

Analisis Penambatan dan Simulasi Dinamika Molekular Kompleks Siklookgesinase-2 dengan Beberapa Senyawa Turunan Kuinazolinon

Arry Yanuar, Muhammad Aditya Setiajid, dan Hayun

ABSTRACT: The aims of this research is to observe the inhibition activity of sulfonamides or sulfacetamides substituted of 3-Phenyl-2-styryl-4(3H)-quinazolinones with COX-2. The study of COX-2, binding inhibition and dynamics interaction was done with in silico method by molecular docking with Auto Dock 4.0 and molecular dynamics in 2 nanoseconds with Amber 11. Those compound could be divided into 3 groups, based on ΔG scores of docking result: very selective group (-10.92 to -11.33 kcal/mol) compared to SC-558 (-10.90 kcal/mol); selective group compound (-9.22 to -10.68 kcal/mol) compared to celecoxib (-10.63 kcal/mol); non-selective group, compound (-6.48 to -6.98 kcal/mol) compared to aspirin (-4.82 kcal/mol). Molecular dynamics simulation of 6COX complex with several quinazolinon derivates showed number and stability of hydrogen bond.

Keywords: COX-2, anti-inflammatory, molecular docking, molecular dynamics

ABSTRAK: Penelitian ini bertujuan mengamati dinamika interaksi inhibisi ikatan beberapa senyawa 3-Fenil-2-stiril-4(3H)-kuinazolinon tersubstitusi sulfonamida atau sulfasetamida dengan COX-2. Pengujian dinamika interaksi dilakukan secara in silico melalui penambatan molekuler menggunakan AutoDock 4.0 dan simulasi dinamika molekuler selama dua nanodetik menggunakan Amber 11. Berdasarkan nilai ΔG hasil penambatan molekul, dapat dibagi menjadi 3 kelompok: kelompok sangat selektif (-10,92 hingga -11,33 kkal/mol) dibandingkan dengan SC-558 (-10,90 kkal/mol); kelompok selektif (-9,22 hingga -10,68 kkal/mol) dibandingkan dengan selekoksib (-10,63 kkal/mol); kelompok non-selektif (-0,48 hingga -6,98 kkal/mol) dibandingkan dengan aspirin (-4,82 kkal/mol). Simulasi dinamika molekuler pada kompleks 6COX dengan beberapa senyawa turunan kuinazolinon menunjukkan jumlah dan stabilitas ikatan hidrogen.

Kata kunci: COX-2, antiinflamasi, penambatan molekuler, dinamika molekuler

Fakultas Farmasi, Universitas Indonesia

Korespondensi:

Arry Yanuar

Email : arryyanuar@gmail.com

PENDAHULUAN

Senyawa DuP-697 terbukti memiliki aktifitas antiinflamasi yang kuat sebelum enzim siklooksigenase-2 (COX-2) dapat diidentifikasi. Para peneliti belum dapat menjelaskan bagaimana DuP-697 dapat memberikan aktifitas antiinflamasi pada saat itu, tetapi setelah COX-2 dapat diidentifikasi maka senyawa tersebut terbukti memiliki aktifitas sebagai obat antiinflamasi yang dapat menghambat kerja dari enzim COX-2. Hal inilah yang menjadi awal dalam penemuan senyawa-senyawa baru untuk obat antiinflamasi yang memiliki mekanisme kerja dalam menghambat enzim COX-2. Hingga saat ini, lebih dari 500 senyawa penghambat COX-2 telah ditemukan dalam beberapa tahun terakhir, hal tersebut menunjukkan bahwa prospek pengembangan obat antiinflamasi sangat menjanjikan (1).

Prostaglandin dan glukokortikoid merupakan senyawa mediator yang dapat menyebabkan terjadinya inflamasi. Obat antiinflamasi non-steroid (AINS) bekerja dengan cara menghambat produksi prostaglandin melalui penghambatan enzim siklooksigenase, sehingga banyak digunakan dalam pengobatan inflamasi secara luas. Enzim siklooksigenase dapat mengkatalisis metabolisme asam arakidonat, sehingga enzim siklooksigenase dapat mengubah asam arakidonat menjadi prostaglandin. Dua buah isoform dari enzim siklooksigenase telah diketahui, yaitu COX-1 yang banyak dihasilkan di berbagai jenis jaringan dan berperan dalam produksi prostaglandin; dan COX-2 yang diinduksi oleh sitokin, mitogen dan endotoksin dalam sel inflamasi yang dapat meningkatkan produksi prostaglandin selama proses inflamasi berlangsung (2).

