

## VALIDASI RUANG KOMPUTASI SENYAWA NATIVE TIDAK MEMENUHI ATURAN LIPINSKI MENGGUNAKAN PLANTS

### VALIDATION OF COMPUTING SPACE OF NATIVE COMPOUND WHICH DOES NOT FULFILL LIPINSKI'S RULE USING PLANTS

**Broto Santoso**

Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta  
Jl. Ahmad Yani Pabelan Kartasura Sukoharjo Jawa Tengah 57102  
\*Email: Broto.Santoso@ums.ac.id

#### ABSTRAK

Taxol merupakan salah satu senyawa antikanker yang tidak mengikuti kaidah Lipinski. Bobot molekulnya yang melebihi 0,5 kDa disertai banyaknya akseptor dan donor ikatan hidrogen menjadikan senyawa ini dapat memiliki konformasi ruang melimpah. Kajian *in silico* ini ditujukan untuk melakukan validasi variasi ruang komputasi menggunakan PLANTS terhadap konformasi akhir komputasi docking dibandingkan dengan konformasi ruang senyawa native hasil pengukuran laboratorium. Program PLANTS digunakan untuk membatasi nilai RMSD Cluster ligan. Protein target yang digunakan merupakan protein Kinesin-8 manusia yang bertanggung jawab terhadap proses mitosis dengan kode PDB-ID 5oam, 5ocu, dan 5ogc. Semua program komputasi yang digunakan telah berhasil dijalankan di dalam sistem operasi Ubuntu 14.04, diantaranya adalah PLANTS versi 1.2, Chimera 1.12, PyMOL versi 2.1.0, dan PLIP 1.3.4. Pusat massa komputasi menggunakan koordinat pusat massa dari ligan native. Tidak ada satupun dari 7 variasi besaran radius grid bentuk sphere yang mampu menghasilkan konformasi molekul yang mirip dengan senyawa native. Hasil ini membuktikan bahwa pengujian molekul dengan konformasi ruang melimpah tidak dianjurkan untuk para penggiat komputasi pemula karena validasi ruang tidak mudah terpenuhi dan membuat hasil komputasi yang bias. Terlebih lagi konfigurasi grid-sphere dalam PLANTS tidak mendukung kombinasi koordinat ruang bentuk kubus. Program PLANTS dianjurkan untuk digunakan pada senyawa yang memenuhi aturan Lipinski.

**Kata Kunci:** Validasi Ruang Komputasi, Aturan Lipinski, PLANTS, TAXOL

#### ABSTRACT

*Taxol is one of the anticancer compounds that does not comply the Lipinski's rule. Its molecular weight exceeds 0.5 kDa. It also has the large number of hydrogen bond acceptors and donors. Two facts that cause taxol to have abundant molecular conformations. This in silico study was intended to validate the variation of computational space using PLANTS by comparing the final conformation of calculation with native conformation from laboratory experimental. The PLANTS program has been used because of its capability to limit the RMSD Cluster value of ligand. Human kinesin-8 protein (PDB-ID: 5oam, 5ocu, 5ogc) was utilized in this research. It is responsible for the mitotic process of cell which associated with microtubules. All the computing programs used have been run successfully on Ubuntu 14.04 operating system, among them are PLANTS 1.2, Chimera 1.12, PyMOL 2.1.0, and PLIP 1.3.4. The center of mass for computing used the coordinates of their native ligand's center of mass. None of seven variations in radius value of grid-sphere were capable to produce similar molecular conformations to native compounds. These results confirmed that molecular docking with this kind of ligand is not recommended for novice users because space validation does not match easily and makes biased computational results. Furthermore, the PLANTS' grid-sphere configuration does not support combinations of coordinates of Cubic's form. The PLANTS program is recommended for use on compounds that conform to the Lipinski's rules.*

