerumbon memiliki reaktivitas laten yang tinggi karena memiliki tiga ikatan ganda. Mereka adalah dua ikatan alkena dan keton *crossconjugated* pada cincin nomor 11 (Kitayama, 2011; Nadzri *et al.*, 2013). Zerumbon memiliki PTP1B nilai aktivitas penghambatan $15,9 + 4,1\%$ pada 10 mg/mL dengan studi *in vitro* (Saifudin *et al.*, 2012).

Docking molekular dapat memprediksi posisi, orientasi dan konformasi asli dari ligan molekular kecil di dalam sisi ikatan dari makromolekul target (Zoete *et al.*, 2009). Keuntungan dari studi *docking*: pemodelan struktural akurat dan prediksi dengan tepat dari aktivitasnya (Kitchen *et al.*, 2004). *Docking* molekular sebelumnya telah dilakukan terhadap zerumbon dengan protein target menunjukkan zerumbon memiliki aktivitas anti-diabetes dengan target (Santoso *et al.*, 2014). Sifat hidrofilik situs katalitik PTP1B lebih menyukai gugus hidrofilik untuk interaksi yang menguntungkan (Zhao *et al.*, 2004). Penelitian ini dilakukan dengan uji *in silico* dari zerumbon tersubstitusi gugus polar untuk meningkatkan afinitas ikatannya dengan PTP1B.

II. METODE PENELITIAN

A. Bahan

Penelitian telah dilakukan dengan menggunakan komputer dengan spesifikasi Intel Core i3 CPU 2.13 GHz, RAM 3 GB, Intel HD Graphics dan perangkat lunak kimia seperti *Marvin Beans Suite*, *Chimera*, *PyMOL*, *DOCK6.7* dan *PLIP*. Target protein telah dikumpulkan dari www.rcsb.org. terdapat 177 protein sebagai target PTP1B dan tiga ligan uji berupa [4,4,8-trimetil-7-oksosikloundeka-1,5,8-trien-1-il] metil 2,3,4,5,6-pentahidroksiheksanoat (ZERPH04), [4,4,8-trimetil-7-oksosikloundeka-1,5,8-trien-1-*Prosiding Seminar Nasional Current Challenges in Drug Use and Development Tantangan Terkini Perkembangan Obat dan Aplikasi Klinis*

il]metil 2,3,4,5,6,7-heksahidroksiheptanoat (ZERPH05) dan 2,3-dihidroksi-4-okso-4-
 {[4,4,8-trimetil-7-oksosiklo-undeka-1,5,8-trien-1-il] metoksi }butanoat (ZERPH06).

B. Metodologi

Semua protein serta ligan aslinya dipreparasi menggunakan Chimera. Validasi metode *docking* telah dilakukan untuk mendapatkan nilai ukuran grid box membandingkan nilai RMSD antara ligan asli kristalografi dan ligan asli yang *didocking*. Zerumbon, ligan derivatnya dan protein telah dilakukan *docking* molekuler menggunakan DOCK6 dengan perhitungan flexible dan rigid. Interaksi ligan-protein diperoleh menggunakan PLIP. Hasil interaksi *docking* digambarkan menggunakan PyMOL.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hanya terdapat 55 protein dari 117 yang dapat dilakukan untuk *docking* dengan ligan. Validasi metode adalah langkah yang penting untuk menganalisis *grid box* dan nilai RMSD. Sistem yang dipilih dari *docking* molekuler untuk protein menunjukkan dengan RMSD kurang dari 5. Ini menunjukkan bahwa posisi dan orientasi ligan *didocking* mirip dengan ligan kristalografi dan mendekati kondisi sebenarnya dalam tubuh manusia. Protein yang tidak terpilih masih dapat digunakan untuk *docking* tetapi dapat meningkatkan ketidakpastian. Hasil *docking* terbaik dari ligan uji ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil *docking* molecular yang dinyatakan sebagai grid score dari DOCK6

