

STUDI HUBUNGAN KUANTITATIF STRUKTUR-AKTIVITAS (HKSA) DAN DOCKING MOLEKULER SENYAWA TURUNAN OXABICYCLOHEPTENE SULFONAMIDE (OBHS) SEBAGAI ANTAGONIS RESEPTOR ESTROGEN- α PADA TERAPI KANKER LEHER RAHIM (SERVIKS)

Nursalam Hamzah, Afrisusnawati Rauf, Asyraf Anam

Jurusan Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Alauddin, Makassar

ABSTRACT

A research study of quantitative structure-activity relationship (QSAR) and molecular docking of Oxabicycloheptene Sulfonamide (OBHS) derivatives as Estrogen Receptor α (ER α) antagonist in Cervical Cancer treatment was performed. This study aims to find similarities QSAR models of Oxabicycloheptene Sulfonamide derivatives as ER α antagonist and assess the interaction model of Oxabicycloheptene Sulfonamide derivatives towards the side of the ER α (pdb code: 1G50 and 3ERT) binding (binding site). In this research tested against 9 Oxabicycloheptene Sulfonamide derivative compounds. The first, drawing compounds and ab initio optimization at the HyperChem program. Further test descriptor values, statistical calculation method multilinear regression analysis, z-score validation and Leave-One-Out validation method. Obtained from experiments performed equation : $\log 1/IC_{50} = 5.2006 + (-3.52E-06 AM1_Eele) + (4.46E-05 AM1_HF) + (0.5737 \log S) + (0.8919 mr) + (-0.0392 vol)$, which $n = 9$, $r^2 = 0.9404$, and $q^2 = 0.7388$. In the process of molecular docking, ligand and receptor preparation done first before to performing docking simulation. Obtained results from docking to protein code 1G50 experiments which compound 13 showed better results with a docking score (S) -12.2016. Then, results from docking to protein code 3ERT experiments which compound 12 showed better results with a docking score (S) -10.3484.

Keywords : QSAR, molecular docking, OBHS, estrogen receptor α , cervical cancer

PENDAHULUAN

Estrogen mengatur pertumbuhan dan perkembangan melalui aksi dua reseptor estrogen yang berbeda (ERs), ER α dan ER β , yang memediasi proliferasi dan diferensiasi sel (Erin K. Shanle, 2011). Estrogen akan menyebabkan meningkatnya rangsangan terhadap ekspresi HPV onkogen, menyebabkan proliferasi dari kanker leher rahim dan mencegah terjadinya apoptosis. Estrogen berikatan dengan reseptornya sitosol/nuklir (ER α dan ER β) dan reseptor membran GPR30 untuk dapat berfungsi. Estrogen mengikat ERs dalam sitoplasma dan menginduksi homo atau hetero-ER dimerisasi.

Estrogen terikat ERs kemudian terjadi translokasi di nukleus, di mana estrogen akan mengaktifkan atau memengaruhi gen target oleh dua mekanisme yang berbeda. Jalur klasik: ER mengikat ERE dan memodulasi gen target. Jalur non klasik: ER mengikat AP1 atau Sp1 yang merupakan faktor transkripsi terkait dengan modifikasi fungsi estrogen. Estrogen juga berikatan ke reseptor membran GPR30 merupakan reseptor G-Protein, dan menyebabkan terjadinya transduksi berbagai jalur sinyal tidak terbatas pada fosfatidil inositol 3-kinase (PI3K) tetapi juga mitogen-activated protein kinase (MAPK),

dan sinyal Ca^{2+} (jalur non-genomik). Hal ini akan dapat mengaktifasi *multipotent reserve cell*. *Multipotent reserve cell* yang ada pada squamocollumnar junction serviks adalah jenis sel progenitor untuk kanker serviks. Infeksi HPV (SDM-HPV), seperti HPV-16, menginfeksi dan bertahan dalam sel-sel, dan menyebabkan terjadinya differensiasi menyimpang dari serviks, yang mengarah ke metaplasia skuamosa atipikal (ASM). ASM dapat berkembang menjadi neoplasia intraepitel servikal (CIN) kelas 1-3 dan akhirnya kanker serviks. Infeksi HPV juga berhubungan dengan aktivasi protoonkogen E6 dan E7 yang berhubungan dengan hambatan aktivasi tumor *supressor* gen seperti P53 dan PRb. Kesimpulannya terdapat sinergi antara HPV dan estrogen pada kanker serviks (Sang-Hyuk Chung.2010).

