

# STUDI POTENSI SENYAWA TURUNAN KUMARIN-KALKON-UREA SEBAGAI ANTI-KANKER HATI SECARA *IN SILICO*: PENELUSURAN FARMAKOFOR, SKRINING VIRTUAL, DAN PENTAUTAN MOLEKUL

Nur Syamsi Dhuha\*, Haeria\*, Alfiana Dwi Puspita\*

\*Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Alauddin Makassar

Email: nursyamsi.dhuha@uin-alauddin.ac.id

## ABSTRAK

Kanker hati (HCC) merupakan penyakit karsinoma mematikan kedua setelah karsinoma pankreas. Hal ini berkaitan dengan sulitnya diagnosis awal serta sifat asimptomatik penyakit ini yang menyebabkan HCC terdiagnosa setelah pasien ada di stadium lanjut. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan senyawa baru sebagai calon obat berdasarkan kajian farmakofor dari turunan kumarin-kalkon-urea secara *in silico*. Prosedur dilakukan dengan melakukan pemodelan tiga dimensi senyawa dan optimasi geometri oleh *HyperChem 8.0*. Selanjutnya, penelusuran farmakofor, skrining virtual dari *Zinc Database*, serta pentautan molekul dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak MOE 2009. Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa dengan kode ZINC12138892 merupakan senyawa yang memiliki potensi sebagai calon obat kanker hati berdasarkan analisis kesesuaian pada farmakofor reseptor protein serta pentautan molekul.

Kata Kunci : *Skrining virtual, farmakofor, pentautan molekul, kumarin-kalkon-urea, kanker hati*

## PENDAHULUAN

Kanker merupakan sel yang berproliferasi secara abnormal dan merupakan penyebab kematian kedua pada manusia setelah penyakit kardiovaskular. Sudah banyak jenis pengobatan untuk antikanker, seperti kemoterapi dan radioterapi. Namun, toksisitas yang tinggi dan resistensi obat membatasi hasil terapi yang diinginkan (Rahayu dan Tjitraresmi, 2017).

Salah satu kanker yang patut diwaspadai adalah kanker hati atau biasa disebut juga dengan hepatoma. Karsinoma hepatoseluler atau *Hepatocellular Carcinoma* (HCC) merupakan penyakit hepar golongan primer yang disebabkan oleh neoplasma yang ganas, Sel ini terdiri dari sel yang menyerupai hepatosit dengan

derajat diferensiasi yang bervariasi. Pada manusia, sebagian besar HCC muncul dengan latar belakang hepatitis kronis atau sirosis. HCC merupakan karsinoma kedua paling mematikan setelah karsinoma pankreas. Hampir seluruh pasien meninggal dalam 6-7 bulan setelah didiagnosa. Prognosis buruk ini berhubungan dengan masih kurang baiknya diagnosis awal dan resistensi tumor karena HCC bersifat asimptomatik atau gejalanya baru terbentuk saat stadium lanjut (Alianto, 2015). Karena lambatnya disadari pasien yang terkena HCC, hanya 15% yang dapat melakukan pengobatan kuratif. Selain itu, beberapa pasien mungkin menderita akibat pengobatan

dengan operasi yang berkelanjutan atau berulang (Elbaz, et. al. 2013).

Pengobatan HCC saat ini secara umum adalah bedah reseksi dan kemoterapi, namun tidak memberikan efek yang signifikan pada HCC, kecuali untuk transplantasi hati, sehingga pilihan terhadap penggunaan agen kemoterapi masih terbatas (Kurt, et al. 2017). Oleh karena itu, usaha terhadap pencarian antikanker hati yang baru sangat diperlukan untuk memaksimalkan efektivitas dan meminimalkan toksisitasnya.

*Vascular endothelial growth factor receptor* (VEGFR) tirosin kinase adalah target obat yang telah divalidasi secara klinis untuk terapi kanker. VEGF/VEGFR2 dianggap sebagai jalur proangiogenik paling penting untuk meningkatkan semua tahap angiogenesis termasuk permeabilitas vaskular, kelangsungan hidup sel endotelial, proliferasi, migrasi atau invasi ke jaringan sekitar, dan pembentukan tabung kapiler. Perkembangan kanker sering dikaitkan dengan ekspresi VEGF, dan jalur sinyal VEGF/VEGFR2 pada umumnya dianggap sebagai mediator utama tumor angiogenesis, sehingga VEGF/VEGFR2 merupakan sistem target untuk intervensi terapeutik pada kanker (Elbaz, et. al. 2013).