PDB ID	Ligan Native	Grid Score dari ligan (kcal/mol)			
		Zerumbon	ZERPH04	ZERPH05	ZERPH06
1ECV	-41.409973	-19.556461	-41.488949	-45.645039	-39.635265
1T48	-43.792625	-20.346582	-44.486103	-48.81712	-37.955299
2F6W	-38.039635	-22.464394	-41.751122	-41.52634	-39.251881
2F6Y	-40.649033	-19.572298	-41.736217	-43.80904	-43.310192

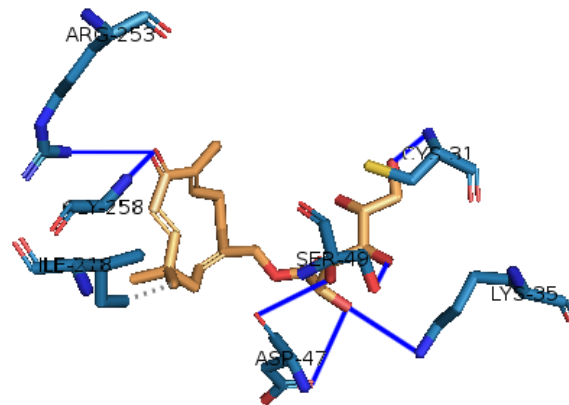
Grid Score adalah energi ikatan dari ligan yang diperlukan untuk mengikat sisi aktif protein. Energi ikatan dinyatakan sebagai energi Gibbs. Energi ini menunjukkan bahwa ikatan yang terbentuk antara ligan dan protein yang bisa terjadi secara spontan dengan afinitas tinggi jika nilainya lebih negatif (Hardono, 2013). Hal ini juga dapat meningkatkan kekuatan ikatan ligan-protein.

Residu yang berperan dalam ikatan dengan protein target 2F6W dengan ligan adalah ILE-218. Residu ini membentuk interaksi hidrofobik. Residu GLY-258 bisa membentuk ikatan hidrogen dengan ligan. Hasil ini memiliki interaksi residu berbeda dibandingkan dengan ligan asli. Residu PHE-182 berperan penting untuk membentuk interaksi hidrofobik dan ARG-24, GLN-262 dan ALA-217 (ikatan hidrogen) antara protein target 2F6Y dengan ligan. Tidak ada residu yang sama antara ligan uji dengan ligan asli.

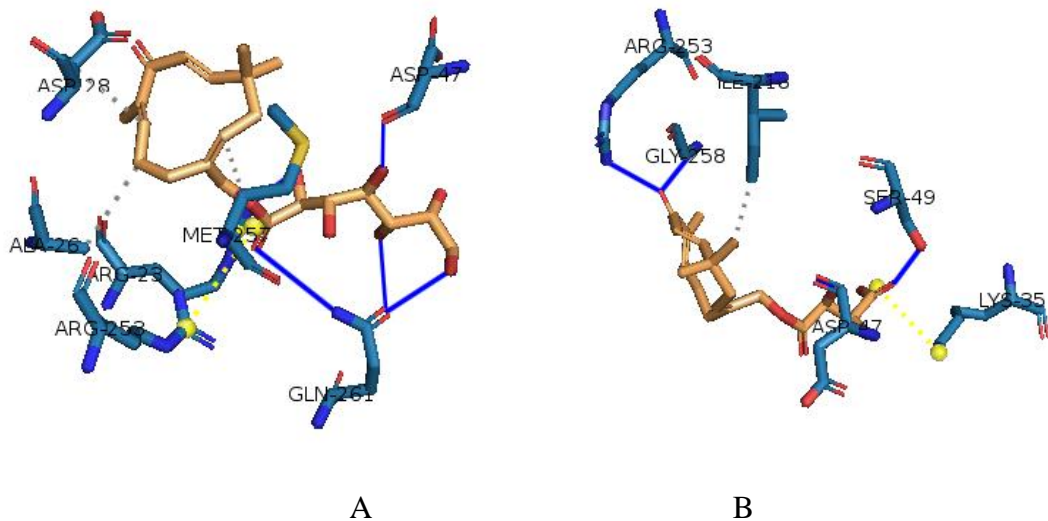
Tabel 2. Profil interaksi ligan-protein untuk 2F6W dan 2F6Y menggunakan PLIP