Sebuah review baru menemukan bahwa obat yang dapat menghambat kinerja hormon estrogen (salah satu penyebab kanker leher rahim) terbukti dapat menurunkan risiko kanker. Obat-obat tersebut menghambat kinerja estrogen dengan bekerja sebagai anti Reseptor Estrogen. Manghong Zhu, dkk (2013) telah melakukan studi SAR (*Structure Activity Relationship*) senyawa-senyawa turunan Oxabicycloheptene sulfonate (OBHS) yang telah mengalami penggantian gugus sulfonate menjadi Sulfonamida sekunder atau tersier terhadap aktivitasnya sebagai antagonis

estrogen reseptor (ER) berdasarkan afinitas pengikatan reseptornya yang sangat baik melalui radiometric assays sehingga dihasilkan aktivitas transkripsional antagonis (inhibisi) estrogen reseptor berupa IC50 hasil evaluasi secara in vitro yaitu *HepG2 cell reporter Gene assays* terhadap satu seri senyawa analog OBHS.

Pada penelitian ini akan dilakukan studi HKSA dan *docking* molekuler terhadap senyawa turunan Oxabicycloheptene Sulfonamide (OBHS). Hubungan Kuantitatif Struktur-Aktivitas (HKSA), dalam artian yang paling sederhana, adalah metode untuk membangun model komputasi atau matematika yang mencoba untuk menemukan korelasi yang signifikan secara statistik antara struktur dan fungsi menggunakan teknik *chemometric* (Jitender Verma, 2010). *Docking* molekuler adalah penggunaan komputerisasi dalam memasang suatu molekul kecil pada reseptor (bagian ini sering didefinisikan sebagai sisi aktif dari enzim) melalui representasi yang dihasilkan komputerisasi, yang diikuti oleh evaluasi struktur molekul dalam hal ini yaitu bentuk dan karakteristiknya seperti parameter elektrostatis (Gao, 2007; Abraham, 2003; Nadendla, 2004).

METODOLOGI PENELITIAN

Bahan dan Alat

Pada penelitian ini digunakan base struktur molekul dan aktivitas ER inhibitor

(IC50) hasil eksperimen secara *in vitro* dari 9 senyawa turunan Oxabicycloheptene sulfonamide, Fulvestrant, 4-OH Tamoxifen, dan senyawa induk OBHS sendiri dari penelitian Manghong Zhu *et al* (2013). Data ini disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Data aktivitas inhibisi (IC50) senyawa turunan oxabicycloheptene sulfonamide (OBHS) terhadap ER α (Manghong Zhu, et al, 2013: 18-19)

