

Reseptor P2Y *G-Protein Couple Receptors* (GPCRs): Target Menarik Pengembangan Obat Baru

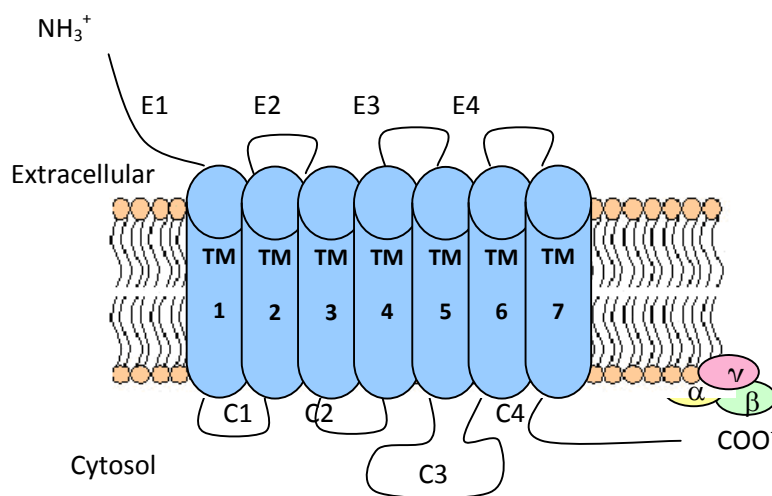
Sophi Damayanti
KK Farmakokimia, Sekolah Farmasi ITB, Jalan Ganesa No 10, Bandung
sophi.damayanti@fa.itb.ac.id

ABSTRAK

P2Y purinergik reseptor adalah bagian dari *G-protein couple receptor* (GPCRs), group reseptor yang merupakan target utama pada berbagai pengobatan. Hingga kini, delapan subtype reseptor P2Y telah diidentifikasi. Kelompok pertama dari P2Y adalah reseptor P2Y₁, P2Y₂, P2Y₄, P2Y₆, dan P2Y₁₁. Reseptor P2Y ditemukan di berbagai lokasi di dalam tubuh seperti otak, limfosit, paru-paru, sel darah dan lain-lain. Salah satu reseptor yaitu reseptor P2Y₁₂ memainkan peran utama dalam aktivasi trombosit. Reseptor ini dilaporkan untuk mengambil bagian dalam amplifikasi dan penyelesaian aktivasi platelet dan agregasi antagonis reseptor P2Y₁₂ yang telah dikenal untuk pengobatan adalah clopidogrel dan ticlopidin. Berdasarkan lokasi dan peran P2Y reseptor dalam berbagai fungsi tubuh, dapat disimpulkan bahwa P2Y reseptor merupakan salah satu reseptor yang dapat dijadikan pengembangan obat secara rasional berdasarkan target.

G-protein couple receptor (GPCRs)

Lebih dari 50% dari semua obat yang beredar di perdagangan meregulasi *G-protein couple receptor* (GPCRs) dan 30% dari obat ini secara langsung ditargetkan untuk GPCRs (Fredholm *et al*, 2007; Jacoby *et al*, 2006, Flower, 1999). GPCRs dianggap penting berdasarkan perannya dalam proses transmisi sinyal sel manusia (Milligan, 2003; Brink *et al*, 2004). Selain itu GPCRs memainkan peran kunci untuk terjemahan rangsangan ekstraseluler dalam sinyal intraseluler. Reseptor ini terlibat dalam mekanisme utama dari sel-sel eukariotik untuk menerima, menafsirkan, dan mengaktifkan berbagai rangsangan ekstraseluler yang berbeda (Kostenis *et al.*, 2005). Secara struktural, GPCRs adalah reseptor yang memiliki tujuh transmembran (7tm) (Gambar 1).

