

**DOCKING AMPRENAVIR DAN SENYAWA TURUNANNYA
SEBAGAI ANTI-HIV
(HUMAN IMMUNODEFICIENCY VIRUS)**

Saeful Amin, Indra

Prodi Farmasi STIKes Bakti Tunas Husada Tasikmalaya

ABSTRAK

Amprenavir merupakan obat yang dipakai sebagai bagian dari terapi antiretroviral yang bekerja melawan infeksi dengan cara memperlambat reproduksi HIV dalam tubuh disebut juga protease inhibitor yang dapat mencegah pekerjaan enzim protease yang bertindak seperti pemotong kimia. Enzim ini memotong bahan baku HIV menjadi potongan khusus yang dibutuhkan untuk membangun virus baru. Protease inhibitor bisa merusak pemotong ini sehingga bisa disimpulkan bahwa tubuh kita akan menjadi lebih sehat untuk waktu lebih lama. Telah dilakukan penelitian *docking* dengan menggunakan aplikasi PLANTS1.1, *Co-PendriveLinux*, *Marvinsketch*, *YASARA* dan *Molegro Molecular Viewer (MMV)*. Adapun nilai yang didapat pada *Root Mean Square Deviation (RMSD)* adalah 1,2993 dengan nilai analisis hasil *docking* terhadap ligand asli dari amprenavir -115,739 kkal, untuk analisis hasil *docking* dari ke-6 turunan senyawa amprenavir nilai terdekat dengan ligand asli atau yang paling berpotensi yaitu pada amprenavir kode J4A dengan nilai energi ikatan -123,423 kkal, turunan amprenavir mempunyai ikatan hidrogen yang sama dengan ligand asli yaitu Asp-25, Asp-30 dan Gly-27.

Kata kunci: Amprenavir, *docking*, Anti-HIV Protease Inhibitor

ABSTRACT

Amprenavir drug is used as part of antiretroviral therapy that works against infection by HIV reproduction slows down in the body called a protease inhibitor enzymes protease can prevent job that acts like a chemical scissors. This enzyme cuts HIV raw materials into specific pieces needed to build a new virus. Protease inhibitors can damage these scissors so it could be inferred that our bodies will become more healthy for longer. Research has been carried out by using the application docking PLANTS 1.1, Co-PendriveLinux, Marvinsketch, YASARA and Molegro Molecular Viewer (MMV). As for the value obtained on the Root Mean Square Deviation (RMSD) is 1,2993 with a value of analysis results against the original from the docking ligand-amprenavir -115,739 kkal, , to the analysis result of docking 6 derivatives of amprenavir compound derived from the closest to the original ligand or most potential is on amprenavir code J4A With the value of energy ties and on -123,423 kkal, amprenavir have a derivative of hydrogen bonds that equal to the original asp-25 , namely ligand asp-30 and gly-27 .

Keyword: Amprenavir, *docking*, Anti-HIV Protease Inhibitor

PENDAHULUAN

Human Immunodeficiency Virus (HIV) merupakan retrovirus yang menjangkiti sel-sel sistem kekebalan tubuh manusia (terutama CD4, sel-T dan makropag komponen-komponen utama sistem kekebalan sel), dan menghancurkan atau mengganggu fungsinya. Infeksi virus ini mengakibatkan terjadinya penurunan sistem kekebalan yang terus-menerus, sehingga mengakibatkan defisiensi kekebalan tubuh. Infeksi HIV telah diartikan sebagai penyebab AIDS

(*Acquired Immunodeficiency Syndrome*) dan menggambarkan berbagai gejala dan infeksi yang terkait dengan menurunnya sistem kekebalan tubuh. Tingkat HIV dalam tubuh dan timbulnya berbagai infeksi tertentu merupakan indikasi bahwa infeksi HIV telah berkembang menjadi AIDS (Ross, 1997).