No. senyawa	R ₂	Ar	ER α antagonist mode	
			IC ₅₀	Eff(%E ₂)
1	H	C ₆ H ₅	-	83 ± 5
2	H	4-CH ₃ -O-C ₆ H ₄	-	-
3	H	2-Cl-C ₆ H ₄	-	89 ± 4
4	H	4-Cl-C ₆ H ₄	-	65 ± 3
5	CH ₃	C ₆ H ₅	0,74	56 ± 2
6	CH ₃	4-CH ₃ -O-C ₆ H ₄	-	-
7	CH ₃	2-Cl-C ₆ H ₄	0,45	41 ± 1
8	CH ₃	4-Cl-C ₆ H ₄	-	-
9	CH ₂ CH ₃	C ₆ H ₅	0,35	10 ± 2
10	CH ₂ CH ₃	4-CH ₃ -O-C ₆ H ₄	0,72	3 ± 1
11	CH ₂ CH ₃	2-Cl-C ₆ H ₄	0,75	20 ± 4
12	CH ₂ CH ₃	4-Cl-C ₆ H ₄	0,43	7 ± 1
13	CH ₂ CF ₃	C ₆ H ₅	0,19	1 ± 3
14	CH ₂ CF ₃	4-CH ₃ -O-C ₆ H ₄	<i>n.d</i>	-12 ± 0
15	CH ₂ CF ₃	4-Cl-C ₆ H ₄	0,93	3 ± 2
16	CH ₂ CH ₃	α -naphthyl	6,49	23 ± 2
17	Fulvestrant		0,00033	-7 ± 1
18	4-OH Tamoxifen		0,0030	35 ± 3
19	OBHS		0,014	70 ± 12

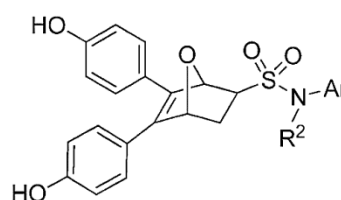
Ket. : - senyawa 2, 6, dan 8 tidak diuji/essay
 - senyawa 14 sudah diuji sebelumnya pada dosis tunggal (10⁻⁵ M)

Instrumen yang digunakan dalam penelitian ini adalah perangkat keras berupa satu buah komputer jinjing (notebook) dengan spesifikasi : Processor Intel® Pentium® Dual Core T4300 @ 2.1 GHz 2.1 GHz, RAM 2,00 GB dan harddisk 160 GB, yang memiliki perangkat lunak berupa sistem operasi Windows™ 8.1, Hyperchem® release 8.0, Molecular Operating Environment (MOE) release 2009.10 dan SPSS 17.0 for Windows.

Prosedur Kerja

Hubungan Kuantitatif Struktur-Aktivitas

Studi HKSA diawali dengan pemodelan struktur senyawa turunan OBHS menggunakan program HyperChem. Selanjutnya struktur senyawa dioptimasi menggunakan metode *Ab initio* dengan parameter basis set *small*. Senyawa dioptimasi menggunakan metode *Ab initio* dengan parameter basis set *small*.



Gambar 1. Struktur dasar Oxabicycloheptene Sulfonamide (OBHS)

Setelah itu dilakukan kalkulasi deskriptor menggunakan program MOE. Deskriptor yang dihitung adalah AM1_E, AM1_Eele, AM1_HOMO, AM1_LUMO, AM1_dipole, AM1_HF, log P (o/w), log S, glob, ASA_H, mr, vol, dan VSA. Selanjutnya dilakukan perhitungan statistik. Semua variabel dianalisis menggunakan regresi multilinear metode *backward*. Selanjutnya model-model yang terpilih divalidasi silang dengan metode *Leave One Out*. Persamaan HKSA yang terpilih adalah persamaan dengan nilai kriteria statistik terbaik dan memenuhi kriteria validasi yaitu $q^2 \geq 0.5$ dan memiliki jumlah signifikansi tinggi pada analisis korelasi *pearson*.

Docking Molekuler

Pada docking molekuler setelah ligan dalam bentuk struktur tiga dimensi dioptimasi dengan metode *Ab initio*, struktur diprotonasi dengan Protonasi 3D. Selanjutnya protein diunduh dari situs *RSCB.PDB* dengan kode 1G50 dan 3ERT. Molekul air kemudian dihapus dari struktur. Protein kemudian diprotonasi dengan langkah yang sama pada preparasi ligan. Setelah itu dilakukan simulasi docking. Posisi *docking* terbaik dipilih berdasarkan nilai *rmsd* (≤ 2) dan nilai *scoring* terendah.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hubungan Kuantitatif Struktur-Aktivitas