PDB ID	Ligan	Tipe Ikatan	Residu
2F6W	Ligan Native	<i>Hydrophobic</i>	ASP-48, VAL-49, PHE-182, ALA-217, ILE-219
		<i>Hydrogen bonds</i>	SER-216, ALA-217, GLY-218, ILE-219, GLY-220, ARG-221
		<i>Water bridge</i>	PHE-182
		<i>Salt bridge</i>	ARG-221
ZERPH04		<i>Hydrophobic</i>	ILE-219
		<i>Hydrogen bonds</i>	CYS-31, LYS-35, ASP-47, SER-49, ARG-253, GLY-258
ZERPH05		<i>Hydrophobic</i>	ALA-26, ASP-28, MET-257
		<i>Hydrogen bonds</i>	ARG-23, ASP-47, GLN-261
		<i>Salt bridge</i>	ARG-23, ARG-253
ZERPH06		<i>Hydrophobic</i>	ILE-219
		<i>Hydrogen bonds</i>	ASP-47, SER-50, ARG-253, GLY-258
		<i>Salt bridge</i>	LYS-35
2F6Y	Ligan Native	<i>Hydrophobic</i>	TYR-46, PHE-182, ALA-217, ILE-219
		<i>Hydrogen bonds</i>	<u>ASP-181</u> , SER-216, ALA-217, GLY-218, ILE-219, GLY-220, ARG-221
		<i>Water bridge</i>	PHE-182
		<i>Salt bridge</i>	ARG-221
		<i>Phi-stacking</i>	TYR-46
ZERPH04		<i>Hydrophobic</i>	PHE-182
		<i>Hydrogen bonds</i>	ARG-24, SER-28, ARG-254, GLY-259, GLN-262
		<i>Salt bridge</i>	ARG-24
ZERPH05		<i>Hydrophobic</i>	ASP-48, PHE-182
		<i>Hydrogen bonds</i>	ARG-24, LYS-120, <u>ASP-181</u> , SER-216, ALA-217, GLN-262
ZERPH06		<i>Hydrophobic</i>	TYR-46, ASP-48, PHE-182
		<i>Hydrogen bonds</i>	TYR-46, PHE-182, SER-216, ALA-217, GLY-220, ARG-221
		<i>Salt bridge</i>	ARG-221