**Keywords:** Validation of Computing Space, Lipinski's Rule, PLANTS, TAXOL

## PENDAHULUAN

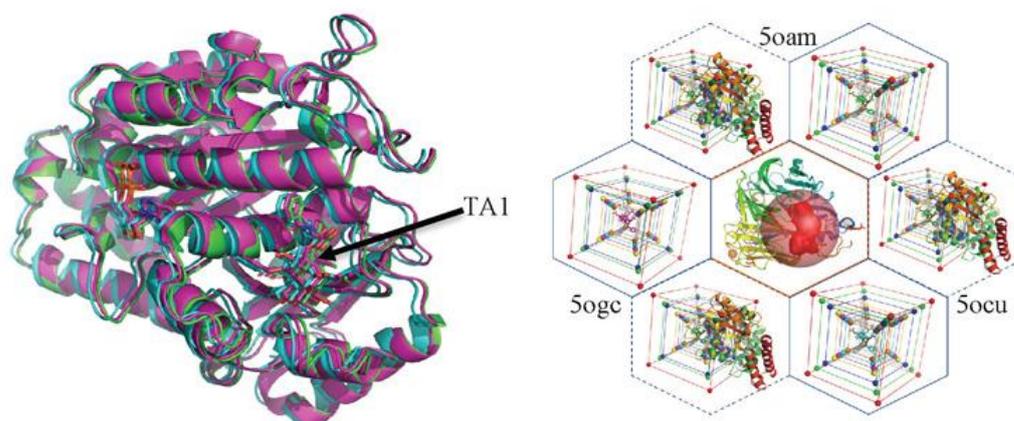
Teknik *docking* menggunakan konsep prediksi besaran ikatan secara komputasi antara ligan dan protein target. Penentuan nilai pusat massa ruang kalkulasi menjadi penting dan penentu keberhasilan raihan kesamaan konformasi ruang senyawa *native* protein target sebenarnya dengan hasil perhitungan *docking*. Faktor kedua adalah besaran volume *grid* kalkulasi dan terdapat dua bentuk *grid*, yaitu kotak (*gridbox*) dan bulat (*sphere*). Grid lebih dipengaruhi oleh volume molekuler dari ligan *native* atau besaran ruang *binding site pocket* dari protein target (Santoso, 2017). Terakhir, fleksibilitas residu protein ikut bertanggung jawab dalam *docking* selain dari fleksibilitas ligan selama komputasi (Santoso, 2018).

Beberapa ligan alam yang terbukti mempunyai aktivitas biologis tidak selalu memenuhi kaidah Lipinski, aturan dasar yang digunakan untuk menguji kemampuan absorpsi ligan sebagai obat. Selain itu, besarnya ruang *binding site pocket* suatu protein dapat memperluas jangkauan prediksi ikatan yang terjadi pada ligan tipe Lipinski dengan residu protein target. Protein target antikanker memiliki sifat ini dan termasuk ligan *native* yang menyertainya. Permasalahan lainnya adalah deposit protein target untuk antikanker alami yang diperoleh dari hasil pengukuran kristalografi belum banyak atau bahkan dapat dikatakan tidak ada.

Taxol merupakan salah satu contoh senyawa antikanker tersebut. Bobot molekul senyawa ini melebihi 0,5 kDa dan mempunyai banyak akseptor dan donor ikatan hidrogen. Hal inilah yang menjadikan taxol dapat memiliki konformasi ruang yang melimpah. Kajian *in silico* dalam penelitian ini ditujukan untuk melakukan validasi variasi ruang komputasi menggunakan PLANTS terhadap konformasi akhir komputasi *docking* dibandingkan dengan konformasi ruang senyawa *native* hasil pengukuran laboratorium. Software PLANTS dapat diperoleh secara gratis dengan menghubungi pengembang perangkat lunaknya. Grid yang digunakan pada software ini adalah bentuk *sphere*.

## METODE

Protein target yang digunakan adalah protein Kinesin-8 manusia yang bertanggung jawab terhadap proses mitosis dengan kode PDB-ID 5oam, 5ocu, dan 5ogc. Bagian protein dan ligan *native* masing-masing telah mengalami perlakuan menggunakan Chimera, seperti penambahan atom hidrogen dan perhitungan muatan total molekuler. Ketiga protein target memiliki konformasi ruang yang hampir mirip (Gambar 1). Protein dan ligan hasil dilakukan *docking* dengan program PLANTS untuk membatasi nilai RMSD Cluster ligan (kurang dari 2).