Upaya pengembangan obat yang telah ada dapat dilakukan dengan rancangan obat. Rancangan obat bertujuan untuk mendapatkan obat baru dengan

aktivitas yang lebih baik dan mempunyai toksisitas yang lebih rendah melalui modifikasi struktur. Modifikasi struktur dilakukan dengan mensintesis sejumlah turunan senyawa induk, melakukan identifikasi struktur dan melakukan uji aktivitas biologisnya. Perubahan struktur dari suatu senyawa akan mengubah sifat fisikokimia senyawa, termasuk sifat lipofilik, elektronik dan sterik, dan perubahan sifat fisikokimia ini akan menyebabkan perubahan aktivitas biologis senyawa (Elbaz, et. al. 2013).

Kumarin (1,2H-chromen-2-on atau 2H-1-benzopiran-2-on) adalah senyawa bisiklik yang bersifat oksigen heterosiklik, terdiri dari benzena dan cincin 2-pyrone. Kumarin juga merupakan kelas luas dari senyawa alami dan sintetis yang menunjukkan aktivitas farmakologi yang beragam, salah satunya adalah sebagai antikanker (Basanagouda, et al. 2014).

Kalkon (1,3-difenil-2-propen-1-on) terdiri dari dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh gugus karbonil tak jenuh, yang termasuk dalam produk alami kelas flavonoid. Kalkon telah menarik perhatian peneliti karena sifat farmakologisnya dan turunan sintetisnya memiliki aktivitas sitotoksik yang signifikan terhadap berbagai kanker (Pingaew, et al. 2014).

Turunan urea, terutama bis-aril urea, adalah salah satu kelas yang terkenal di antara agen antikanker, karena aktivitas penghambatan yang kuat terhadap pertumbuhan sel kanker. Sorafenib dan

turunan diariil-urea yang serupa telah memberikan sintesis turunan urea baru karena aktivitas antiproliferatif yang tinggi (Lu, et al. 2014).

Pada penelitian antikanker sebelumnya, dilaporkan bahwa aktivitas kumarin, kalkon dan urea, yang sekarang ditangani dengan desain dan sintesis turunan kumarin-kalkon-urea terbukti bahwa senyawa yang disintesis menghambat proliferasi sel kanker, tetapi senyawa tersebut tidak menunjukkan efek penghambatan proliferasi pada sel normal dikonsentrasi yang sama (Kurt, et al. 2017).

Berdasarkan uraian diatas, maka penelitian ini akan mengkaji potensi pengembangan obat antikanker hati dari turunan kumarin-kalkon-urea dengan metode penelusuran farmakofor serta pentautan molekul berdasarkan hasil virtual skринing senyawa dari tanaman alam.

## **METODOLOGI PENELITIAN**

### **Software.**

Sistem operasi *Windows™ 7 Ultimate*, *Hyperchem® release 8.0.*, *Molecular Operating Environment (MOE) release 2009.10*, *Zinc Database*.

### **Hardware.**

Komputer *Processor Intel® Core™ 2 Duo* CPU E7500 @ 2.93 GHz 2.94 GHz, RAM 2,00 GB dan *harddisk 700 GB* dan laptop dengan spesifikasi *Processor Pentium® Dual-Core* CPU T4400® 2.20 GHz 220 GHz, RAM 4,00 GB dan *harddisk 500 GB*.

## **Penelusuran Farmakofor dan Skринing Virtual**

Protein VEGFR2 (dengan kode 3WZE dan 4ASD) diunduh dari situs RCSB.PDB. Seluruh struktur ligan dan protein kemudian dibuka pada jendela MOE dan disejajarkan sehingga rantai memiliki struktur yang sama yang akan bergerak bersama-sama sebagai satu unit. Dengan cara ini kompleks protein-ligan dapat disejajarkan. File kemudian disimpan sebagai database.

Setelah senyawa penuntun terbuka pada jendela MOE, *Pharmacopore Query editor* dibuka dengan perintah *MOE> File> New> Pharmacopore Query*. Skema anotasi farmakofor otomatis membuat *query pharmacopore*, sehingga pada jendela MOE akan terlihat fitur-fitur farmakofor yang terdapat pada senyawa penuntun. Skema anotasi yang digunakan adalah *unified*. Titik anotasi yang sesuai dengan hasil penelitian interaksi ligan reseptor dan SAR dipilih untuk menjadi fitur farmakofor.