Inhibitor selektif COX-2 terbukti secara klinis dapat memberikan efek antiinflamasi yang memiliki efek toksik pada ginjal dan saluran pencernaan yang lebih rendah. Tetapi, senyawa tersebut mempunyai efek yang kecil sebagai anti-tromboksan sehingga dapat meningkatkan resiko timbulnya penyakit kardiovaskular seperti

infark miokard (3). Oleh karena itu, pengembangan inhibitor COX-2 yang lebih efektif dan lebih aman masih diperlukan (4). Senyawa kimia dengan nama 3-Fenil-2-stiril-4(3H)-kuinazolinon tersubstitusi sulfonamida atau sulfasetamida merupakan senyawa baru hasil sintesis. Beberapa senyawa diaril-4(3H)-kuinazolin tersubstitusi gugus SO₂NH₂ pada salah satu cincin arilnya diprediksi akan mempunyai aktivitas inhibitor COX-2 yang (5). Berdasarkan gugus fungsi yang dimiliki senyawa tersebut, gugus diarilheterosiklik memiliki aktivitas sebagai inhibitor selektif siklooksigenase-2 (1, 3).

Mekanisme interaksi antara siklooksigenase dengan berbagai molekul termasuk inhibitornya, dapat diteliti lebih lanjut melalui berbagai metode yang meliputi penelitian *in vivo*, *in vitro*, dan *in silico*. Dalam penelitian ini digunakan makromolekul COX-2 dengan identitas 6COX pada Protein Data Bank. 6COX merupakan salah satu tipe COX-2 yang terdapat pada mencit. Penelitian terhadap interaksi enzim dengan ligan, dalam hal ini 6COX dengan beberapa senyawa 3-Fenil-2-stiril-4(3H)-kuinazolinon tersubstitusi sulfonamida atau sulfasetamida akan lebih efisien apabila dilakukan dengan metode *in silico* dibandingkan dengan *in vitro* dan *in vivo*. Metode *in silico* yang dapat digunakan untuk menganalisis interaksi tersebut adalah penambatan molekuler (*docking*), sedangkan untuk menganalisis dinamika interaksi inhibisinya dapat digunakan simulasi dinamika molekuler.

Dewasa ini terdapat lebih dari 60 piranti lunak untuk penambatan molekuler, namun belum semua piranti lunak dapat menunjukkan kelebihan dalam segala hal. Umumnya, program melakukan pencarian konformasi ruang yang memadai dari senyawa yang ditambatkan dan menghasilkan pose-pose yang sesuai, namun dalam hal penghitungan skor masih memerlukan perbaikan. Oleh karena itu, penilaian yang benar-benar objektif sulit direalisasikan dalam membandingkan program satu dengan yang lain, karena adanya favoritisme, pemilihan data

uji yang bias, dan perbedaan tingkat kemahiran penggunaan program yang berbeda. Beberapa piranti lunak yang biasa digunakan adalah: DOCK, FLEXX, Glide dan Gold (6, 7, 8).

Analisis pada penambatan molekuler dapat memperlihatkan nilai kekuatan interaksi senyawa dari inhibitorynya terhadap struktur 6COX yang bersifat kaku (rigid). Kekakuan struktur pada proses penambatan molekuler menunjukkan bahwa 6COX tersebut dibekukan terhadap ruang dan waktu, yang merupakan keterbatasan proses tersebut. Namun pada kondisi yang sebenarnya, molekul protein memiliki torsi sehingga dia bersifat dinamis sehingga dapat bergerak, menekuk, memuai, relaksasi maupun kontraksi (9). Analisis penambatan molekuler belum dapat digunakan untuk mengamati kestabilan ikatan yang terjadi terhadap ruang dan waktu. Oleh karena itu, diperlukan simulasi dinamika molekuler untuk mengamati interaksi secara lebih lanjut sehingga dapat melihat kestabilan ikatan yang terjadi. Sehingga penelitian ini bertujuan untuk memperoleh model pengikatan hasil penambatan molekuler dan informasi pengikatannya menggunakan simulasi dinamika molekuler dari beberapa senyawa turunan dari 3-Fenil-2-stiril-4(3H)-kuinazolinon tersubstitusi sulfonamida atau sulfasetamida terhadap siklooksigenase-2.

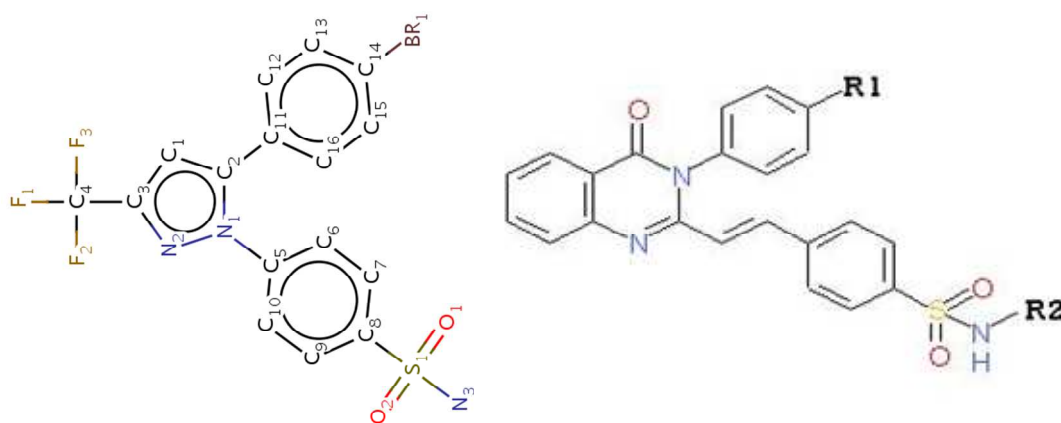
BAHAN DAN METODE

Protein Target Siklooksigenase-2

Makromolekul siklooksigenase-2 diunduh dari Bank Data Protein (10). Identitas dari siklooksigenase-2 yang digunakan pada penelitian ini adalah 6-COX (2). Data makromolekul disimpan sebagai bentuk .pdb.