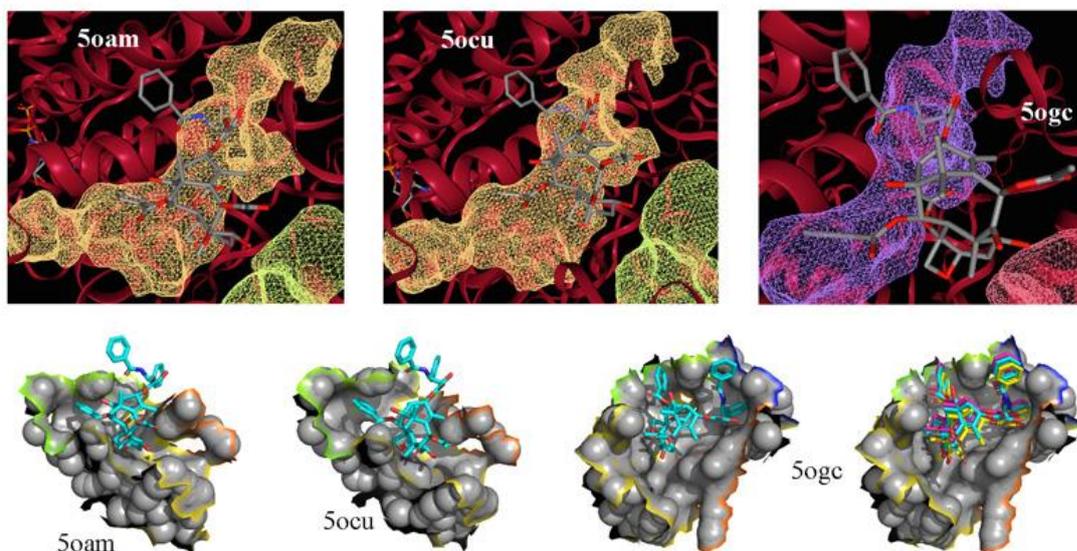


Gambar 1. Konformasi ruang dari protein target (5oam, 5ocu, 5ogc sisi kiri) dan volume grid kalkulasi bentuk bulat (*sphere*) dan kotak (*box*) dari ketiganya.

Pusat massa komputasi menggunakan koordinat pusat massa dari masing-masing ligan *native* dan serta dilakukan pengukuran silang antar ligan dan protein target (tidak ditampilkan). Terdapat 7 radius *grid-sphere* yang digunakan pada penelitian ini, yaitu pada rentang 12,8-38,5 Å (Gambar 1). Pemilihan nilai radius *sphere* dilakukan secara 2 tahap, yaitu pertama menggunakan acuan nilai terbesar dari hasil kalkulasi *grid DOCK6* dan dilanjutkan dengan pengurangan nilai secara deret hitung. Analisis hasil telah berhasil dilakukan dengan PyMOL, PLIP, dan PoseView dan DogSiteScore *online*.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

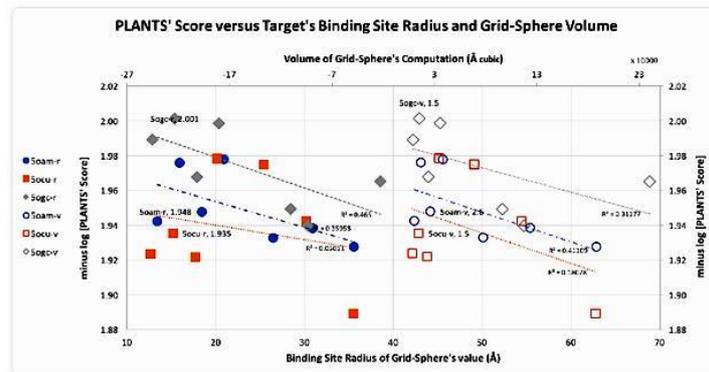
Profil *binding site pocket* telah berhasil diperoleh menggunakan program DogSiteScore *online* dan PyMOL yang disajikan pada Gambar 2. Hasil perlakuan awal dengan Chimera memperlihatkan bahwa protein 5ogc memiliki ruang komputasi yang lebih besar (warna ungu pada DogSiteScore) untuk ligan *native*. Pilihan residu yang lebih banyak disediakan *pocket* untuk interaksi ligan-protein dapat meningkatkan selektivitas proses dalam mendapatkan kesamaan ruang hasil *docking* dengan konformasi tiga dimensi *native*.



Gambar 2. Profil binding site pocket dari protein 5oam, 5ocu, 5ogc dari hasil DogSiteScore online (barisan atas) dan PyMOL (barisan bawah).