Langkah ketiga adalah menjalankan *pharmacophore search*. Tujuannya adalah untuk menguji *query pharmacophore* apakah cocok dengan fitur-fitur farmakofor dari keseluruhan senyawa atau sebagian senyawa yang terbaik, sehingga dapat ditentukan fitur berperan penting pada aktivitas senyawa. Perbaikan query dimaksudkan untuk memodifikasi *query* atau menghasilkan kecocokan dengan pengaturan *query* yang lebih ketat.

Untuk molekul yang mirip dapat diselaraskan dan dibuat konsensus sehingga memudahkan untuk memilih fitur farmakofor. Konsensus farmakofor menyediakan fitur yang disarankan yang terdapat pada molekul-molekul yang selaras. Penyelarasan (alignment) senyawa-senyawa dalam database konformasi dengan menggunakan *MOE's Flexible Alignment*, dengan urutan perintah *MOE> Compute> Simulations> Flexible Alignment*.

Langkah keempat adalah virtual skrining, dengan mendownload terlebih dahulu beberapa ribu senyawa dari *zinc database*. Senyawa-senyawa yang telah didownload kemudian disimpan sebagai database, untuk melakukan langkah virtual skrining ikuti beberapa perintah *MOE> Compute> Pharmacophore> Search*. Tujuan virtual skrining adalah untuk memperoleh senyawa-senyawa yang hits antara senyawa-senyawa dari *zinc database* dengan fitur farmakofor yang diperoleh.

### **Docking Molekul**

Ligan dalam bentuk struktur tiga dimensi dioptimasi dengan metode *Ab initio* menggunakan program *Hyperchem*. Struktur kemudian disimpan dalam format \*.mol. File dibuka pada jendela MOE. Struktur diprotonisasi untuk menambahkan hidrogen dan muatan parsial, dengan Protonisasi tiga dimensi. Urutan perintah *MOE > Compute > Protonate 3D*. File kemudian disimpan dalam database\*.mdb.

Reseptor diunduh dari situs RSCB.PDB dalam format \*.pdb/\*.ent. Molekul air kemudian dihapus dari struktur. Protein kemudian diprotonisasi dengan langkah yang sama pada preparasi ligan. Untuk memastikan telah dilakukan protonisasi, dilakukan pengecekan hingga dipastikan tiap atom pada molekul memiliki muatan.

Ligan dan reseptor yang telah diprotonisasi dibuka dalam jendela MOE. Panel simulasi docking dibuka dengan urutan perintah *MOE > Compute > Simulations > Dock*. Receptor pada panel *Dock* diatur *Receptor + Solvent*, Site diatur *Ligand atoms*. Ligan diatur *MDB File* (atau *Selected atoms* jika ligan terbuka pada jendela MOE dan di-select). *Placement* diatur *Proxy triange*, *rescoring 1* menggunakan *Alpha HB* dan refinement diatur *Forcefield* dan *rescoring 2* menggunakan *Alpha HB*. Posisi *docking* terbaik dipilih berdasarkan nilai rmsd ( $\leq 2$ ) atau kedekatan dengan struktur ligan dan nilai *scoring* terendah.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Penelusuran Farmakofor dan Virtual Skrining**

Terdapat dua struktur yang telah dilaporkan (diunduh dari situs [www.rcsb.org](http://www.rcsb.org)) dengan kode protein 3WZE dan 4ASD dimana ligan alami yang dipilih dari kedua reseptor-ligan adalah sorafenib. Sidik jari ligan sorafenib menunjukkan bahwa asam amino yang penting pada

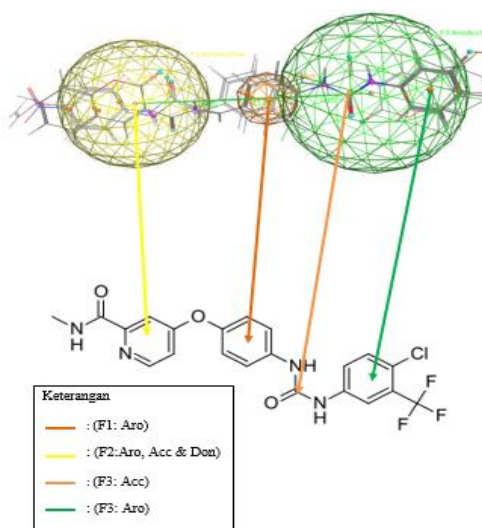
ligan adalah GLU 885, CYS 919 dan ASP 10461 dengan kode sidik jari DDdadaaa.