Struktur Tiga Dimensi Ligan

Struktur 3 dimensi sepuluh senyawa turunan 3-Fenil-2-stiril-4(3H)-kuinazolinon tersubstitusi sulfonamida atau sulfasetamida serta kontrol positif inhibitor siklooksigenase-2 yaitu SC-558 (sangat selektif), selekoksib (selektif) dan aspirin (non-selektif) dibuat dengan program MarvinSketch (11) dan OpenBabel (12). Optimasi struktur tiga dimensi ligan dilakukan dengan Antechamber, tLeap dan Sander meliputi penambatan atom hidrogen, perbaikan muatan dengan menambahkan muatan AM1-BCC dan minimisasi. (13) Minimisasi dilakukan dengan metode *steepest descent* dan *conjugate gradients* sebanyak masing-masing 250 langkah. Pembuatan parameter topologi dan koordinat dari ligan dilakukan setelah proses minimisasi, kemudian data dari ligan hasil minimisasi tersebut disimpan sebagai bentuk .pdb. (Gambar 1).



Gambar 2. Struktur SC-558 (kiri) dan modifikasi pada struktur molekul 3-fenil-2-stiril quinazolinon(kanan)

Tabel 1. Modifikasi struktur molekul 3-fenil-2-stiril quinazolinon pada posisi R1 dan R2 yang ditunjukkan pada Gambar 1.

Senyawa	R1	R2	Rumus molekul	Bobot molekul
2a	H	H	C ₂₂ H ₁₇ N ₃ O ₃ S	403,454
2b	CH ₃	H	C ₂₃ H ₁₉ N ₃ O ₃ S	417,480
2c	OCH ₃	H	C ₂₃ H ₁₉ N ₃ O ₄ S	433,480
2d	Br	H	C ₂₂ H ₁₆ BrN ₃ O ₃ S	482,350
2e	Cl	H	C ₂₂ H ₁₆ ClN ₃ O ₃ S	437,899
2f	(C=O)OC ₂ H ₅	H	C ₂₅ H ₂₁ N ₃ O ₅ S	475,516
2aa	H	(C=O)CH ₃	C ₂₄ H ₁₉ N ₃ O ₅ S	445,490
2ba	CH ₃	(C=O)CH ₃	C ₂₅ H ₂₁ N ₃ O ₄ S	459,517
2ca	OCH ₃	(C=O)CH ₃	C ₂₅ H ₂₁ N ₃ O ₅ S	475,516
2i	SO ₂ NH ₂	Tanpa R2 dan SO ₂ NH ₂ pada gugus stiril	C ₂₂ H ₁₇ N ₃ O ₃ S	403,454

Penambatan Molekuler

Penambatan molekuler dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak AutoDock 4.0 (14) dengan algoritma genetik Lamarckian yang dilakukan pada *grid box* dengan ukuran 40 x 40 x 40 titik dengan jarak titik 0,375 Å pada pusat koordinat (x, y, z) 23,049; 23,526; 46,984. Jumlah *GA Runs* diatur sebanyak 100 dengan kalkulasi sebanyak 2.500.000 kali. Penambatan dilakukan tiga kali untuk masing-masing senyawa dan kontrol positif. Hasil penambatan divisualisasi menggunakan PyMOL (15). Hasil penambatan dianalisis nilai energi bebas ikatan ΔG dan Ki serta posisi penambatan ligan pada COX-2.