Fosamprenavir (Amprenavir) adalah obat yang dipakai sebagai bagian dari terapi antiretroviral (ARV), obat ini juga dikenal sebagai Lexiva atau Telzir. ARV digunakan dalam pengobatan infeksi HIV. Obat-obatan ini bekerja

melawan infeksi itu sendiri dengan cara memperlambat reproduksi HIV dalam tubuh (Calson, 1997). Fosamprenavir dibuat oleh Glaxo Smith Kline saat ini fosamprenavir belum tersedia dalam versi generik dan belum tersedia secara umum di Indonesia. Fosamprenavir merupakan protease inhibitor yang dapat mencegah pekerjaan enzim protease yang bertindak seperti pemotong. Enzim ini memotong bahan baku HIV menjadi potongan khusus yang dibutuhkan untuk membangun virus baru. Protease inhibitor bisa merusak gunting ini sehingga jika kita memakai fosamprenavir dengan ARV lain, kita dapat mengurangi viral load pada tingkat yang sangat rendah dan meningkatkan jumlah CD4.

Demikian juga teknik-teknik yang dikembangkan semakin banyak dan memberikan akurasi yang tinggi terhadap pembelajaran suatu mekanisme interaksi obat dan reseptor spesifik. Salah satu teknik yang dikembangkan yaitu teknik *docking* yang menggunakan perangkat lunak berbasis komputer (*Molecular Docking*) yang digunakan untuk menggambarkan interaksi antara suatu molekul sebagai ligand dengan suatu reseptor atau protein. Dalam proses pengembangan obat untuk memprediksi struktur kompleks ligand kecil dengan protein yang disebut *docking* protein-ligand, *docking* secara luas digunakan dalam pemilihan *virtual database* besar dan dalam optimasi terbaik (Purnomo, 2011).

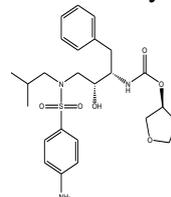
METODE PENELITIAN

Alat

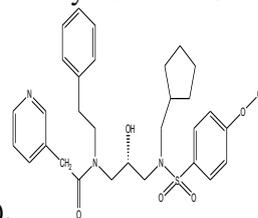
Peralatan yang digunakan berupa perangkat keras dan lunak. Perangkat tersebut berupa Personal Computer dengan spesifikasi Intel® Core™ i3, CPU M 380 @ 2.53GHz, 2 GB of RAM, dan perangkat lunak seperti *Pendrivelinux*, *MarvinSketch* versi 5.2, *YASARA* versi 9.10, *PLANTS1.1*, dan *Molegro Molecular Viewer* (MMV).

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah struktur senyawa amprenavir dan turunannya.

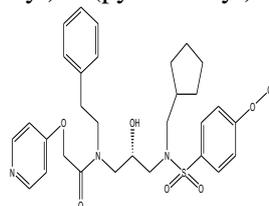


Gambar 1 Amprenavir (3-[(4-Amino-Benzenesulfonyl)isobutylamino]-1-Benzyl-2-Hydroxy-Propyl Carbamic Acid Tetrahydro-Furan-3-Yl

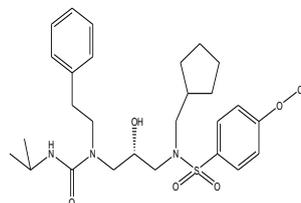


Ester).

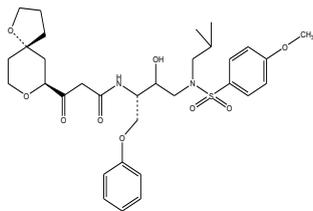
Gambar 2 Turunan Amprenavir kode A4A (N-[(2S)-3-[N-(cyclopentylmethyl)(4-methoxybenzene)sulfonamido]-2-hydroxypropyl]-N-(2-phenylethyl)-2-(pyridin-3-yl) acetamide



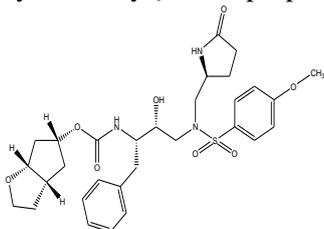
Gambar 3 Turunan Amprenavir kode C1A (N-[(2S)-3-[N-(cyclopentylmethyl)(4-methoxybenzene)sulfonamido]-2-hydroxypropyl]-N-(2-phenylethyl)-2-(pyridin-4-yloxy)acetamide