D : Donor ikatan hidrogen rantai samping protein.

a : Akseptor ikatan hidrogen *backbone* protein

d : Donor ikatan hidrogen *backbone* protein

Penelusuran farmakofor terhadap interaksi ligan-reseptor senyawa sorafenib dan reseptor VEGFR2 yaitu memiliki gugus aromatik (F1 & F2: Aro), donor dan akseptor proton (F3: Acc & Don), gugus aromatik, serta donor dan akseptor proton (F4: Aro, Acc, & Don). Didapatkan jarak fitur farmakofor wilayah *hinge* dengan wilayah *gatekeeper* adalah 6,50 Å. Wilayah *hinge* dengan wilayah selektif adalah 11,65 Å, serta wilayah *gatekeeper* dan wilayah selektif adalah 5,10 Å.



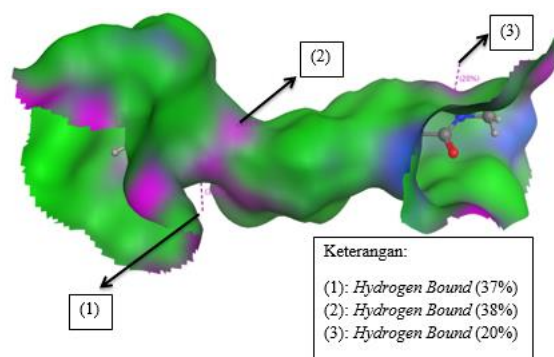
Gambar 1. Query farmakofor inhibitor VEGFR2.

Berdasarkan farmakofor interaksi ligan-reseptor senyawa sorafenib dan reseptor VEGFR2, dilakukan proses skrining virtual terhadap 23.340 senyawa

yang diunduh dari situs <http://zinc.docking.org/>. Proses tersebut menghasilkan 6 senyawa kimia bahan alam yang yang berpotensi memiliki mekanisme kerja yang sama seperti interaksi senyawa sorafenib dan reseptor VEGFR2. Enam senyawa tersebut kemudian ditautkan secara molekuler dengan farmakofor reseptor VEGFR2 untuk menganalisis interaksinya.

### Pentautan Molekul

Asam amino utama yang berpengaruh pada reseptor VEGFR2 menurut Temirak et al. (2012) adalah Glu885 dan Asp1048, selain itu ada pula asam amino Lys868, dan Cys919. Tanpa kedua asam amino utama, maka efek inhibitor VEGFR2 tidak akan terjadi.



Gambar 2. Interaksi ligan asli protein 3WZE

Berdasarkan hasil pentautan molekul serta analisis interaksi yang dilakukan pada 6 senyawa di atas, senyawa ZINC12138892 dan ZINC34633488 menunjukkan interaksi terhadap asam amino Glu885 dan Asp1048 dengan membentuk jembatan garam terhadap residu asam pada reseptor VEGFR2 sehingga menghasilkan efek inhibitor.

## KESIMPULAN

Penelusuran farmakofor menunjukkan asam amino yang penting dalam interaksi inhibitor reseptor VEGFR2 dengan senyawa turunan kumarin-kalkon-urea maupun senyawa alami dari reseptor adalah Glu885 dan Asp1048. Gugus-gugus fungsi farmakofor yang berperan dalam interaksi ligan-reseptor memiliki fitur gugus aromatik (F1 & F2: Aro), donor dan akseptor proton (F3: Acc & Don), gugus aromatik, serta donor dan akseptor proton (F4: Aro, Acc, & Don).

Skrining virtual terhadap senyawa-senyawa alami (<http://zinc.docking.org/>) yang berpotensi sebagai inhibitor reseptor VEGFR2 berdasarkan fitur farmakofor adalah SN00002719, ZINC08439619, ZINC08555320, ZINC12138892, ZINC34633488, dan ZINC40310270, namun yang memiliki interaksi yang baik dengan adanya interaksi dengan asam amino Glu885 dan atau Asp1048 adalah senyawa ZINC08555320 dan ZINC12138892.