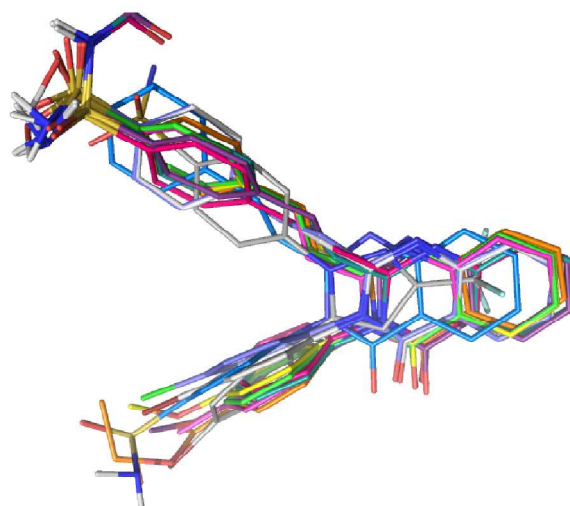
Simulasi Dinamika Molekuler

Simulasi dinamika molekuler dilakukan dengan program AMBER 11 (13) dengan kondisi NPT dilakukan selama 2 nanodetik menggunakan prosedur SHAKE dan Particle Mesh Ewald (PME) dengan cut-off 12 Å diterapkan agar sistem membatasi interaksi elektrostatik diluar 12 Å. Selama proses pengambilan sampel, koordinat disimpan setiap 0,5 nanodetik dari waktu simulasi (16).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pose hasil dari penambatan molekul pada semua senyawa mempunyai pose yang mirip dengan senyawa SC-558 (Gambar 2). Analisis dengan AutoDockTools menunjukkan adanya kontak reseptor dengan ligan pada residu Ala 516, Phe 518, Ser 353, Gly 526, Leu 531, Val 116, Leu 352, Tyr 355, Val 523, Ala 527, Leu 359, Val 349, Arg 513 dan His 90. Residu-residu tersebut penting karena berikatan dengan hampir semua senyawa-senyawa yang diuji. Sedangkan residu lainnya seperti Gln 192, Ile 517, Trp 387, Met 522, Leu 384, Met 113 dan Tyr 385 hanya berikatan dengan beberapa senyawa uji.

Senyawa 2a, 2aa, 2i hasil penambatan molekul dipilih sebagai ligan untuk simulasi dinamika molekuler. Dasar pemilihan senyawa tersebut adalah ingin mengetahui pengaruh perbedaan gugus fungsi terhadap dinamika inhibisinya seperti pada senyawa 2a yang memiliki gugus sulfonamida pada posisi R2, pada senyawa 2i yang memiliki gugus sulfonamida pada posisi R1 dan pada senyawa 2aa yang memiliki gugus sulfasetamida pada posisi R2.



Gambar 2. Perbandingan visualisasi stuktur tiga dimensi ligan hasil penambatan molekul terhadap 6COX

Tabel 2. Pengelompokkan ligan berdasarkan tingkat selektivitas penghambatan COX-2

Very Selective	Selective	Non-Selective
SC-558 ($\Delta G - 10.13$ kcal/mol)	Celecoxib ($\Delta G - 10$ kcal/mol)	Aspirin ($\Delta G - 4.9$ kcal/mol)
2i ($\Delta G - 10.56$ kcal/mol)	2f ($\Delta G - 9.21$ kcal/mol)	2aa ($\Delta G - 5.87$ kcal/mol)
2e ($\Delta G - 9.95$ kcal/mol)	2b ($\Delta G - 8.86$ kcal/mol)	2ba ($\Delta G - 6.22$ kcal/mol)
2d ($\Delta G - 9.73$ kcal/mol)	2c ($\Delta G - 8.79$ kcal/mol)	2ca ($\Delta G - 6.01$ kcal/mol)
	2a ($\Delta G - 8.39$ kcal/mol)	

RMSD (Root Mean Square Deviation) hasil Simulasi Dinamika Molekular

Pada simulasi yang berlangsung selama 2 nanodetik, keempat sistem mengalami peningkatan RMSD backbone yang menunjukkan bahwa struktur enzim mulai terbuka (*unfold*) (Gambar 3). RMSD *backbone* keempat sistem mulai stabil dari nanodetik ke-1. Hal ini disebabkan karena terjadinya interaksi antar residu pada enzim sehingga protein cenderung mempertahankan strukturnya pada tahap ini.

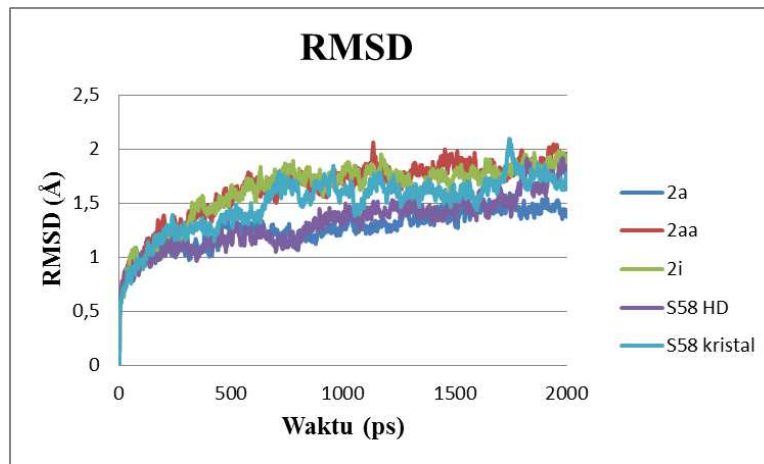
Sistem dengan ligan 2a memiliki nilai RMSD terendah yaitu pada kisaran 1,5 Å hingga akhir simulasi. RMSD tertinggi dicapai oleh sistem 6COX dengan ligan 2aa. Pada sistem dengan ligan S58 hasil penambatan molekul dan kristal masih menunjukkan peningkatan hingga akhir simulasi.