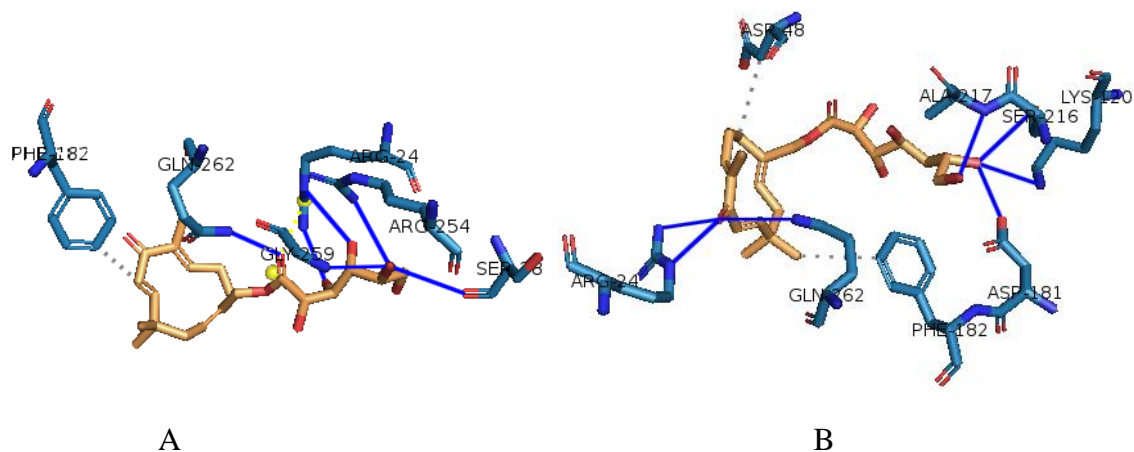
Residu yang berperan dalam interaksi hidrofobik adalah 219 ILE dan ikatan hidrogen adalah 36 LYS, 48 ASP, 50SER dan 259 GLY antara protein target kode PDB 1ECV dengan ligan uji. Ada residu asam amino yang memiliki kesamaan dengan ligan asli, yaitu 254 ARG dan 259 GLY. Terdapat beberapa residu dari 1ECV yang memiliki pengaruh yang signifikan untuk interaksi ligan-protein, khususnya ILE-219 (hidrofobik), LYS-36 dan ASP-48 (ikatan hidrogen). Mereka berbeda dengan ligan asli. Ligan asli memiliki interaksi dengan residu, ARG-254 dan GLY-259 (data tidak ditunjukkan).



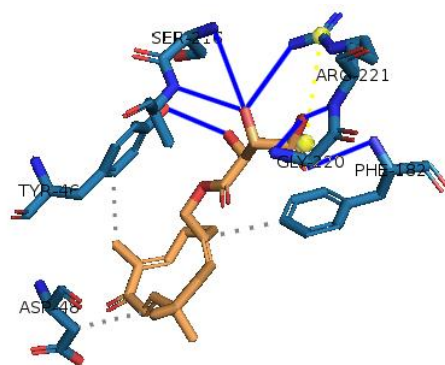
Gambar 1. Profil interaksi ligan-protein: ZERPH04 dan protein 2F6W



Gambar 2. Profil interaksi ligan-protein: ZERPH05 (A) dan ZERPH06 (B) dengan protein 2F6W.



Gambar 3. Profil interaksi ligan-protein: ZERPH04 (A) dan ZERPH05 (B) dengan protein 2F6Y.



Gambar 4. Profil interaksi ligan-protein: ZERPH06 dan protein 2F6Y

Senyawa turunan zerumbon yang tersubstitusi gugus polar memiliki ikatan yang lebih baik daripada zerumbon. Nilai ikatan yang lebih baik ditunjukkan dengan nilai *Grid Score* semakin negatif. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa gugus polar memberikan interaksi yang lebih menguntungkan. Gugus fungsi spesifik dapat berinteraksi dengan sifat hidrofilik sisi katalitik PTP1B (Zhao *et al.*, 2004).

IV. KESIMPULAN

Molekul ZERPH05 memiliki nilai *Grid Score* rendah terhadap protein target dibandingkan ligan lain. Ini berarti ZERPH05 memiliki prediksi aktivitas yang baik untuk protein target. PDB ID 2F6W dan 2F6Y memberikan nilai *Grid Score* rendah untuk semua ligan uji. Studi *in vitro* dan *in vivo* diperlukan untuk mengkonfirmasi

aktivitas anti-diabetes dari ZERPH05. PDB ID yang lain dapat *docking* dengan aplikasi *docking* lain dan optimasi metode.