Dari sepuluh kombinasi lima deskriptor yang digunakan, persamaan yang dipilih berdasarkan kriteria-kriteria statistik yaitu adalah persamaan pertama (Tabel 2) yaitu, $\log 1/IC_{50} = 5.2006 + (-3.52E-06 AM1_Eele) + (4.46E-05 AM1_HF) + (0.5737 \log S) + (0.8919 mr) + (-0.0392 vol)$. Regresi multilinier terbaik yang berisi lima deskriptor ini menghasilkan korelasi yang baik dengan hasil eksperimen ($r^2 = 0.9404$) dan validasi silang LOO $q^2 = 0.7388$.

Tabel 2. Kombinasi deskriptor dengan nilai kriteria statistik, validasi Leave One Out (q^2), dan jumlah signifikansi pearson

Senyawa	IC ₅₀ (Eksperimen)	IC ₅₀ (Prediksi)
05	0.74	0.3697
07	0.45	0.3446
09	0.35	0.5611
10	0.72	0.5799
11	0.75	0.9482
12	0.43	1.0229
13	0.19	0.2419
15	0.93	0.7195
16	6.49	4.4319

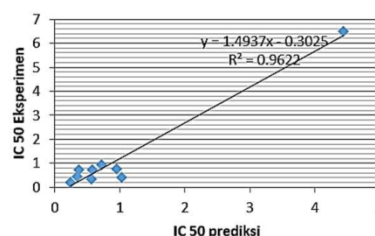
Pada analisis korelasi *pearson* menggunakan SPSS, dari persamaan yang digunakan yaitu persamaan pertama diperoleh hasil seperti yang ditunjukkan pada tabel 3. Dari model persamaan yang terpilih, aktivitas senyawa turunan OBHS dipengaruhi oleh deskriptor- deskriptor yaitu AM1_Eele, AM1_HF, log S, mr, dan vol, yang artinya dapat diusulkan untuk meningkatkan aktivitas dengan mengganti substituen dengan yang memiliki sifat yaitu memiliki energi elektronik (AM1_Eele) yang lebih rendah, panas pembentukan (AM1_HF) yang lebih rendah, nilai log S yang besar, seperti gugus hidroksil (-OH), karboksil (-COOH) dan golongan amino. Substituen yang memiliki nilai mr yang besar, seperti I (13.8741) dan Br (8.6782), serta substituen yang memiliki nilai vol yang lebih kecil.

Tabel 3. Output statistik koefisien korelasi pearson antar variabel pada persamaan terbaik

	AM1_Eele	AM1_HF	logS	mr	vol
Log 1/IC ₅₀	0.528	0.472	0.591	-0.753	-0.753
Pearson Correlation					
Sig. (2-tailed)	0.144	0.199	0.094	0.019	0.019
N	9	9	9	9	9

*. Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

Tabel 4. perbandingan aktivitas IC₅₀ eksperimen dan aktivitas IC₅₀ prediksi



Gambar 2. Kurva hubungan aktivitas IC₅₀ eksperimen dan aktivitas IC₅₀ prediksi model persamaan terbaik