RMSF (Root Mean Square Fluctuation)

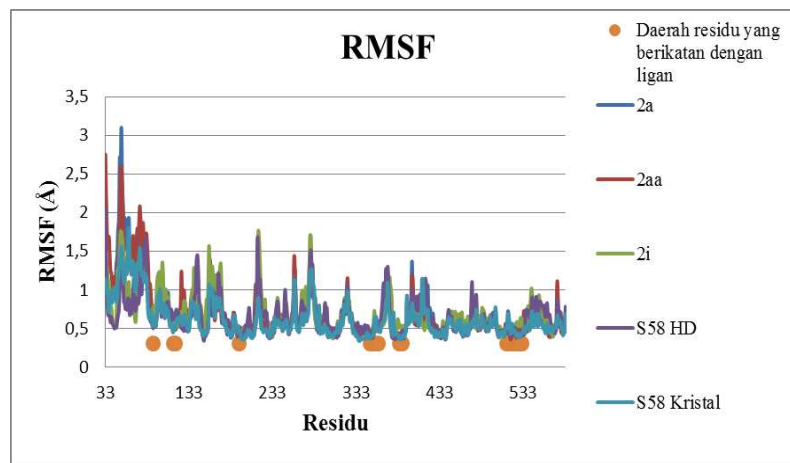
RMSF atau Akar Kuadrat Rata-Rata Fluktuasi diukur saat energi potensial memiliki fluktuasi terkecil, yaitu dimulai dari 1 nanodetik hingga simulasi berakhir. Secara keseluruhan terdapat fleksibilitas yang rendah pada daerah residu yang berikatan dengan ligan, yaitu berada pada daerah 0,35-0,70 Å (Gambar 4). Hal ini menunjukkan adanya kestabilan pada daerah residu yang berikatan dengan ligan pada simulasi dinamika molekuler selama 2 nanodetik.

Kondisi Ikatan Hidrogen Hasil Simulasi Dinamika Molekular

Ikatan hidrogen dibagi menjadi 3 jenis berdasarkan jumlah persentase *occupancy*, yaitu ikatan hidrogen sangat lemah (25%-50%), ika-



Gambar 3. Grafik RMSD backbone 6COX dengan ligan dalam rentang 2 nanodetik



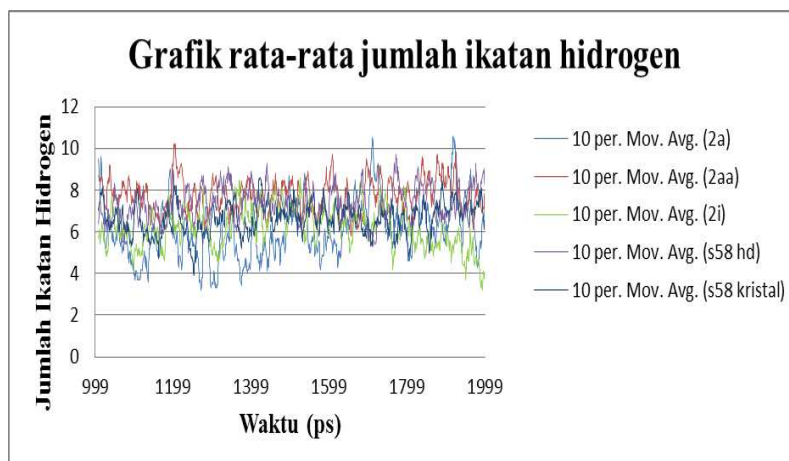
Gambar 4. Grafik RMSF C- α kelima sistem setelah simulasi selama 2 nanodetik

tan hidrogen kuat (50-75%) dan ikatan hidrogen sangat kuat (75%-100%) (17).

Kondisi ikatan hidrogen pada simulasi antara 1-2 nanodetik 6COX dengan senyawa 2a menunjukkan adanya 150 jenis ikatan hidrogen yang terbentuk. Dari 150 ikatan tersebut, didapatkan sebanyak 3 ikatan yang memiliki persentase occupancy di atas 30%, yaitu ikatan pada His 90, Phe 518 dan Arg 513. Senyawa 2a bertindak sebagai akseptor ikatan hidrogen pada ikatan yang terjadi dengan residu-residu tersebut. Gambar 5 dan Tabel 3 menunjukkan jumlah ikatan hidrogen senyawa 2a tidak stabil dibandingkan dengan senyawa 2aa, 2i dan SC-558 selama simulasi pada waktu 1 sampai 2 nanodetik.

Pada simulasi antara 1-2 nanodetik 6COX dengan senyawa 2aa mempunyai 124 jenis ikatan hidrogen. Senyawa ini memiliki ikatan hidrogen yang paling kuat dibandingkan dengan senyawa 2a, 2i, dan SC-558. Hal tersebut terlihat pada ikatan dengan residu Arg 513, Tyr 385 dan Ser 353 yang memiliki persentase occupancy di atas 90%.