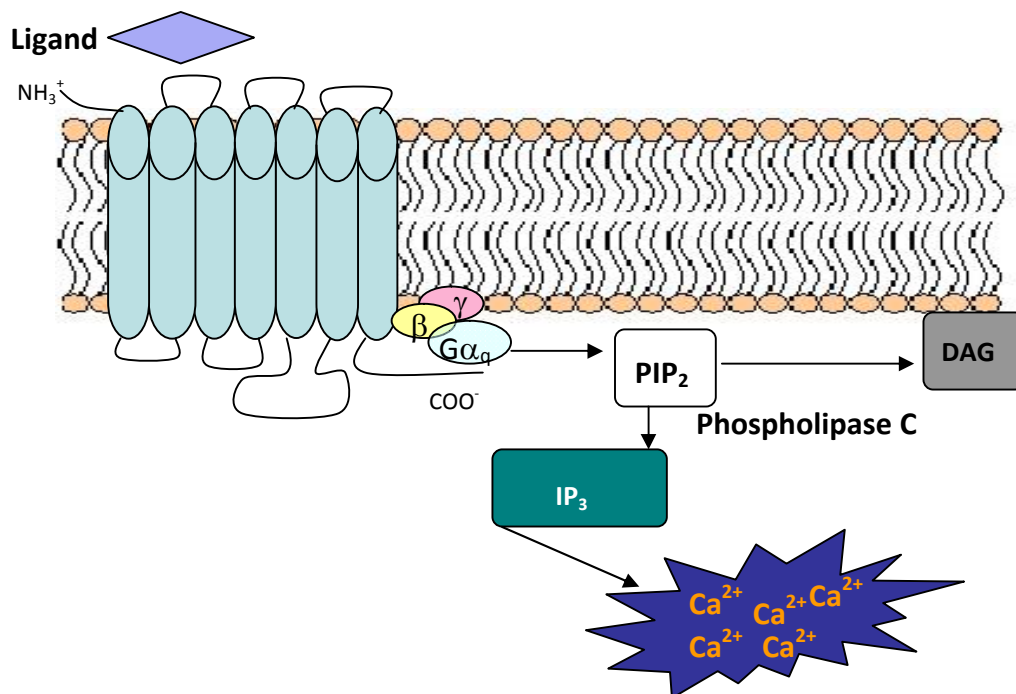


Gambar 1. GPCRs terdiri dari tujuh transmembran mencakup domain, satugugus karboksi intraseluler, dan ekstraseluler gugus amino.

Reseptor ini mengaktifkan protein G heterotrimeric (protein guanin nukleotida mengikat) yang terdiri dari tiga subunit: α , β , dan γ . α -subunit menunjukkan aktivitas GTP-ase yang menentukan intraseluler transduksi sinyal dengan menghambat atau aktivasi sistem efektor yang berbeda. Protein G dapat dibagi menjadi tiga keluarga menurut homologi urutan mereka: Gs, Gi / Go, dan Gq. Pada saat istirahat, α subunit protein G yang melekat pada GDP.

Ketika ligan agonis berikatan dengan situs tertentu dari GPCRs, reseptor diaktifkan dan perubahan konformasi dari protein reseptor menyebabkan pertukaran GDP untuk GTP pada subunit α dari protein G. Dengan demikian, subunit α memisahkan dari β/γ subunit dan keduanya dapat terlibat dalam modulasi protein efektor seperti adenilat siklase atau fosfolipase C.

Gs protein merangsang sintesis enzimatik utusan sekunder siklik AMP (cAMP) dengan mengaktifkan adenilat siklase. Gi/ Go protein memiliki efek sebaliknya. Gq-protein mengaktifkan fosfolipase C yang mengkatalisis hidrolisis fosfatidilinositol-4,5-bifosfat (PIP₂) menjadi dua *second messenger*, yaitu inositol-1,4,5-triphosphate (IP₃) dan diacylglycerole (DAG) (Gambar 2) (Fredholm *et al*, 2007; Steinhilber *et al*, 2005, Patrick, 1995).



Gambar 2. Sinyal transduksi Gq-coupling reseptor. DAG = diasilgliserol, IP₃ = Inositol-1,4,5-triphosphate, PIP₂ = Phosphatidylinositol-4,5-bifosfat.