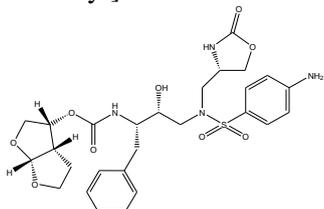
Gambar 4 Turunan Amprenavir kode C4A (1-[(2S)-3-[N-(cyclopentylmethyl)(4-methoxybenzene)sulfonamido]-2-hydroxypropyl]-1-(2-phenylethyl)-3-(propan-2-yl)urea



Gambar 5 Turunan Amprenavir kode I6A(3-[5S,7S)-1,8-dioxaspiro[4,5]decan-7-yl]-N-{3-hydroxy-4-[N-(2-methylpropyl)(4-methoxybenzene)sulfonamido]-1-phenoxybutan-2-yl}-3-oxopropanamide

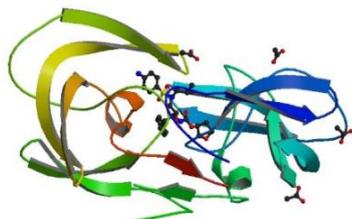


Gambar 6 Turunan Amprenavir kode J4A((3aS,5R,6aR)-hexahydro-2H-cyclopenta[b]futan-5-yl N-[(2S,3R)-3-hydroxy-4-(N-[(2S)-5-oxopyrrolidin-2-yl]methyl)(4-methoxybenzene)sulfonamido)-1-phenylbutan-2-yl]carbamate



Gambar 7 Turunan Amprenavir kode K4A ((3R,3aS,6aR)-hexahydrofuro[2,3-b]furan-3-yl N-[(2S,3R)-3-hydroxy-4-(N-[[4S]-2-oxo-1,3-oxazolidin-4-yl]methyl)(4-aminobenzene)sulfonamido)-1-phenylbutan-2-yl]

Bahan lain yaitu berupa reseptor amprenavir yang diambil dari <http://www.pdb.rscb.org/> dengan kode 3EKV.



Gambar 8 Reseptor Amprenavir

PROSEDUR PENELITIAN

Preparasi Reseptor (Protein)

Struktur kompleks protein 3EKV.pdb yang didapatkan dari Protein Data Bank (PDB) di-download dari situs <http://www.pdb.rscb.org> dipreparasi kembali dengan program YASARA versi 9.10. Dari prosedur ini dapat diperoleh tiga file yaitu protein.mol2, ref_ligand.mol2 dan ligand.mol2 (Purnomo, 2011).

Preparasi Ligand Amprenavir dan Turunannya

Dilakukan preparasi ligand amprenavir dan turunannya dengan MarvinSketch pada pH 7,4. Ligand disimpan sebagai ligand_2D.mrv. Kemudian lakukan Conformational search lalu simpan hasil pencarian konformasi sebagai ligand tipe file.mol2. Prosedur di atas dilakukan untuk setiap satu ligand/senyawa (Purnomo, 2011).

Docking Ligand Pemanding

Tiga file yang diperoleh dari prosedur preparasi protein kemudian dilakukan docking dengan menggunakan program PLANTS.1.1 yang dihubungkan oleh program Copen-drivelinux. Dari sini akan diperoleh besarnya nilai best score atau nilai terbaik dari ligan pembanding (asli) yang nantinya akan dibandingkan dengan nilai terbaik dari senyawa amprenavir dan turunannya. Langkah selanjutnya adalah menghitung besarnya nilai RMSD (Root Mean Square Deviation) hasil docking dengan referensi hasil eksperimen/struktur kristal dengan program YASARA versi 9.10 (Purnomo, 2011).

Analisa data perbandingan scoring dinyatakan dengan RMSD. Metode docking dikatakan baik jika nilai RMSD-nya kurang dari sama dengan (RMSD ≤ 2). Jika nilai RMSD yang diperoleh lebih besar dari 2 (RMSD > 2), metode yang digunakan tidak reliable (Morris, 2008).