Pada simulasi antara 1-2 nanodetik 6COX dengan senyawa 2i terdapat 173 jenis ikatan hidrogen, tetapi hanya memiliki sedikit ikatan hidrogen dengan persentase occupancy di atas 30%. Ikatan-ikatan tersebut termasuk ikatan hidrogen lemah. Menurut Desiraju dan Steiner, 1999 (18), ikatan hidrogen lemah adalah ikatan antara atom CH dengan atom O, OH dengan ikatan π dan OH



Gambar 5. Grafik rata-rata jumlah ikatan hidrogen hasil simulasi dinamika molekuler pada waktu 1-2 nanodetik

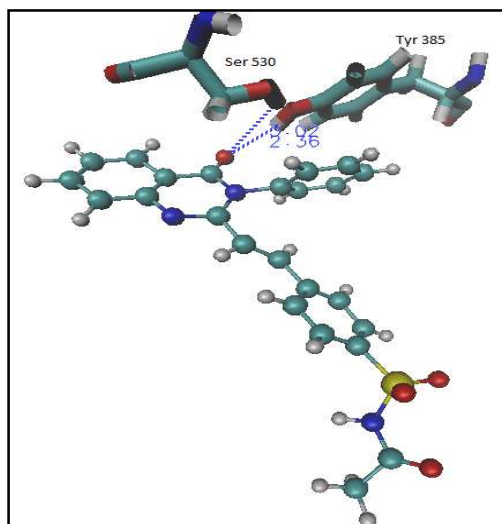
Tabel 3. Analisis ikatan hidrogen pada senyawa S58,2i, 2a, dan 2aa

Inhibitor	Donor	Akseptor	HB_distance	DA_distance	Sudut	Occupancy
S58 HD	S58-N ; S58-H4	Gln 192-OE1	2,242 ± 0,21	3,063 ± 0,19	137,654 ± 9,59	66,10 %
	S58-N ; S58-H4	Leu 352-O	2,270 ± 0,26	3,154 ± 0,19	148,149 ± 15,57	20,60 %
	Arg 513-NH1 ; Arg 513-HH11	S58-O1	2,212 ± 0,23	3,101 ± 0,2	148,593 ± 12,71	68,10 %
	Phe 518-N; Phe 518-H	S58-O	2,267 ± 0,21	3,152 ± 0,17	147,069 ± 10,24	80,90 %
S58 Kristal	S58-N3; S58-HN32	Gln 192-OE1	2,142 ± 0,21	3,01 ± 0,19	143,569 ± 10,56	83,70 %
	S58-N3; S48-HN31	Leu 352-O	2,152 ± 0,23	3,081 ± 0,19	153,42 ± 12,01	48,30 %
	S58-N3; S58-HN31	Ser 353-O	2,115 ± 0,24	2,975 ± 0,18	143,562 ± 13,63	43,40 %
	Arg 513-NH1; Arg 513-HH11	S58-O1	2,127 ± 0,22	3,093 ± 0,22	162,047 ± 9,80	20,10 %
	Phe 518-N; Phe 518-H	S58-O1	2,409 ± 0,15	3,321 ± 0,12	151,335 ± 9,58	16,10 %
2i	Ser 530-OG; Ser 530-HG	2i-O	2,193 ± 0,25	2,975 ± 0,18	139,087 ± 10,04	2,40 %
	2i-N2; 2i-H16	Tyr 385-OH	2,402 ± 0,21	3,236 ± 0,16	149,995 ± 14,13	20,70 %
	Trp 387-CZ2; Trp 387-HZ2	2i-O1	2,421 ± 0,11	3,327 ± 0,10	143,290 ± 14,38	60,50 %
	2i-C19; 2i-H8	Val 523-O	2,549 ± 0,13	3,345 ± 0,10	129,934 ± 7,61	32,80 %
	2i-N2; 2i-H16	Tyr 385-CE2	2,524 ± 0,14	3,298 ± 0,13	133,391 ± 9,26	40,70 %
2a	His 90-NE2; His 90-HE2	2a-O	1,996 ± 0,21	2,902 ± 0,16	151,801 ± 15,05	50,80 %
	Phe 518-N; Phe 518-H	2a-O1	2,194 ± 0,20	3,123 ± 0,18	153,778 ± 9,19	40,50 %
	Arg 513-NH1 ; Arg 513-HH11	2a-N2	2,172 ± 0,18	3,136 ± 0,17	161,864 ± 10,40	44,80 %
2aa	Ser 530-OG; Ser 530-HG	2aa-O	2,44 ± 0,33	3,141 ± 0,27	131,304 ± 12,33	5 %
	Arg 513-NH1; Arg 513-HH11	2aa-O1	1,891 ± 0,13	2,863 ± 0,12	16,861 ± 9,44	99,80 %
	Tyr 385-OH; Tyr 385-HH	2aa-O	2,047 ± 0,24	2,894 ± 0,21	148,480 ± 12,03	94,80 %
	2aa-N2; 2aa-H10	Ser 353-O	1,881 ± 0,12	2,852 ± 0,11	162,556 ± 9,19	100 %
	His 90-CE1; His 90-HE1	2aa-O3	2,394 ± 0,11	3,361 ± 0,09	150,779 ± 12,23	50,40 %