## KEPUSTAKAAN

- Alianto, Ricky. 2015. *Gambaran Histopatologi Karsinoma Hepatoseluler*, Cermin Dunia Kedokteran-229, Vol. 42 No. 6.
- Basanagouda, Mahantesha *et al.* *Synthesis, structure–activity relationship of iodinated-4-aryloxymethyl-coumarins as potential anti-cancer and anti-mycobacterial agents*. 2013.
- Chen, Jia-Nian *et al.* *Design, synthesis, and biological evaluation of novel quinazoliny-diaryl urea derivatives as potential anticancer agents*. 2016.
- Dehmer, Matthias, *et al.* *Statistical Modelling of Molecular Descriptors in QSAR/QSPR*. Wiley-Blackwell: Jerman. 2008.
- Elbaz, Tamer *et al.* *Management of Hepatocellular Carcinoma: Updated Review*. 2013.
- Farhat. *Vascular Endothelial Growth Factor pada Karsinoma Nasofaring*. Majalah Kedokteran Nusantara Volume 42 y No. 1 y Maret 2009 2009.
- Gao H, Nishida J, Saito S dan Kawabata J. *Inhibitory Effect of 5,6,7 Trihydroxyflavones on Tyrosinase*. *Molecules*. 2007.
- Goel dan Mercurio. *VEGF targets the tumour cell*. 2013.
- Hawash, Mohammed M.A. *et al.* *Synthesis and biological evaluation of novel pyrazolic chalcone derivatives as novel hepatocellular carcinoma therapeutics*. 2017.
- Hou, Tingjun *et al.* *ADME Evaluation in Drug Discovery*. Hou, Tingjun *et al.* *ADME Molecular Pharmaceutics* Vol. 8 No.3. 2007.

- Kemenkes RI. *InfoDATIN Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan*. 2015.
- Kementrian Agama. *Al-Qur'an dan Terjemahnya*. 2018
- Kesuma, dkk. *Uji in silico Aktivitas Sitotoksik dan Toksisitas Senyawa Turunan N-(Benzoil)-N'- feniltiourea Sebagai Calon Obat Antikanker*. 2018
- Kurt, Belma Zengin et al. *Synthesis and biological evaluation of novel coumarin-chalcone derivatives containing urea moiety as potential anticancer agents*. *Arabian Journal of Chemistry*, 2017.
- Leach, A. R. *Molecular Modelling: Principles and Applications*. Longman. London 1996.
- Lu, Chenshu et al. *Design, synthesis and evaluation of novel diaryl urea derivatives as potential antitumor agents*, *European Journal of Medicinal Chemistry* Vol. 77, 2014.
- Mai, Chun Wai et al. *Chalcones with electron-withdrawing and electron-donating substituents: Anticancer activity against TRAIL resistant cancer cells, structure activity relationship analysis and regulation of apoptotic proteins*. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2014.
- Mohan V, et al. *Docking: Successes and Challenges*. *Current Pharmaceutical Design* Vol. 11, 2005.
- Nahdenla RR. *Molecular Modelling : A powerfull Tool for Drug Design and Molecular Docking*. J. Resonance. 2004.
- O'Rourte et al. *John Kerr and Apoptosis*. 2000.
- Pingaew, Ratchanok et al. *Synthesis, biological evaluation and molecular docking of novel chalconecoumarin hybrids as anticancer and antimalarial agents*. 2014.
- Rahayu, Alsya Utami dan Ami Tjitraresmi. *Aktivitas Farmakologi Dari Senyawa Kalkon Dan Derivatnya*, *Farmaka* Vol. 15 Nomor 12017.
- Salem, Mounir A. I. et al. *Synthesis and Characterization of Some New Coumarins with In Vitro Antitumor and Antioxidant Activity and High Protective Effects against DNA Damage*. *Molecules* Vol. 21 No. 2, 2016.
- Sudiana, I Ketut. *Patobiologi Molekular Kanker*. Jakarta: Salemba Medika. 2008.
- Temirak et al. *Rational Drug Design for Identifying Novel Multi-target Inhibitors for Hepatocellular Carcinoma*. 2012.
- Thurston, G. et al. *The Delta Paradox: DLL4 Blockade Leads to more Tumour Vessels but less Tumour Growth*. 2007.
- Verma, Rajeshwar P. dan Corwin Hansch. *Use of <sup>13</sup>C NMR Chemical Shift as*

QSAR/QSPR *Descriptor*. Chem.  
Rev. 2011.

Wermuth, Camille Georges. *The Practice  
of Medicinal Chemistry*. Academic  
Press: United States. 2008.