Docking Ligand Uji Terhadap Reseptor

Selanjutnya lakukan *docking* dari masing-masing ligand uji, baik ligand amprenavir ataupun turunannya dengan menggunakan program PLANTS.1.1 yang dihubungkan oleh program *Co-pendrive linux*. Dari hasil *docking* diperoleh nilai terbaik ligand uji, nilai inilah yang akan dibandingkan dengan nilai terbaik ligand asli. Langkah selanjutnya adalah membuat file hasil *docking* dari masing-masing ligand uji dengan program *YASARA versi 9.10* (tipe file. pdb). Kemudian file hasil *docking* inilah yang akan divisualisasi dan diinterpretasi untuk diketahui interaksi-interaksi yang terjadi (Purnomo, 2011).

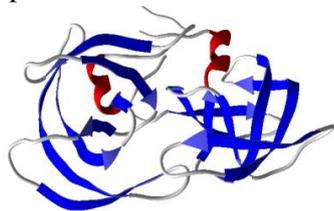
Visualisasi Hasil Docking

Setelah melakukan *docking* ligand terhadap reseptor dan membuat file pdb kemudian file hasil *docking* inilah yang akan divisualisasi dan diinterpretasi untuk diketahui interaksi-interaksi yang terjadi (Purnomo, 2011).

Visualisasi yang digunakan yaitu dengan MMV hasil visualisasi keduanya dibandingkan untuk melihat residu (asam amino) yang berpengaruh terhadap ikatan ligand-reseptor.

HASIL ANALISIS DAN PEMBAHASAN

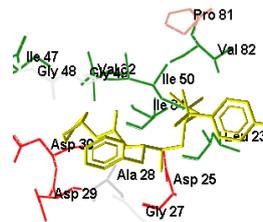
Di bawah ini adalah struktur reseptor amprenavir dan inhibitorynya yang digunakan sebagai target reseptor dalam penelitian ini.



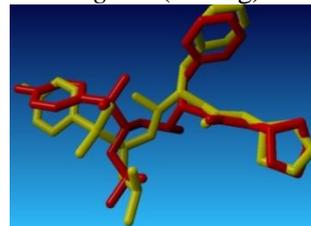
Gambar 9 Reseptor Protease Inhibitor dari Amprenavir

Validasi Reseptor dan docking

Dengan *me-redocking* ligand amprenavir pada reseptor amprenavir dan dari hasil ini akan diperoleh kesimpulan apakah reseptor tersebut dapat digunakan kembali untuk *docking* turunan senyawa yang diujikan. Hal ini dapat dilihat dari hasil pengukuran RMSD dari koordinat kartesius ligand amprenavir yang di-*docking*-kan dari konformasi kristalografinya.

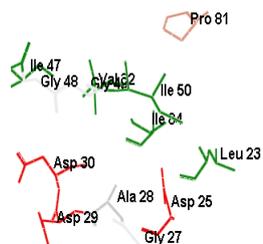


Gambar 10 Bindingsitedari Amprenavir dengan Reseptor Amprenavir Native Ligand (kuning)



Gambar 11

Konformasi Struktur Kristal Amprenavir (kuning) dengan Hasil Simulasi Docking (merah).

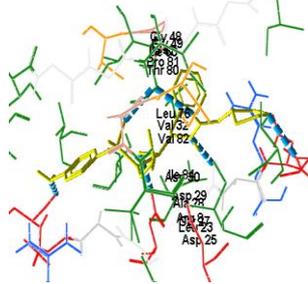


Gambar 12 Residu Asam Amino 3EKV

Dengan perbandingan konformasi pada Gambar 11, didapat nilai RMSD sebesar 1,2993. Hal ini menunjukkan bahwa parameter yang ditetapkan untuk *docking* mampu mereproduksi struktur ursinar-X. Selain itu, kedua ligand yakni *native ligand* maupun simulasi *docking* berinteraksi dengan residu yang sama yaitu Asp-30, Asp-25 dan Gly-27 terlihat pada Gambar 12,

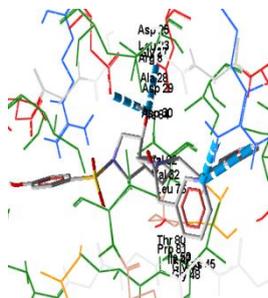
sehingga *docking* ini dapat digunakan untuk melakukan perhitungan *docking* darinya yang diteliti.