IP3 adalah molekul hidrofilik yang memobilisasi pelepasan intraselular Ca^{2+} dari retikulum endoplasma. Ca^{2+} menunjukkan berbagai peraturan beberapa fungsi selular. Sementara itu DAG mengaktivasi protein kinase C (Steinhilber *et al*, 2005; Patrick, 1995).

P2Y reseptor

Lokasi dan peran reseptor

P2Y reseptor adalah reseptor purinergik yang mulai dikenalkan oleh Burnstock di tahun 1976. Hingga kini, delapan subtype reseptor P2Y diidentifikasi dan dikloning. Mereka dapat dibagi menjadi dua kelompok filogenetik. Satu kelompok terdiri dari P2Y₁, P2Y₂, P2Y₄, P2Y₆, dan reseptor P2Y₁₁ terutama digabungkan ke fosfolipase C (Gq-coupling) dan yang lain terdiri dari reseptor P2Y₁₂, P2Y₁₃, dan P2Y₁₄ yang menghambat adenilat siklase (Gi-coupling) (Abbraccio *et al.*, 2003). Reseptor P2Y₁ terdeteksi terutama di plasenta, trombosit, otak, dan prostat. Reseptor ini jarang ditemukan di hati, perut, limfosit, sumsum tulang, dan ginjal. Reseptor P2Y₁ dilaporkan untuk mengambil bagian dalam aktivasi platelet dan agregasi. Aktivasi trombosit yang penting bagi pencegahan perdarahan. Hal ini terjadi sebagai respon terhadap cedera (Gachet, 2005; Baurand *et al*, 2000; Boeynaems *et al*, 2001).

Reseptor P2Y₂ terdeteksi di jantung, otot rangka, dan beberapa daerah otak pada jumlah yang banyak. Reseptor ini ditemukan di limfosit, limpa, sumsum tulang, paru-paru, dan makrofag pada tingkat menengah. Selain itu, reseptor juga terdeteksi di pankreas, perut, dan hati pada jumlah yang rendah (Moore *et al.*, 2001). Agonis reseptor P2Y₂ dikembangkan untuk pengobatan gejala *cystic fibrosis* (Parr *et al.*, 1994). Reseptor P2Y₂ dilaporkan memiliki peran dalam sindrom mata kering (Müller, 2002). Ekspresi tinggi reseptor P2Y₂ ditemukan di jenis sel yang berbeda dari mata. Aktivasi reseptor P2Y₂ oleh agonis muncul untuk mengatur hidrasi

permukaan mata dengan cara merangsang sekresi klorida dan peningkatan produksi air mata (Fujihara *et al*, 2001;. Mundasad *et al*, 2001.).

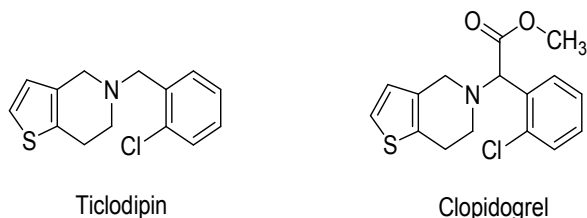
Reseptor P2Y₄ memiliki distribusi terbatas. Reseptor ini dinyatakan hampir secara khusus dalam plasenta, usus, dan otak. Ekspresi dalam paru-paru ditemukan pada tingkat rendah (Moore *et al.*, 2001) serta di monosit dan limfosit (Jin *et al.*, 1998b). Reseptor P2Y₄ tampaknya terlibat dalam regulasi transportasi klorida epitel di jejunum (Robaye *et al.*, 2003).