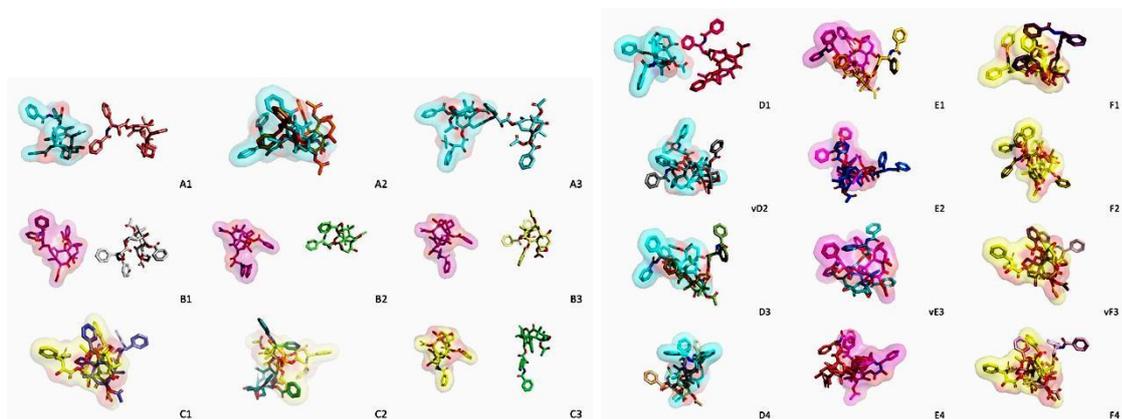
Penempatan ruang molekuler semua *native* dalam *binding site pocket* protein 5ogc ditampilkan lebih baik (Gambar 2) dan menghasilkan nilai interaksi PLANTS yang terbaik (Gambar 3). Walaupun demikian, tidak ada satu pun dari 7 variasi besaran radius *grid* bentuk *sphere* yang mampu menghasilkan konformasi molekuler hasil *docking* yang mirip dengan senyawa *native* (Gambar 4). Selain hal ini, skor *docking* PLANTS tidak memiliki korelasi positif dengan perubahan radius *sphere* atau pun volume molekuler dari *grid* yang digunakan dalam komputasi.

Gambar 4 memperlihatkan bahwa untuk nilai radius yang sama ketiga protein



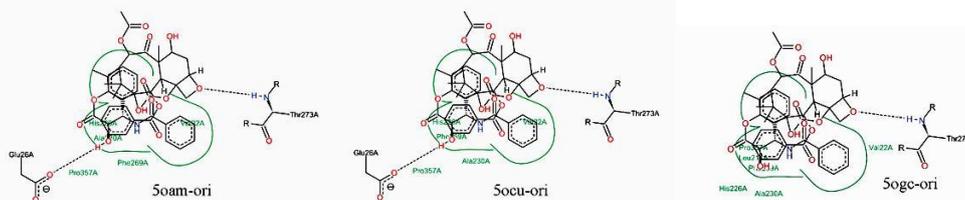
Gambar 3. Skor *docking* PLANTS versus radius dan volume ruang *grid* komputasi dari protein target: 5oam, 5ocu, dan 5ogc.

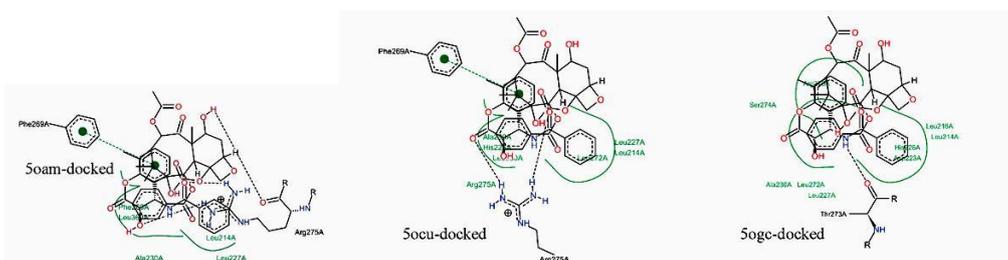
target memberikan konformasi hasil *docking* yang bervariasi bahkan menjauhi konformasi awal *native*. Hal ini terjadi dikarenakan besarnya *grid* kalkulasi yang digunakan dan akan memberikan kemungkinan interaksi dengan residu protein di luar target yang diharapkan. Frekuensi kejadian ini dapat diminimalkan dengan menurunkan nilai radius *grid* perhitungan (Gambar 5). Validasi proses *docking* menjadi langkah pertama sebelum melakukan *docking* molekuler terhadap senyawa target yang diduga. Senyawa target merupakan ligan uji hasil isolasi atau pun sintesis.