Analisis Hasil Docking



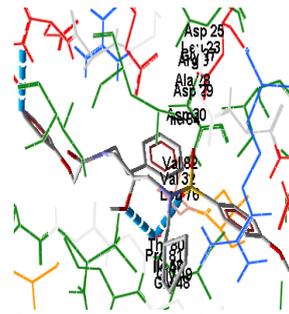
Gambar 13 Interaksi Antara Ligand Amprenavir dengan Reseptor Amprenavir.

Gambar 13 dapat dijelaskan bahwa antara amprenavir dengan reseptor amprenavir terjadi ikatan hidrogen dengan residu asam amino Asp-25 dengan atom O (8) jarak keduanya 3,04190 Å, Gly-27 dengan atom N (7) jaraknya 3,03701 Å, Asp-30 dengan atom O (8) jaraknya 3,12443 Å dan Asp-30 dengan atom N (7) jaraknya 2,66932 Å. Untuk lebih lengkap dapat dilihat pada Tabel 4.1.



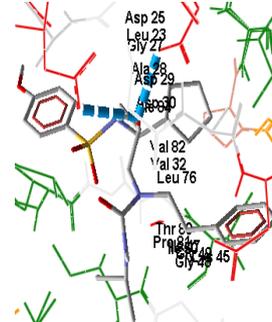
Gambar 14 Interaksi Antara A4A dengan Reseptor Amprenavir.

Gambar 14 dapat dijelaskan bahwa antara A4A dengan reseptor amprenavir terjadi ikatan hidrogen dengan residu asam amino Asp-25 dengan atom O (8) jarak keduanya 2,69912 Å, Asp-25 dengan atom O (8) jaraknya 2,87757 Å, Arg-8 dengan atom N (7) jaraknya 3,35472 Å dan Arg-8 dengan atom N (7) jaraknya 2,96302 Å. Untuk lebih lengkap dapat dilihat pada Tabel 4.1.



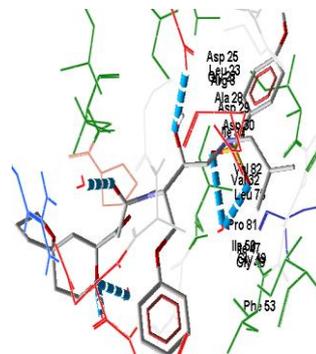
Gambar 15 Interaksi Antara C1A dengan Reseptor Amprenavir.

Gambar 15 dapat dijelaskan antara bahwa C1A dengan reseptor amprenavir terjadi ikatan hidrogen dengan residu asam amino Asp-30 dengan atom N (7) jarak keduanya 3,59421 Å. Untuk lebih lengkap dapat dilihat pada Tabel 4.1.



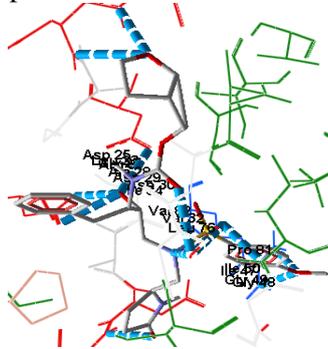
Gambar 16 Interaksi Antara C4A dengan Reseptor Amprenavir.

Gambar 16 dapat dijelaskan bahwa antara C4A dengan reseptor amprenavir terjadi ikatan hidrogen dengan residu asam amino Asp-25 dengan atom O (8) jarak keduanya 2,86254 Å dan Asp-25 dengan atom O (8) jaraknya 2,66648 Å. Untuk lebih lengkap dapat dilihat pada Tabel 4.1.



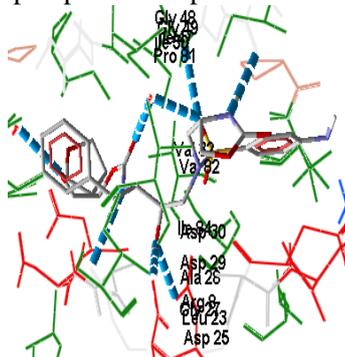
Gambar 17 Interaksi Antara I6A dengan Reseptor Amprenavir.

Gambar 17 dapat dijelaskan bahwa antara I6A dengan reseptor amprenavir terjadi ikatan hidrogen yaitu dengan residu asam amino Asp-25 dengan atom O (8) jarak keduanya 2,80452 Å. Untuk lebih lengkap dapat dilihat pada Tabel 4.1.