1G50

No	Deskriptor	r	r ²	F	S	q ²	Sig. Korelasi Pearson	R ² Kurva Hubungan IC ₅₀ Eksperimen vs IC ₅₀ Prediksi
1	AM1_Eele, AM1_HF, log S, mr, vol	0.9697	0.9404	9.4711	0.0467	0.7388	2	0.9622
2	AM1_dipole, AM1_LUMO, mr, vol, VSA	0.9627	0.9269	7.6117	0.0627	-3217.5162	2	0.9825
3	AM1_E, AM1_HF, log S, mr, vol	0.9524	0.9070	5.8582	0.0882	0.7421	2	0.967
4	AM1_dipole, AM1_Eele, AM1_HF, AM1_LUMO, log P (o/w)	0.9486	0.9000	5.4015	0.0978	0.4408	0	0.9841
5	AM1_Eele, AM1_HF, log P (o/w), mr, vol	0.9475	0.8979	5.2791	0.1007	0.8490	0	0.9162
6	AM1_dipole, AM1_E, AM1_HF, AM1_LUMO, log P (o/w)	0.9385	0.8808	4.4349	0.1250	0.3981	0	0.9883
7	AM1_E, AM1_HF, log P (o/w), mr, vol	0.9374	0.8788	4.3526	0.1279	0.8100	2	0.9243
8	AM1_dipole, AM1_HF, AM1_HOMO, AM1_LUMO, log P (o/w)	0.9357	0.8756	4.2245	0.1326	0.0772	0	0.9712
9	AM1_dipole, AM1_Eele, AM1_HF, AM1_LUMO, log S	0.9344	0.8731	4.1293	0.1363	0.5982	0	0.9875
10	AM1_dipole, AM1_Eele, AM1_HF, AM1_HOMO, log P (o/w)	0.9337	0.8718	4.0809	0.1382	0.7605	0	0.9805

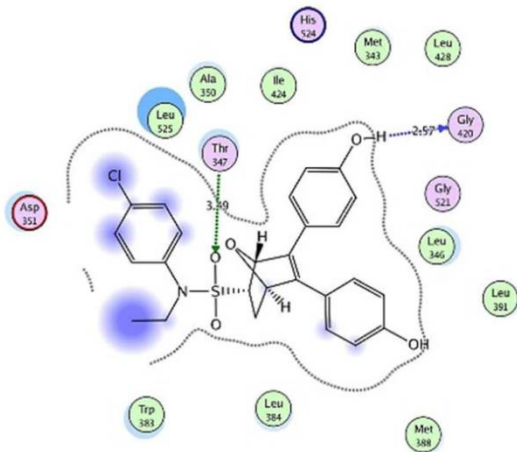
Docking Molekuler

Tabel 5 menunjukkan bahwa senyawa turunan OBHS dapat berikatan dengan Glu1353, Arg1394, His1524, Leu1387, dan Phe1404 pada protein 1G50, sedangkan tabel 6 menunjukkan bahwa turunan OBHS dapat berikatan dengan Thr347, Gly420, Arg394, Leu387, dan Glu419 pada protein 3ERT. Dari percobaan yang dilakukan diperoleh hasil dimana pada protein kode 1G50 senyawa 13 menunjukkan hasil yang lebih baik dengan docking score (S) -12.2016, sedangkan pada protein kode 3ERT senyawa 12 menunjukkan hasil yang lebih baik dengan docking score (S) -10.3484. Tabel 5. Hasil docking senyawa turunan OBHS dengan protein