DAFTAR PUSTAKA

- Hardono, B.Y., Santoso, B. and Da'i, M., 2013, Analisis Molecular Docking Energi Ikatan Turunan Diketoperazin (DKP) Sebagai Inhibitor Histon Deasetilasi (HDACi), Thesis, Universitas Muhammadiyah Surakarta
- Kitayama, T., 2011, Attractive Reactivity of a Natural Product, Zerumbone, Biosci, Biotechnol. Biochem., 75 (2): 199-207.
- Kitchen, D.B., Decornez, H., Furr, J.R., Bajorath, J., 2004, Docking And Scoring In Virtual Screening For Drug Discovery: Methods And Applications, Nat Rev Drug Discov., 3 (11): 935-49
- Koren, S. and Fantus, I.G., 2007. Inhibition of The Protein Tyrosine Phosphatase PTP1B: Potential Therapy for Obesity, Insulin Resistance and Type-2 Diabetes Mellitus, Best Pract Res Clin Endocrinol Metab., 21(4): 621-40
- Montalibet, J. and Kennedy, B.P., 2005, Metabolic Syndromes: Therapeutic Strategies for Targeting PTP1B in Diabetes, Drug Discovery Today: Therapeutic Strategies, 2(2): 129–135
- Nadzri, N.M., Abdul, A.B., Sukari, M.A., Abdelwahab, S.I., Eid, E.E.M., Mohan, S., Anasamy, T., Ng, K., Syam, S., Arbab, I.A., Rahman, H.S., Ali, H.M., 2013, Inclusion Complex of Zerumbone with Hydroxypropyl-beta-Cyclodextrin Induces Apoptosis in Liver Hepatocellular HepG2 Cells via Caspase 8/BID Cleavage Switch and Modulating Bcl₂/Bax Ratio, Evid. Based Complement Alternat. Med., 2013: 810632
- Saifudin, A., Kadota, S. and Tezuka, Y., 2013, Protein Tyrosine Phosphatase 1B Inhibitory Activity of Indonesian Herbal Medicines and Constituents of *Cinnamomum burmannii* and *Zingiber aromaticum*, J. Natural Medicines, 67(2): 264-270
- Salentin, S., Schreiber, S., V. Joachim Haupt, V. J., Adasme, M. F. and Schroeder, M., 2015, PLIP: Fully Automated Protein-ligand Interaction Profiler, Nucl. Acids Res., 43(W1): W443-W447
- Santoso, B., Hanwar, D., Suhendi, A., Kusumowati, I.T.D., and Melannisa, R., 2014, Docking Molekular Terbalik dari Senyawa Zerumbone. Prosiding Simposium Penelitian Bahan Obat Alami [SPBOA] XVI & Muktamar XII PERHIPBA, 23-24 April 2014, 464-474

- Wild, S., Roglic, G., Green, A., Sicree, R. and Hillary, K., 2004. Global Prevalence of Diabetes: Estimates for the Year 2000 and Projections for 2030, *Diabetes Care*, 27(5): 1047-53 27.
- Tzeng, T., Liou, S., Chang, C.J., Liu, I., 2013, Zerumbone, a Natural Cyclic Sesquiterpene of *Zingiber zerumbet* Smith, Attenuates Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Hamsters Fed on High-Fat Diet, *Evid. Based Complement Alternat. Med.*, 2013: 303061
- Zhang, S., Liu, Q., Liu, Y., Qiao, H., Liu, Y., 2012, Zerumbone, a Southeast Asian Ginger Sesquiterpene, Induced Apoptosis of Pancreatic Carcinoma Cells through p53 Signaling Pathway, *Evid. Based Complement Alternat. Med.*, 2012: 936030
- Zhao, H., Liu, G., Xin, Z., Serby, M.D., Pei, Z., Szczepankiewicz, B.G., Hajduk, P.J., Abad-zapatero, C., Hutchins, C.W., Lubben, T.H., Ballaron, S.J., Haasch, D.L., Kaszubska, W., Rondinone, C.M., Trevillyan, M., Jirousek, M.R., 2004, Isoxazole Carboxylic Acids as Protein Tyrosine Phosphatase 1B (PTP1B) inhibitors, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 14(22): 5543-6.
- Zoete, V., Grosdidier, A. and Michielin, O., 2009. Docking, Virtual High Throughput Screening and in silico Fragment-based Drug Design, *J. Cell Mol. Med.*, 13(2): 238-48