dengan atom O. Atom O1 pada senyawa 2i berikatan dengan atom CZ2 dan HZ2 dari residu Trp 387 yang mempunyai persentase occupancy tertinggi yaitu 60,50%. Dari data yang didapatkan, senyawa 2i cenderung tidak mempunyai ikatan hidrogen yang kuat, apabila dibandingkan dengan hasil penambatan molekul, dimana senyawa 2i mempunyai nilai ΔG terendah (-10,56 kkal/mol) dibandingkan dengan senyawa lainnya.

Oleh karena itu, diprediksi bahwa ikatan hidrogen yang terjadi tidak berperan penting dalam dinamika inhibisinya.

Pada simulasi antara 1-2 nanodetik 6COX dengan senyawa SC-558 hasil penambatan molekul terdapat 121 jenis ikatan hidrogen dan pada SC-558 kristal terdapat 128 jenis ikatan hidrogen. Hasil analisis simulasi dinamika molekuler dengan piranti lunak VMD memperlihatkan adanya



Gambar 6. Interaksi senyawa 2aa dengan residu Ser 530 dan Tyr 385

perbedaan jumlah *occupancy* pada ikatan dengan residu yang sama. Perbedaan yang signifikan terjadi pada residu Phe 518 dimana pada senyawa SC-558 hasil penambatan molekul (S58 HD) memiliki persentase *occupancy* 80,90% sedangkan pada SC-558 kristal hanya 16,10% (Tabel 3). Hal tersebut terjadi dimungkinkan karena adanya perbedaan koordinat awal dari masing-masing ligan, serta simulasi dinamika molekuler selama 2 nanodetik belum cukup untuk menganalisa ikatan hidrogen dari senyawa SC-558.

Secara keseluruhan, residu Arg 513 merupakan residu yang mempunyai peranan paling penting dalam terjadinya ikatan hidrogen sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Yuniarti dkk, 2011 (19). Hampir semua senyawa mempunyai ikatan hidrogen dengan residu Arg 513 dengan persentase *occupancy* diatas 30% kecuali senyawa 2i. Dari gambar grafik, jumlah ikatan hidrogen dari senyawa 2aa, 2i dan SC-558 menunjukkan jumlah yang cenderung stabil. Data ikatan hidrogen hasil simulasi dinamika molekuler senyawa 2i, menunjukkan bahwa senyawa ini mempunyai ikatan hidrogen yang paling lemah. Hal ini disebabkan pada senyawa 2i tidak memiliki substitusi gugus sulfonamida atau sulfasetamida pada posisi R2, sehingga senyawa 2i tidak memiliki ikatan hidrogen dengan residu His 90,

Arg 513, dan Phe 518 seperti yang terjadi pada senyawa 2a, 2aa, dan SC-558 dimana ikatan hidrogen dengan residu tersebut memiliki jumlah ikatan yang besar dan kuat. Pada gugus fenil dari senyawa 2i memiliki interaksi hidrofobik dengan residu His 90 dan Phe 518 Ikatan hidrofobik tersebut yang diprediksi memberikan nilai ΔG (-10,56 kkal/mol) dan Ki (18,2 nM) yang sangat rendah pada senyawa 2i.

Pada senyawa 2a, 2b, 2c, 2d, 2e, dan 2f tidak memiliki perbedaan interaksi yang signifikan, hal tersebut diperlihatkan oleh data ΔG yang tidak berbeda jauh serta memiliki ikatan pada residu yang sebagian besar sama seperti residu Ala 516, Phe 518, Leu 352, Ser 353, Tyr 355, Val 523, Gly 526, Ala 527, Leu 359, Val 349, Arg 513, His 90, Leu 531, dan Val 116. Hal ini menunjukkan bahwa substitusi pada posisi R1 memiliki peran dalam penghambatan COX-2 secara selektif.

Senyawa 2aa, 2ba dan 2ca memiliki nilai ΔG yang tinggi, sehingga diprediksi memiliki aktifitas penghambatan COX-2 yang kurang selektif. Selama simulasi dinamika molekuler, senyawa 2aa memiliki ikatan hidrogen yang sangat kuat. Hal tersebut terjadi karena atom O pada gugus kuinazolinon berikatan dengan residu Ser 530 dan Tyr 385 (Gambar 6). Atom O tersebut bertindak sebagai akseptor ikatan hidrogen, sedangkan

residu Ser 530 pada atom OG dan HG bertindak sebagai donor ikatan hidrogen, residu Tyr 385 pada atom OH dan HH bertindak sebagai donor ikatan hidrogen.