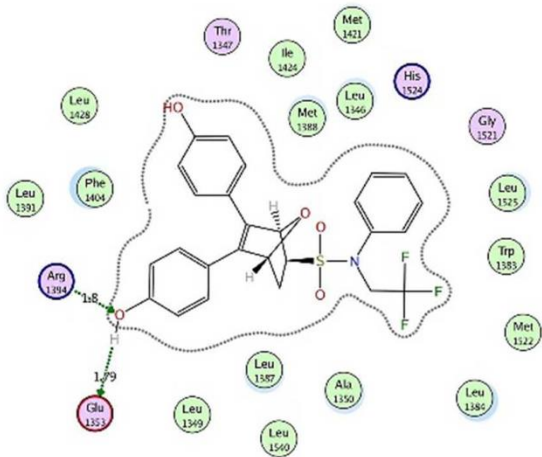
Senyawa	Entry	Docking Score (S) (kcal/mol)	Ikatan		Jarak Ikatan (Å)	Residu Asam Amino yang Terikat	Gugus yang Berikatan
			Jenis	Jumlah			
05	16	-9.4742	Hidrogen	4	1.82	Glu1353	HO dari cincin A inti OBHS ^{20a}
					2.95	Arg1394	O dari cincin A inti OBHS ^{4a}
					3.4	His1524	O dari gugus SO ₂ inti OBHS ^{4a}
07	24	-11.0831	Hidrogen	2	2.97	His1524	O dari gugus SO ₂ inti OBHS ^{4a}
					2.02	Arg1394	O dari cincin A inti OBHS ^{4a}
09	43	-11.7193	Hidrogen	2	2.07	Glu1353	HO dari cincin A inti OBHS ^{20a}
					1.85	Arg1394	O dari cincin A inti OBHS ^{4a}
10	82	-8.0794	Hidrogen	2	1.84	Glu1353	HO dari cincin A inti OBHS ^{20a}
					1.83	Arg1394	O dari cincin A inti OBHS ^{4a}
11	94	-11.8290	Hidrogen	2	3.63	Leu1387	HO dari cincin A inti OBHS ^{20a}
					2.15	Arg1394	O dari cincin A inti OBHS ^{4a}
12	119	-11.0062	Hidrogen	2	1.91	Leu1387	HO dari cincin A inti OBHS ^{20a}
					1.71	Arg1394	O dari cincin A inti OBHS ^{4a}
13	143	-12.20165	Hidrogen	2	3.5	Leu1387	HO dari cincin A inti OBHS ^{20a}
					1.8	Arg1394	O dari cincin A inti OBHS ^{4a}
15	174	-11.1829	Hidrogen	2	1.79	Glu1353	HO dari cincin A inti OBHS ^{20a}
					1.84	Arg1394	O dari cincin A inti OBHS ^{4a}
16	208	-8.9770	Hidrogen	2	1.72	Glu1353	HO dari cincin A inti OBHS ^{20a}
					1.88	Arg1394	O dari cincin A inti OBHS ^{4a}
					3.17	Phe1404	HO dari cincin A inti OBHS ^{20a}

Tabel 6. Hasil docking senyawa turunan OBHS dengan protein 3ERT

Senyawa	Entry	Docking Score (S) (kcal/mol)	Ikatan		Jarak Ikatan (Å)	Residu Asam Amino yang Terikat	Gugus yang Berikatan
			Jenis	Jumlah			
05	02	-10.1035	Hidrogen	1	3.85	Thr347	O dari gugus SO ₂ inti OBHS ^{4a}
					3.99	Thr347	O dari gugus SO ₂ inti OBHS ^{4a}
07	34	-9.53725	Hidrogen	3	3.25	Thr347	O dari gugus SO ₂ inti OBHS ^{4a}
					4.26	Glu419	HO dari cincin A inti OBHS ^{20a}
09	60	-9.51638	Hidrogen	2	2.52	Arg394	O dari cincin B inti OBHS ^{4a}
					2.72	Gly420	HO dari cincin A inti OBHS ^{20a}
10	94	-8.85996	Hidrogen	2	2.04	Gly420	HO dari cincin A inti OBHS ^{20a}
					3.27	Thr347	O dari cincin inti OBHS ^{4a}
11	114	-8.80458	Hidrogen	2	4.26	Thr347	O dari gugus SO ₂ inti OBHS ^{4a}
					3.21	Thr347	O dari cincin inti OBHS ^{4a}
12	140	-10.3484	Hidrogen	2	2.57	Gly420	HO dari cincin A inti OBHS ^{20a}
					3.49	Thr347	O dari gugus SO ₂ inti OBHS ^{4a}
13	168	-9.98550	Hidrogen	2	2.67	Arg394	O dari cincin B inti OBHS ^{4a}
					4.22	Glu419	HO dari cincin A inti OBHS ^{20a}
15	197	-9.34585	Hidrogen	3	4.35	Thr347	O dari gugus SO ₂ inti OBHS ^{4a}
					3.25	Thr347	O dari cincin inti OBHS ^{4a}
16	229	-9.16704	Hidrogen	4	2.08	Gly420	HO dari cincin A inti OBHS ^{20a}
					2.88	Gly420	HO dari cincin B inti OBHS ^{20a}
					2.97	Thr347	O dari gugus SO ₂ inti OBHS ^{4a}
					3.39	Thr347	O dari cincin inti OBHS ^{4a}
					2.5	Leu387	HO dari cincin A inti OBHS ^{20a}