Reseptor P2Y₆ ditemukan pada tingkat tinggi dalam limpa, ginjal, dan plasenta (Communi *et al.*, 1996). Selain itu, reseptor juga terdeteksi di sistem vaskular, otot polos, dan paru-paru pada tingkat sedang (Ralevic dan Burnstock, 1998). Reseptor ini ditemukan di liver pada tingkat rendah dan terdeteksi di beberapa daerah otak (Moore *et al.*, 2001). Reseptor P2Y₆ dilaporkan memiliki peran dalam stimulasi proliferasi sel epitel paru-paru manusia (Schäfer *et al.*, 2003).

Reseptor P2Y₁₁ yang diekspresikan pada tingkat tinggi di otak dan usus serta dalam limfosit dan limpa. Reseptor P2Y₁₁ disajikan dalam jaringan lain pada tingkat moderat dan tingkat terendah yang terdeteksi di sumsum tulang belakang (Moore *et al.*, 2001). Reseptor P2Y₁₁ tampaknya memiliki peran dalam pematangan dan migrasi sel dendritik (Kassack *et al*, 1996, Wilkin *et al*, 2001, Schnurr *et al*, 2003).

Reseptor P2Y₁₂ ditemukan di otak, sumsum tulang belakang, dan trombosit (Barnard dan Simon, 2001; Takasaki *et al*, 2001; Sasaki *et al*, 2003). Reseptor P2Y₁₂ memainkan peran sentral dalam aktivasi trombosit. Reseptor ini dilaporkan untuk mengambil bagian dalam amplifikasi dan penyelesaian aktivasi platelet dan agregasi (Schoeneberg *et al*, 2007; Gachet, 2005). Antagonis reseptor P2Y₁₂ yang baik adalah metabolit clopidogrel dan ticlopidin. Kedua obat ini telah banyak digunakan sebagai obat

antiplatelet (Angiolillo *et al*, 2008; Michelson, 2008; Sandros, 2008). Gambar 3 menunjukkan rumus struktur clopidogrel dan ticlodipin.



Gambar 3. Antagonis reseptor P2Y₁₂: ticlodipin dan clopidogrel.

Studi klinis menunjukkan bahwa clopidogrel adalah agen antiplatelet yang efektif dan aman seperti aspirin pada dosis sedang (Caprie, 1996). Sebuah penurunan yang signifikan dari risiko infark miokard, stroke iskemik, penyakit arteri perifer, atau kematian vaskular dilaporkan dalam kombinasi dengan aspirin. CURE (*Clopidogrel in Unstable Angina to Prevent Recurrent Ischemic Events*) telah menunjukkan bahwa terapi kombinasi keduanya yaitu clopidogrel dan aspirin telah memberikan efek menguntungkan. Jika diberikan kepada semua orang di Amerika Serikat dengan sindrom koroner akut, kombinasi clopidogrel dan aspirin bisa mencegah antara 50.000 dan 100.000 infark miokard baru, stroke dan kematian setiap tahunnya (Mitka, 2001). Berdasarkan hasil tersebut, FDA menyetujui clopidogrel untuk pengobatan beberapa sindrom koroner akut

Reseptor P2Y₁₃ terdeteksi pada tingkat tinggi di otak dan limpa (Marteau *et al*, 2003; Zhang dkk, 2001). Reseptor ini jugadiekspresikan dalam sumsum tulang, jantung, dan leukosit perifer. Sejauh ini, tidak ada bukti yang tepat untuk fungsi dari reseptor ini (Abbrachio *et al.*, 2006).

Reseptor P2Y₁₄ terdeteksi pada tingkat tinggi di jaringan adiposa, usus, lambung, dan plasenta. Limpa, jantung, paru-paru, dan banyak daerah otak menunjukkan tingkat sedang (Moore *et al.*, 2003).

Mereka dilaporkan memiliki peran penting dalam fungsi perifer dan neuroimmune (Moore *et al.*, 2003).