Hasil penambatan molekul dan simulasi dinamika molekuler menunjukkan interaksi yang berbeda pada masing-masing sistem. Dari hasil penambatan molekul dan simulasi dinamika molekuler, didapatkan bahwa senyawa 2i memiliki ΔG terendah yang artinya diprediksi memiliki

aktivitas paling kuat dalam menghambat COX-2 tetapi memiliki ikatan hidrogen yang lemah. Inhibitor selektif terhadap COX-2 terbukti secara klinis mempunyai efek yang kecil sebagai anti-tromboksan sehingga dapat meningkatkan resiko timbulnya penyakit kardiovaskular seperti infark miokard (3). Dari data tersebut diprediksi bahwa senyawa 2i merupakan inhibitor selektif terhadap COX-2 sehingga dapat menyebabkan penyakit kardiovaskular seperti infark miokard.

DAFTAR PUSTAKA

- Dannhardt, G., Kiefer, W. Cyclooxygenase inhibitors - current status and future prospects. *Eur J Med Chem.* 2000; 36:109-126.
- Kurumbail, G.R., et al.. Structural basis for selective inhibition of cyclooxygenase-2 by anti-inflammatory agents. *Lett To Nat.* 1996; 384: 644-648.
- Coruzzi, G., Venturi, N., & Spaggiari, S. Gastrointestinal safety of novel nonsteroidal antiinflammatory drugs: selective COX-2 inhibitor and beyond. *Acta Biomed.* 2007;78: 96-110.
- Hayun., Yanuar, A., Hanafi, M., & PWS, HS. (2011). Virtual screening of 2,3-disubstituted-4-(3H)-quinazolinones possessing benzenesulfonamide moiety for COX-2 inhibitor. *Bioinformation.* 2011; 7(5): 246-250.
- Hudiono, S., & Hayun. Laporan Penelitian Sintesis 4-[(E)-2-(4-okso-3-fenil-kuinazolin-2-il)vinil] benzenesulfonamida dan Analognya. Depok: Departemen Farmasi FMIPA UI. 2011.
- Jorgensen, W.L.. The Many Role of Computation in Drug Discovery. *Science.* 2004; 303: 1813-1818.
- Moitessier, N., Englebienne, P., Lee, D., Lawandi, J., & Corbeil, C.R. Toward the Development of Universal, Fast, and Highly Accurate Docking/Scoring Methods: a long way to go. *Br. J. Pharmacol.* 2008; 153: S7-S26.
- Stouten, P.F.W., & Kroemer, R.T. Docking and Scoring. In P.F.W. Stouten (Ed). *Compr Med Chem II*, Vol 4. Elsevier Ltd, London. 2007; 255-281.
- Teodoro, M.L., Phillips Jr, G.N., & Kavraki, L.E. Molecular Docking: A Problem with Thousand of Degrees of Freedom. 2001; Diakses pada 18 Februari, 2012, dari <http://phillips-lab.biochem.wisc.edu/pdfs/108-docking.pdf> 960-966.
- Kouranov, A., et al. The RCSB PDB information portal for structural genomics. *Nucleic Acids Res.* 2006; 34: D303-D305.
- ChemAxon, MarvinSketch: Advanced Chemical Drawing Software. Diakses pada 15 Februari 2012 dari <http://www.chemaxon.com/products/marvin/marvinsketch/>
- Hutchison, G.R., et al. Open Babel Documentation Release 2.3.1. 2011, Diakses pada 15 Februari, 2012, dari http://openbabel.org/wiki/Main_Page
- Case, D. A., et al.. Amber 11 User's Manual. San Fransisco: University of California. 2010.
- Morris, G., et al. AutoDock 4 and AutoDock Tools 4: automated docking with selective receptor flexibility. *J Comput Chem.* 2009; 1-7.
- Delano, W. Pymol user's guide. 2004, Diakses pada 10 Januari, 2012, dari Delano Scientific LLC: <http://pymol.sourceforge.net/newman/userman>
- Desheng, L., Jian, G., Yuanhua, C., Wei, C., Huai, Z., & Mingjuan, J. Molecular dynamics simulations and MM/GBSA methods to investigate binding mechanisms of aminomethylpyrimidine inhibitors with DPP-IV. *Bioorg Med Chemm Lett.* 2011; 21: 6630-6635
- Kastner, J., Loeffler, H.H., Roberts, S.K., Fernandez, M.L.M., & Winn, M.D. Ectodomain orientation, conformational plasticity and oligomerization of ErbB1 receptors investigated by molecular

- dynamics. *J Struct Biol*, 2009; 167(2): 117-128.
18. Desiraju, G. R., & Steiner, T. *The Weak Hydrogen Bond, in Structural Chemistry and Biology*. Oxford: Oxford Univ. Press. 1999, 1-17.
19. Yuniarti N, Ikawati Z, Istyastono EP. The importance of ARG513 as a hydrogen bond anchor to discover COX-2 inhibitors in a virtual screening campaign. *Bioinformation*. 2011; 6(4):164-6.