Gambar 3. Interaksi senyawa 13 terhadap protein1G50



Gambar 4. Interaksi senyawa 12 terhadap protein 3ERT

KESIMPULAN

1. HKSA senyawa turunan OBHS sebagai antagonis reseptor estrogen α menunjukkan bahwa lima deskriptor yang berpengaruh terhadap aktivitas senyawa, sebagaimana ditunjukkan dengan persamaan HKSA terbaik:

$$\log 1/IC_{50} = 5.2006 + (-3.52E-06AM1_Eele) + (4.46E-05 AM1_HF) + (0.5737 \log S) + (0.8919 mr) + (-$$

0.0392 vol), dimana $n = 9$, $r^2 = 0.9404$, dan $q^2 =$

0.7388

2. Senyawa turunan OBHS dapat berikatan dengan Glu1353, Arg1394, His1524, Leu1387, dan Phe1404 pada protein

1G50, dimana senyawa 13 menunjukkan hasil yang lebih baik dengan *docking score* (S) -12.2016. Sedangkan pada protein 3ERT senyawa turunan OBHS dapat mengikat Thr347, Gly420, Arg394, Leu387, dan Glu419. dimana senyawa 12 menunjukkan hasil yang lebih baik dengan *docking score* (S) -10.3484.

KEPUSTAKAAN

- Abraham DJ, *Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery*. 6th ed. Volume 1.. New York Willey Interscience. 2003 : h. 289
- American Cancer Society. *Cervical Cancer*. American Cancer Society: USA. 2013.
- Andriyono. 2003. *Kanker serviks*. Sinopsis Kanker Ginekologi. Jakarta.
- Erin K. Shanle, Wei Xu. *Selectively targeting estrogen receptors for cancer treatment*. Adv Drug Deliv Rev. 2011. Vol. 62 (13): h. 1265–1276
- Gao H, Nishida J, Saito S dan Kawabata J. *Inhibitory Effect of 5,6,7-Trihydroxyflavones on Tyrosinase*. Molecules. 2007 : h. 12, 90.
- Jitender Verma, Vijay M. Khedkar, Evans C. Coutinho. *3D-QSAR in Drug Design - A Review*. Medicinal Chemistry. 2010. 10: h. 95-115
- Manghong Zhua, Chen Zhang, Jerome C. Nwachukwub, Sathish Srinivasanb, Valerie Cavettb, Yangfan Zhenga, Kathryn E.

- Carlson, Chune Donga, John A. Katzenellenbogen, Kendall W. Nettles, and Hai-Bing Zhou. *Bicyclic core estrogens as full antagonists: synthesis, biological evaluation and structure-activity relationships of estrogen receptor ligands based on bridged oxabicyclic or arylsulfonamides*. *Org Biomol Chem*. 2013. 10 (43): h. 8692-8700.
- Patrick, G.L. 2009. *An Introduction to Medicinal Chemistry edisi ke-4*. Oxford University Press: New York
- Philipp Y. Maximov, Theresa M. Lee, V. Craig Jordan. *The Discovery and Development of Selective Estrogen Receptor Modulators (SERMs) for Clinical Practice*. *Current Clinical Pharmacology*. 2013. 8: h. 135-155
- Sang-Hyuk Chung, Silvia Franceschi, Paul F. Lambert. *Estrogen and ER α : Culprits in Cervical Cancer?*. *Trends Endocrinol Metab*. 2010. 21(8): 504-511
- Department of Health and Human Services. 2012. *Cervical Cancer*. CDC Publication: US.