Gambar 18 Interaksi Antara J4A dengan Reseptor Amprenavir.

Gambar 18 dapat dijelaskan bahwa antara J4A dengan reseptor amprenavir terjadi ikatan hidrogen yaitu dengan residu asam amino Arg-8 dengan atom N (7) jarak keduanya 3,12795 Å, Arg-8 dengan atom N (7) jaraknya 3,00987 Å, Asp-30 dengan atom N (7) jarak nya 2,95817 Å, Asp-30 dengan atom N (7) jarak nya 2,99806 Å, Asp-29 dengan atom N (7) jarak nya 3,54886 Å, Asp-25 dengan atom O (8) jarak nya 3,06866 Å, Asp-25 dengan atom O (8) jarak nya 2,87562 Å, Asp-25 dengan atom O (8) jarak nya 2,99806 Å dan Ile-50 dengan atom N (7) jarak nya 3,04590 Å. Untuk lebih lengkap dapat dilihat pada Tabel 4.1.



Gambar 19 Interaksi Antara K4A dengan Reseptor Amprenavir.

Gambar 19 dapat dijelaskan bahwa antara K4A dengan reseptor amprenavir terjadi ikatan hidrogen

dengan residu asam amino Asp-25 dengan atom O (8) jarak nya 2,75003 Å, Asp-25 dengan atom O (8) jarak nya 2,90381 Å, Gly-48 dengan atom O (8) jarak nya 3,00679 Å, Gly-27 dengan atom O (8) jarak nya 3,51236Å dan Ile-50 dengan atom N (7) jarak nya 3,1455Å. Untuk lebih lengkap dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Dari hasil visualisasi dan analisa data dapat dijelaskan bahwa senyawa turunan amprenavir mempunyai ikatan hidrogen yang sama dengan ligand amprenavir yaitu Asp-25, Asp-30 dan Gly-27. Besarnya nilai energi ikatan amprenavir dan reseptor amprenavir adalah sebesar -115,739 kkal bisa ditampilkan pada Tabel 4.1. Kemudian energi ikatan ini dibandingkan dengan besarnya energi ikatan senyawa uji-reseptor. Dapat dilihat bahwa energi ikatan memiliki nilai yang lebih rendah sehingga data hasil penelitian ini lebih baik dari ligand asli yaitu pada kode J4A, nilai energi untuk turunan amprenavir kode J4A-123,423 kkal yang mempunyai ikatan hidrogen Arg-8 dengan atom N (7) jarak keduanya 3,12795 Å, Arg-8 dengan atom N (7) jaraknya 3,00987 Å, Asp-30 dengan atom N (7) jarak nya 2,95817 Å, Asp-30 dengan atom N (7) jarak nya 2,99806 Å, Asp-29 dengan atom N (7) jarak nya 3,54886 Å, Asp-25 dengan atom O (8) jarak nya 3,06866 Å, Asp-25 dengan atom O (8) jarak nya 2,87562 Å, Asp-25 dengan atom O (8) jarak nya 2,99806 Å dan Ile-50 dengan atom N (7) jarak nya 3,04590 Å. Artinya pada senyawa turunan amprenavir dengan kode J4A mempunyai nilai energi terbaik/terendah namun pada ikatan hidrogen dengan asam amino tidak terdapat Gly-27 seperti pada amprenavir asli. Hal ini didukung oleh adanya ikatan hidrogen antara ligand dengan reseptor dan sejumlah residu yang mempunyai interaksi dengan ligand. Energi ikatan yang paling tinggi terdapat pada kode I6A dengan nilai -108,246 kkal, sehingga ikatannya kurang stabil jika dibandingkan dengan *native ligand*.

