

STUDI *MOLECULAR DOCKING* TURUNAN *N*-FENILBENZAMIDA TERHADAP RESEPTOR DIHIDROOROTAT DEHIDROGENASE DARI *Plasmodium* *falciparum*

Indah Purnama Sary
Fakultas Farmasi, Universitas Jember
Email: indahpurnamasary.farmasi@unej.ac.id

Abstrak

Malaria merupakan penyakit parasit terpenting di seluruh dunia. Penelitian untuk megembangkan obat terutama dengan target baru telah banyak dilakukan. Enzim dihidroorotat dehidrogenase (DHODH) pada *Plasmodium falciparum* merupakan salah satu target baru obat antimalaria yang sedang dikembangkan. Pada penelitian ini, dilakukan analisis *molecular docking* untuk mendapatkan gambaran interaksi turunan *N*-fenilbenzamida dengan DHODH. Semua senyawa menghasilkan kisaran energi *docking*-85.4654 s.d -105.425 dan energi ikatan hidrogen 0 s.d -9.27068. Energi *docking* terbaik dimiliki oleh senyawa **9**, **8**, **3**, dan **4**, sedangkan senyawa **4** memiliki juga interaksi hidrogen dan sterik yang paling bayak dan kuat. Dapat diprediksikan bahwa senyawa **4** merupakan senyawa yang dapat memberikan pengaruh yang signifikan terhadap aktivitasnya sebagai antimalaria dibanding dengan senyawa yang lainnya.

Kata Kunci: *N*-fenilbenzamida, *molecular docking*, dihidroorotat dehidrogenase, antimalaria

I. PENDAHULUAN

Isu malaria masih menjadi topik yang tidak dapat dipandang sebelah mata. Penyakit ini menyebar di lebih dari 80 negara pada 6 kawasan WHO, menyebabkan 198 juta kasus dan setidaknya ada 584 ribu di antaranya merupakan kasus meninggal dunia (WHO, 2014). *Plasmodium falciparum* merupakan parasit utama penyebab penyakit ini. Parasit ini berpindah dari manusia satu ke yang lain melalui nyamuk anopheles betina. Di dalam tubuh manusia, parasit ini berkembang di dalam hati kemudian menyerang dan berkembang di dalam sel-sel darah merah, begitu seterusnya hingga darah inang dihisap oleh nyamuk anopheles betina dan disebarkan ke manusia lain dengan gigitannya (<http://www.mosquitobait.com/understanding.html>).

Penanganan malaria terutama pengembangan obat selalu menarik untuk diteliti, termasuk target-target baru untuk obat malaria. Baldwin *et al* pada tahun 2002 telah meneliti tentang enzim dihidroorotat dehidrogenase (DHODH) pada *Plasmodium falciparum* sebagai kemungkinan target obat antimalaria. Sebelumnya, telah diketahui bahwa DHODH merupakan enzim yang terlibat dalam proses penting respirasi sel dalam mitokondria makhluk hidup. DHODH merupakan enzim yang terlibat dalam biosintesis pirimidin (Berg *et al.*, 2002) Beberapa penelitian telah dilakukan dalam rangka meneliti aktivitas dan efek inhibisi beberapa senyawa terhadap DHODH pada manusia (Davis *et al.*, 1996 dan Shih *et al.*, 2014). Baldwin *et al* melanjutkan penelitiannya, kemudian pada tahun 2005 merilis laporan bahwa mereka berhasil mendapatkan data IC₅₀ dari beberapa turunan *N*-fenilbenzamida terhadap *Plasmodium falciparum*. Penelitian terbaru yang dilakukan oleh Deng *et al* telah menghasilkan struktur X-ray dari DHODH *Plasmodium falciparum* yang diikat oleh suatu turunan *N*-fenilbenzamida, DSM59, yang diklaim poten dan selektif terhadap enzim tersebut.

Turunan *N*-fenilbenzamida telah banyak disintesis dan diteliti berbagai aktivitasnya. Salah satu cara sintesis yang cukup mudah dan relatif murah dapat dilakukan dengan bahan awal 1,3-difeniltiourea dan benzoil klorida (Sary, 2015). Pada penelitian ini dilakukan tahap sebelum sintesis yaitu studi *in silico*. Dalam studi ini akan digambarkan interaksi dan afinitas antara beberapa turunan *N*-fenilbenzamida dengan DHODH melalui analisis *molecular docking*, sehingga dapat diprediksikan senyawa mana yang memberikan energi dan interaksi yang paling baik untuk dijadikan kandidat antimalaria.