Ligan pada reseptor P2Y

Ligan reseptor P2Y diklasifikasikan sebagai nukleotida, turunan nukleotida, dan non-nukleotida. The trifosfat ATP dan UTP serta difosfat ADP dan UDP milik nukleotida ligan. 2-MeSADP dan 2-MeSATP dikenal derivatif nukleotida. Sementara itu, Suramin, reaktif biru 2 (RB-2), dan PPADS dikategorikan sebagai antagonis non-nukleotida. Tabel 1 menunjukkan agonis dan antagonis pada reseptor P2Y (Fredholm *et al*, 1997; Boarder dan Hourani, 1998; Hollopeter *et al*, 2001; Zhang *et al*, 2001).

Table 1 Ligan P2Y Reseptor (King and Townsend-Nicholson, 2003; Abbrachio, 2006)

SUBtipe	Agonis	Antagonis
hP2Y ₁	MRS2365, ADP, ADPβS, 2-MeSADP, 2-MeSATP	MRS2179, MRS2279, MRS2500
hP2Y ₂	UTP, ATP, Ap4A	Suramin
hP2Y ₄	UTP, UTPγS	PPADS, Reactive Blue-2
hP2Y ₆	UDP, UDPβS	MRS 2567, Reactive Blue-2
hP2Y ₁₁	AR-C67085, ATPγS, BzATP, ATP	Suramin, NF157, NF340
hP2Y ₁₂	2-MeSATP, 2-MeSADP	Metabolit of ticlodipine, clopidogrel, suramin, AZD6140
hP2Y ₁₃	ADP, 2-MeSADP, 2-MeSATP, ADPβS, ATP	Suramin, MRS2211
hP2Y ₁₄	UDP - glucose, UDP - galactose, UDP - N - acetylglucosamine	-

KESIMPULAN

Berdasarkan lokasi dan peran P2Y receptors dalam berbagai fungsi tubuh, dapat disimpulkan P2Y reseptor merupakan salah satu reseptor yang dapat dijadikan pengembangan obat secara rasional berdasarkan target.

UCAPAN TERIMA KASIH

Review ini disarikan dari Disertasi dibawah bimbingan Prof. Dr. Matthias U. Kassack, Institute of Pharmaceutical and Medicinal Chemistry, University of Duesseldorf, Germany.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbrachio MP, Boeynaems M J, Barnard E A, Boyer J L, Kennedy C, Miras-Portugal M T, King B F, Gachet C, Jacobson K A, Weisman G, and Burnstock G (2003) Characterisation of the UDP-glucose receptor (re-named here the P2Y₁₄ receptor) adds diversity to the P2Y receptor family. *Trends in Pharmacol. I Sci.* **24**: 52-55.
- Abbrachio MP, Burnstock G, Boeynaems M J, Barnard E A, Jose L B, Kennedy C, Knight G E, Fumagalli M, Gachet C, Jacobson K A, and Weisman G (2006) International Union of Pharmacology LVIII: Update on the P2Y G protein-coupled nucleotide receptors: from molecular mechanisms and pathophysiology to therapy. *Pharmacol Rev* **58**: 281-341
- Angiolillo DJ, Costa M A, Shoemaker S B, Desai B, Bernardo E, Suzuki Y, Charlton R K, Zenni M M, Guzman L A, and Bass T A (2008) Functional effects of high clopidogrel maintenance dosing in patients with inadequate platelet inhibition on standard dose treatment. *Am J Cardiol* **101**: 440-445.
- Barnard EA and Simon J (2001) An elusive receptor is finally caught: P2Y₁₂, an important drug target in platelets. *Trends Pharmacol Sci* **22**: 388-391.
- Baurand A, Eckly A, Bari N, Leon C, Hechler B, Cazenave J P, and Gachet C (2000) Desensitization of the platelet aggregation response to ADP: differential down-regulation of the P2Y₁ and P2_{cyc} receptors. *Thromb Haemost* **84**: 484-491.
- Boarder MR and Hourani S M (1998) The regulation of vascular function by P2 receptors: multiple sites and multiple receptors. *Trends Pharmacol Sci* **19**:99-107.
- Boeynaems JM, Robaye B, Janssens R, Suarez-Huerta N, and Communi D (2001) Overview of P2Y receptors as therapeutic targets. *Drug Dev Res* **52**: 187-189.
- Brink CB, Harvey B H, Bodenstein J, Venter D P, and Oliver D W (2004) Recent advances in drug action and therapeutics: relevance of novel concepts in G protein-coupled receptor and signal transduction pharmacology. *Br J Clin Pharmacol* **57**:373 - 387.
- Burnstock G (1976) Purinergic receptors. *J of Th. Biol* **62**: 491-503.
- Caprie Steering Committee (1996) A randomized, blinded, trial of clopidogrel versus aspirin in patients at risk of ischaemic events. *Lancet* **16**: 1329-1339.
- Communi, D, Motte S, Boeynaems J M, and Piroton S (1996) Pharmacological characterization of the human P2Y₄ receptor. *Eur J of Pharmacol* **317**: 383-389.
- Flower DR (1999) Modelling G-protein-coupled receptors for drug design. *Biochimica et Biophysica Acta* **1422**: 207-234.
- Fredholm BB, Abbrachio M P, Burnstock G, Dubyak G R, Harden T K, Jacobson K A, Schwabe U, and Williams M (1997) Towards a revised nomenclature for P1 and P2 receptors. *Trends Pharmacol Sci* **18**: 79-82.
- Fredholm BB, Hoekfelt T, and Milligan G (2007) G protein-coupled receptors: an update. *Acta Physiol* **190**: 3-7.