Tabel 4.1 Data Energi Ikatan dan Jumlah Ikatan Hidrogen

Senyawa	Energi Ikatan (ΔG)	Ikatan Hidrogen	Jarak (\AA)	Experimental Value*)	Calculated Value*)
Amprenavir	-115,739 kkal	Asp-25	3,04190	-	-
		Asp-30	2,66932		
		Asp-30	3,12443		
		Gly-27	3,03707		
A4A	-122,398 kkal	Asp-25	2,69912	2,3424	2,0660
		Arg-8	2,96302		
		Asp-25	2,87757		
		Arg-8	3,35472		
C1A	-120,446 kkal	Asp-30	3,59421	2,3044	2,0770
C4A	-114,143 kkal	Asp-25	2,66648	4,0000	2,1500
		Asp-25	2,86254		
I6A	-108,246 kkal	Asp-25	2,80452	2,1769	2,1769
J4A	-123,423 kkal	Ile-50	3,04590	-0,5086	0,6100
		Asp-25	2,87562		
		Asp-29	3,54886		
		Asp-30	2,95817		
		Asp-25	3,06866		
		Asp-25	2,99293		
		Asp-30	2,99806		
		Arg-8	3,12795		
K4A	-116,673 kkal	Arg-8	3,00987	-0,6197	0,7400
		Asp-25	2,90381		
		Asp-25	2,75003		
		Ile-50	3,14553		
		Gly-27	3,00679		
		Gly-27	3,51236		

*) Data dari Jurnal (*Dubey et al. 2011*)

Aktivitas biologis senyawa turunan amprenavir dengan nilai Konstanta Inhibitor K_i (nM) didapat data eksperimen dan kalkulasi dari jurnal penelitian yang telah dilakukan sebelumnya (*Dubey et al. 2011*) bahwa senyawa turunan amprenavir dengan kode K4A mempunyai nilai eksperimen yang paling rendah yaitu -0,6197 nM dan untuk nilai kalkulasi terendah pada kode senyawa J4A dengan nilai -0,6100 nM, terdapat hubungan antara nilai energi ikatan, data eksperimen dan data kalkulasi rendah sehingga dapat senyawa tersebut mempunyai energi ikatan yang lebih stabil dan lebih baik dari ligand asli. Inilah yang menyebabkan senyawa tersebut mempunyai aktivitas sebagai obat anti HIV yang lebih baik dibanding senyawa amprenavir.

KESIMPULAN DAN REKOMENDASI

Kesimpulan

Hasil penelitian yang didapat dari *docking* amprenavir mempunyai nilai RMSD 1,2993 dan nilai energi hasil *docking* terhadap ligand asli sebesar -115,739 kkal. Analisis hasil *docking* dari turunan senyawa amprenavir didapat nilai energi terendah yaitu pada turunan amprenavir kode J4A dengan nilai -123,423 kkal. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa tersebut lebih baik dari amprenavir dan mempunyai potensi terhadap aktivitas sebagai obat anti-HIV melalui penghambatan protein dan didukung oleh adanya ikatan hidrogen antara ligand dengan reseptor.

Rekomendasi

Direkomendasikan melakukan penelitian selanjutnya dengan uji aktivitas dari senyawa turunan J4A dan K4A menggunakan hewan uji.

DAFTAR PUSTAKA

Abdel-Hamide, M. M. Ghorab and S. M. El-Sayed, **1999**. *Synthesis and anticancer activity in vitro of some new pyrimidines*, *Acta Pharm.* 49(1999) 149–158.

Dubey S., et al. **2011**. *Multidimensional QSAR Modeling of Amprenavir Derivates as HIV-Protease Inhibitors*. India: KLE University Press.

FAO-World Health Organization. **2002**. *Living Well with HIV-AIDS. A Manual Nutritional Care and Support for people living with HIV-AIDS*. Rome.

Funkhouser, **2007**. *Modifikasi Struktur Molekul*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
<http://en.wikipedia.org/wiki/Amprenavir> [Diakses tanggal 3 Juni **2012**].

Levita J. **2012**. *Pemodelan Molekul dalam Kimia Medisinal*, Yogyakarta: Graha Ilmu.

Nursalam. **2006**. *The Effect of Nursing Care Approach On The Increase Of CD4 cell Count For Patient with HIV Infection*, *Folia Medica Indonesia*.

O'Neil MJ. **2006**. *The Merck Index*. Volume I. USA: Merck Research Laboratories. P. 95.

Purnomo H. **2009**. *Kimia Komputasi Molecular Docking Plants*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.

Ross MW. **1997**. *How Psychological Aspects of HIV infection can Affect Health. Managing HIV*. Sidney: MJA Published. Sidney: CAN. p. 42-44.