II. METODE PENELITIAN

A. Alat dan Bahan

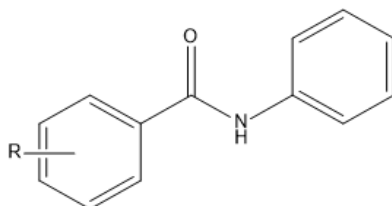
Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan komputer laptop Asus S300C dengan spesifikasi sebagai berikut: processor Intel(R) Core(TM) i5-3317U CPU @ 1.70GHz 1.70 GHz, RAM 4.00, system type 64-bit Operating System, x64 based processor. Penggambaran 2 dimensi struktur senyawa turunan *N*-fenilbenzamida dibuat menggunakan perangkat lunak ChemBioDraw 12.0, sedangkan 3 dimensi strukturnya dibuat menggunakan ChemBio3D 12.0. Reseptor 3DEL diunduh dari RSCB Protein Data Bank www.rcsb.org, dan studi *Molecular docking* dilakukan dengan perangkat lunak Molegro Virtual Docker (MVD) 5.0.0.

*Prosiding Seminar Nasional Current Challenges in Drug Use and Development
Tantangan Terkini Perkembangan Obat dan Aplikasi Klinis*

B. Metodologi

N-fenilbenzamida dan kedelapan turunannya (Tabel 1) digambar struktur 2 dimensinya menggunakan ChemBioDraw 12.0. Masing-masing gambar tersebut kemudian dipindahkan ke ChemBio3D untuk mempersiapkan struktur 3 dimensi dan diakhiri dengan meminimalkan energi dengan perhitungan MMF94 sehingga didapatkan struktur 3 dimensi yang paling stabil. Struktur 3 dimensi ini yang digunakan untuk analisis *docking* dengan reseptor DHODH menggunakan MVD 5.0.0. Sebelumnya, reseptor DHODH dari *Plasmodium falciparum* dengan kode 5DEL diunduh dari www.rscb.org. Analisis *docking* turunan *N*-fenilbenzamida diawali dengan mencari *cavity* atau sisi aktif pengikatan reseptor DHODH dengan ligan aslinya. Dari tujuh sisi aktif pengikatan, *cavity* 2 yang terpilih karena terdapat ligan asli di dalamnya. Selanjutnya, *N*-fenilbenzamida dan kedelapan turunannya dianalisis sehingga diperoleh masing-masing pose yang paling memungkinkan dari kompleks antara senyawa dengan reseptor. Pose tersebut dilengkapi dengan *rerank score* dan energi ikatan H.

Tabel 1. *N*-fenilbenzamida dan turunannya



Senyawa	Nama	R
1	<i>N</i> -fenilbenzamida	H
2	4-bromo- <i>N</i> -fenilbenzamida	4-Br
3	<i>N</i> -fenil-4-(trifluorometil)benzamida	4-CF ₃
4	4-nitro- <i>N</i> -fenilbenzamida	4-NO ₂
5	4-metoksi- <i>N</i> -fenilbenzamida	4-OCH ₃
6	2,4-dikloro- <i>N</i> -fenilbenzamida	2,4-diCl
7	<i>N</i> -fenil-3,5-bis(trifluorometil)benzamida	3,5-diCF ₃
8	4-(<i>tert</i> -butil)- <i>N</i> -fenilbenzamida	4- <i>t</i> -but
9	<i>N</i> -fenil-4-(tiofen-2-il)benzamida	4-tienil

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

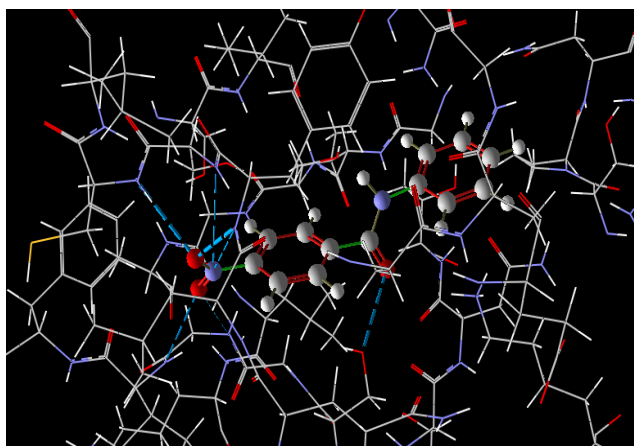
Hasil analisis *docking* dengan MVD 5.0.0 menunjukkan bahwa *rerank score* dari kedelapan turunan *N*-fenilbenzamida pada masing-masing pose yang paling memungkinkan lebih rendah daripada *N*-fenilbenzamida, seperti yang dapat dilihat pada