- Fujihara T, Murakami T, Fujita H, Nakamura M, and Nakata K (2001) Improvement of corneal barrier function by the P2Y₂ agonist INS365 in a rat dry eye model. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* **42**: 96-100.
- Gachet C (2005) The platelet P2 receptors as molecular targets for old and new antiplatelet drugs. *Pharmacol and Ther* **108**: 180 - 192.
- Hollopeter G, Jantzen H M, Vincent D, Li G, England L, Ramakrishnan V, Yang R B, Nurden A, Julius D, and Conley P B (2001) Identification of the platelet ADP receptor targeted by antithrombotic drugs. *Nature* **409**: 202–207.
- Jacoby E, Bouhelal R, Gerspacher M and Seuwen K (2006). The 7 TM G-protein-coupled receptor target family. *Chem Med Chem* **1**, 761–782.
- Jin J, Dasari VR, Sistare FD, and Kunapuli SP (1998b) Distribution of P2Y receptor subtypes on haematopoietic cells. *Br J Pharmacol* **123**: 789–794.
- Kassack M and Nickel P (1996) Rapid, highly sensitive gradient narrow-bore high-performance liquid chromatographic determination of suramin and its analogues. *J Chrom Biomed Appl* **15**: 275-284.
- Kostenis E, Waelbroeck M, and Milligan G (2005) Techniques: Promiscuous G α proteins in basic research and drug discovery trends in *Pharmacol Sci* **26**: 595-602.
- Marteau F, Le-Poul E, Communi D, Labouret C, Savi P, Boeynaems J M, and Gonzales N S (2003) Pharmacological characterization of the human P2Y₁₃ receptor. *Mol Pharmacol* **64**: 104–112.
- Michelson AD (2008) P2Y₁₂ antagonism promises and challenges. *Arterioscler Thromb Vasc Bio* **28**: 33-38.
- Milligan G (2003) Constitutive activity and inverse agonists of G protein-coupled receptors: a current perspective. *Mol Pharmacol* **64**: 1271-1276.
- Mitka M (2001) Results of CURE trial for acute coronary syndrome. *JAMA* **285**: 1828-1829.
- Moore DJ, Chambers J K, Wahlin J P, Tan K B, Moore G B, Jenkins O, Emson P C, and Murdock P R (2001) Expression pattern of human P2Y receptor subtypes: a quantitative reverse transcription polymerase chain reaction study. *Biochimica et Biophysica Acta* **1521**: 107-119.
- Moore DJ, Murdock P R, Watsonc J M, Faull R M, Waldvogeld H J, Szekerese P G, Wilsone S, Freeman K B, and Emsona P C (2003) GPR105, a novel G_{i/o}-coupled UDP-glucose receptor expressed on brain glia and peripheral immune cells, is regulated by immunologic challenge: Possible role in neuroimmune function. *Mol Brain Res* **118**: 10–23.
- Müller CE (2002) P2-pyrimidnergic receptors and their ligands. *Curr Pharm Des* **8**: 2353-2369.
- Mundasad MV, Novack G D, Allgood V E, Evans R M, Gorden J C, Yerxa B R (2001) Ocular safety of INS365 ophthalmic solution: a P2Y₂ agonist, in healthy subjects. *J. Ocul. Pharmacol. Ther.* **17**: 173.
- Parr CE, Sullivan D M, Paradiso A M, Lazarowski E R, Burch L H, Olsen JC, Erb L, Weisman G A, Boucher R C, and Turner J T (1994) Cloning and expression of a human P2U nucleotide receptor, a target for cystic fibrosis pharmacotherapy. *Proc Natl AcadSci* **91**: 3275.
- Patrick GL (1995) An introduction to medicinal chemistry. *Oxford University Press, Oxford* 68-70.
- Sandros MG, Sarraf C B, and Tabrizian T (2008) Prodrugs in cardiovascular therapy. *Molecules* **13**: 1156-1178.
- Ralevic V and Burnstock G (1998) Receptors for purines and pyrimidines. *Pharmacol Rev* **50**: 415-475.
- Robaye B, Ghanem E, Wilkin F, Fokan D, Van Driessche W, Schurmans S, Boeynames J M, and Beauwens R (2003) Loss of nucleotide regulation of epithelial chloride transport in the jejunum of P2Y₄-null mice. *Mol Pharmacol* **63**: 777–783.