Gambar 4. Konformasi hasil *docking native* dibandingkan dengan konformasi ruang asal *native* (mode *surface*). Protein 5oam (A, D), 5ocu (B, E), 5ogc (C, F) dengan variasi radius (Å) pertama: 35-38 (1), 30 (2), dan 25-28 (3). Radius (Å) kedua: 20 (1), 18 (2), 15 (3), dan 13 (4).

Secara urut langkah dalam validasi *docking* molekuler yang perlu dilakukan adalah pertama: penentuan protein target, dianjurkan yang mempunyai ligan *native* dengan tujuan untuk mendekati hasil dengan kenyataannya, kedua: penentuan pusat massa ligan dan besaran *grid* komputasi, dan terakhir: penentuan jumlah kesamaan interaksi yang terjadi (Gambar 5). Hasil *docking native* terhadap protein 5ogc memperlihatkan bahwa jumlah residu yang terlibat interaksi ligan protein lebih banyak didapati dibandingkan dengan kedua protein lainnya dan merupakan residu penting dalam ikatan ligan protein, yaitu ALA 230 dan THR273.





Gambar 5. Profil interaksi ligan protein menggunakan PoseView *online*.

Hasil ini membuktikan bahwa pengujian molekul dengan konformasi ruang melimpah tidak dianjurkan untuk para penggiat komputasi pemula karena validasi ruang tidak mudah terpenuhi dan membuat hasil komputasi yang bias. Alasan yang mendasari adalah pilihan program *docking* yang tidak sesuai untuk ligan *native* Taxol dan *binding site pocket* yang dimilikinya. Terlebih lagi konfigurasi *grid-sphere* dalam PLANTS tidak mendukung kombinasi koordinat ruang bentuk kubus yang dapat lebih fleksibel dengan volume molekuler ligan *native* dan *binding site pocket*. Program PLANTS dianjurkan untuk digunakan pada senyawa yang memenuhi aturan Lipinski.

## KESIMPULAN

Validasi ruang komputasi untuk *docking* molekuler belum dapat terpenuhi untuk protein target Kinesin-8 manusia dengan menggunakan program PLANTS. Validasi terhadap protein target disarankan dapat diuji kembali dengan program lainnya, seperti DOCK6 atau Vina.

## DAFTAR PUSTAKA

- Berman H.M., Westbrook J., Feng Z., Gilliland G., Bhat T.N., Weissig H., Shindyalov I.N., & Bourne P.E. (2000). The Protein Data Bank. *Nucleic Acids Research*. 28: 235-242.
- Korb, O., Stütze, T., & Exner, T. E. (2009). Empirical Scoring Functions for Advanced Protein-Ligand Docking with PLANTS. *J. Chem. Inf. Model.* 49, 84-96.
- Pettersen EF, Goddard TD, Huang CC, Couch GS, Greenblatt DM, Meng EC, & Ferrin TE. (2004). UCSF Chimera--a visualization system for exploratory research and analysis. *J Comput. Chem.* 25(13), 1605-12.
- Salentin S, Schreiber S, Haupt VJ, Adasme MF, and Schroeder M. PLIP: fully automated protein-ligand interaction profiler. *Nucl. Acids Res.* 2015; 43 (W1): W443-W447. DOI: 10.1093/nar/gkv315.
- Santoso, B., (2017). Pengaruh Volume Gridbox pada Docking Senyawa dalam Stelechocarpus Burahol terhadap Protein Homolog Antiinflamasi TRPV1. Prosiding URECOL VI, 321-328. Tersedia pada: <<http://journal.ummg.ac.id/index.php/urecol/article/view/1369>>.
- Santoso, B., (2018). Pengaruh Residu Fleksibel terhadap Nilai Afinitas Ikatan Protein dengan Ligan Native-nya menggunakan PyRx-vina. Prosiding URECOL VII, 762-768. Tersedia pada: <<http://repository.urecol.org/index.php/proceeding/article/view/262>>.
- Stierand, K., Maaß, P., & Rarey, M. (2006). Molecular Complexes at a Glance: Automated Generation of two-dimensional Complex Diagrams. *Bioinformatics*, 22, 1710-1716.
- The PyMOL Molecular Graphics System, Version 2.1.0 Schrödinger, LLC.
- Volkamer, A., Kuhn, D., Grombacher, T., Rippmann, F., & Rarey, M. (2012). Combining global and local measures for structure-based druggability predictions. *J. Chem. Inf. Model.* 52,360-372.