Tabel 2. Hal ini berarti, pengikatan kedelapan turunan *N*-fenilbenzamida terhadap reseptor DHODH lebih baik dibandingkan *N*-fenilbenzamida. Dari kedelapan turunan *N*-fenilbenzamida, senyawa **9**, **8**, **3**, dan **4** berturut-turut memiliki *rerank score* terendah. Namun jika dilihat dari energi ikatan H, senyawa **4** lah yang menjadi pusat perhatian karena memiliki energi ikatan H yang paling kuat terhadap reseptor DHODH.

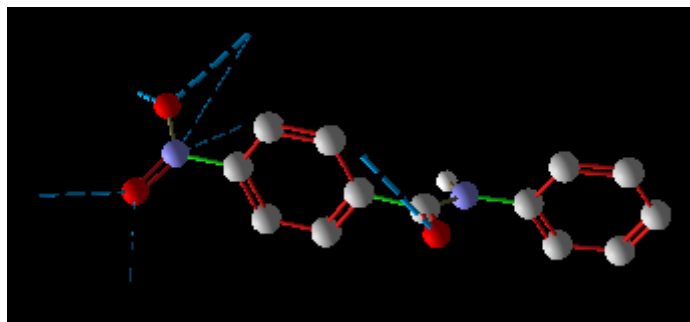
Tabel 2. Hasil perhitungan energi *molecular docking* turunan *N*-fenilbenzamida

Senyawa	<i>Rerank Score</i>	Energi Ikatan H
1	-85.4654	0
2	-86.8739	0
3	-97.3156	-1.65716
4	-97.2149	-9.27068
5	-95.4245	-2.59463
6	-90.8689	-0.537878
7	-102.199	0
8	-97.5276	-2.02929
9	-105.425	-0.534649

Dari hasil *docking*, ikatan H hanya dimiliki oleh beberapa senyawa. Energi ikatan H lemah dimiliki oleh senyawa **3**, **5**, **6**, **8**, dan **9**, sedangkan senyawa **4** memiliki energi ikatan H terkuat. Kompleks senyawa 4 dengan reseptor DHODH beserta ikatan H dapat dilihat pada Gambar 1. Dari Gambar 2 dapat dilihat bahwa substituen nitro pada posisi para sangat signifikan memberikan kontribusi pembentukan ikatan H pada kompleks antara senyawa **4** dengan reseptor DHODH. Hal ini mengindikasikan bahwa senyawa **4** merupakan kandidat yang memberikan afinitas dan interaksi terbaik dengan reseptor DHODH *Plasmodium falciparum*.