- Sasaki Y, Hoshi M, Akazawa C, Nakamura Y, Tsuzuki H, Inoue K, and Kohsaka S (2003) Selective expression of Gi/o-coupled ATP receptor P2Y₁₂ in microglia in rat. *Brain. GLIA* 44: 242–250.
- Schäfer R, Sedehizade F, Welte T, and Reiser G (2003) ATP- and UTP-activated P2Y receptors differently regulate proliferation of human lung epithelial tumor cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physio* 285: L376–L385.
- Schnurr M, Toy T, Stoitzner P, Cameron P, Shin A, Beecroft T, Davis I D, Cebon J and Maraskovsky E (2003) ATP gradients inhibit the migratory capacity of specific human dendritic cell types: implications for P2Y₁₁ receptor signaling. *Blood* 102: 613-620.
- Schoeneberg T, Hermsdorf T, Engemaier E, Engel K, Liebscher I, Thor D, Zierau K, Roempler H, and Schulz A (2007) Structural and functional evolution of the P2Y₁₂-like receptor group. *Purinergic Signal* 3: 255-268.
- Steinhilber D, Schubert-Zsilavec M, and Roth J H (2005) *Medizinische chemie: Targets und Arzneistoffe*, Deutscher Apotheker Verlag Stuttgart.
- Takasaki J, Kamohara M, Saito T, Matsumoto M, Matsumoto S, Ohishi T, Soga T, Matsushime H, and Furuichi K (2001) Molecular cloning of the platelet P2TAC ADP receptor: pharmacological comparison with another ADP receptor, the P2Y₁ receptor. *Mol Pharmacol* 60: 432–439.
- Wilkin F, Duhant X, Bruyns C, Suarez-Huerta N, Boeynaems J M, and Robaye B (2001) The P2Y₁₁ receptor mediates the ATP-induced maturation of human monocyte-derived dendritic cells. *J Immunol* 166:7172-7177.
- Zhang FL, Luo L, C Gustafson, Palmer K, Qiao X, Fan X, Yang S, Laz T M, Bayne M, and Monsma Jr F (2002) P2Y₁₃: Identification and characterization of a novel G_{ai}-coupled ADP receptor from human and mouse. *J Pharm and Exp Ther* 301: 705–713.