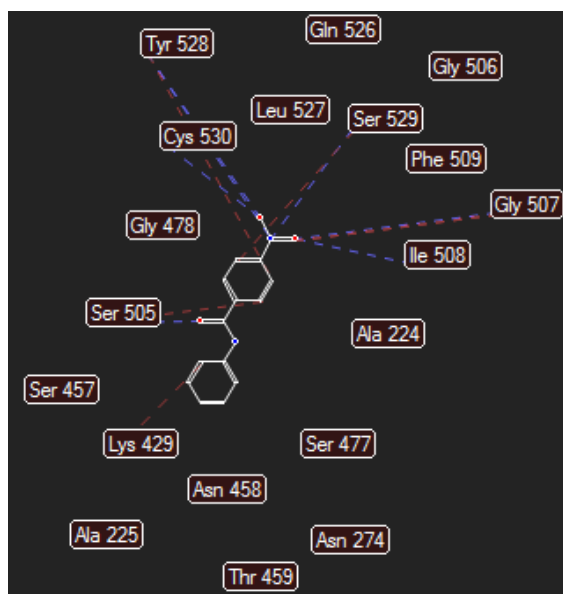


Gambar 1. Pose *docking* senyawa **4** dengan DHODH menggunakan MVD 5.0.0



Gambar 2. Ikatan H dari pose kompleks senyawa **4** dengan DHODH

Selain penggambaran ikatan H dari gambar 3 dimensi, MVD 5.0.0 juga menyediakan fitur *ligand map* untuk memprediksikan ikatan H dan interaksi sterik senyawa **4** terhadap DHODH dalam 2 dimensi. Seperti yang dapat dilihat pada Gambar 3, senyawa **4** berikatan H dengan Ser 505, Gly 507, Ile 508, Ser 529, Cys 530, dan Tyr 528, seluruhnya dengan 1buah ikatan H kecuali dengan Tyr 528 sebanyak 2 buah ikatan H.



Gambar 3. Ikatan H dan interaksi sterik dari senyawa **4** dengan residu DHODH

IV. KESIMPULAN

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa, yang pertama, senyawa *N*-fenil-4-(tiofen-2-il)benzamida (**9**), 4-(*tert*-butil)-*N*-fenilbenzamida (**8**), *N*-fenil-4-(trifluorometil)benzamida (**3**), 4-nitro-*N*-fenilbenzamida (**4**), mempunyai nilai energi terendah yaitu -105.425, -97.5276, -97.3156, -97.2149 . Kedua, senyawa 4-nitro-*N*-fenilbenzamida (**4**), mempunyai interaksi hidrogen dan sterik serta afinitas dengan

*Prosiding Seminar Nasional Current Challenges in Drug Use and Development
Tantangan Terkini Perkembangan Obat dan Aplikasi Klinis*

reseptor DHODH yang paling banyak dan kuat, sehingga dapat diprediksikan bahwa senyawa tersebut dapat memberikan pengaruh yang signifikan terhadap aktivitasnya sebagai antimalaria dibanding dengan senyawa yang lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Baldwin, J., Michnoff, C. H., Malmquist, N. A., White, J., Roth, M. G., Rathod, P. K., Phillips, M. A., 2002, Malarial Dihydroorotate Dehydrogenase Substrate and Inhibitor Specificity, *J. Biol. Chem*, 277(44): 41827–41834
- Baldwin, J., Michnoff, C. H., Malmquist, N. A., White, J., Roth, M. G., Rathod, P. K., Phillips, M. A., 2005, High-throughput Screening for Potent and Selective Inhibitors of *Plasmodium falciparum* Dihydroorotate Dehydrogenase, *J. Biol. Chem.*, 280(23): 21847–21853
- Berg, J. M., Tymoczko, J. L., Stryer, L., 2002, *Biochemistry* 5th Ed, New York: W. H. Freeman
- Davis, J. P., Cain, G. A., Pitts, W. J., Magolda, R. L., Copeland, R. A., 1996, *Biochemistry*, 35: 1270–1273
- Deng, X., Matthews, D., Rathod, P. K., Phillips, M. A., 2015, The X-ray Structure of *Plasmodium falciparum* Dihydroorotat Dehydrogenase Bound to A Potent and Selective *N*-phenylbenzamide Inhibitor Reveals Novel Binding-Site Interactions, *Acta Crystallogr., Sect.*, 71: 553-559
- Prakash, N, Patel, S., Faldu, N. J., Ranjan, R., Sudheer, D. V. N., 2010, Molecular Docking Studies of Antimalarial Drugs for Malaria, *J Comput Sci Syst Biol.*, 3(3): 070-073
- Sary, I. P., Siswandono, Budiati, T., 2015, *N*-phenylbenzamide Synthesis by Nucleophilic Substitution with 1,3-Diphenylthiourea, *Int J Pharm Sci.*, 7(3): 481-482
- Sharma, R. J., Chetia, D., 2013, Docking Studies On Quinine Analogs For Plasmeppsini-li Of Malaria Parasite Using Bioinformatics Tools, *Int J Pharm Pharm Sci.*, 5(3): 681-685
- Shih, K., Lee, C., Tsai, C., Lin, Y., Tang, C., 2014, Development of a Human Dihydroorotate Dehydrogenase (hDHODH) Pharma-Similarity Index Approach with Scaffold-Hopping Strategy for the Design of Novel Potential Inhibitors, *PLOS ONE*, 9(2): 1-11
- World Health Organization. 2014. World Malaria Report 2014. Dapat diakses dari www.who.int/malaria/publications/world_malaria_report_2014/en/