

STUDI FARMAKOFOR RESEPTOR ESTROGEN α SEBAGAI TARGET TERAPI KANKER SERVIKS

Nursalam Hamzah¹, Ahmad Najib², Fatmawati S.¹

¹Fakultas Ilmu Kesehatan Jurusan Farmasi UIN Alauddin Makassar

²Fakultas farmasi UMI Makassar

ABSTRACT

One of the target on chemotherapeutic agent especially for curing cervical cancer is the inhibition of estrogen activity on estrogen alpha receptors. Estrogen stimulates human papilloma virus oncogene expression, promotes cervical cancer (CC) cell proliferation and prevents apoptosis. Therefore, blockage of estrogen function may have therapeutic application to CC. SERMs (*Selective Estrogen Receptor Modulator*) are the group of substances which inhibit the activity of estrogen on its receptor. The aim of this reserach is to determine the features that are important pharmacophore on anti-cercix cancer activity of compounds on ER- α receptor that depended on this receptor. Modeling and determination pharmacophore features created using the program MOE application version 2009. Screening Virtual of chemical compounds to look for natural ingredients in accordance with pharmacophore features that have been made, performed using MOE. The result of the pharmacophore showed that 4-hydroxitamoxifen and its analogues have an antagonism activity on estrogen alpha receptor.

Key words: *ER- α , cervix cancer, 4-hydroxitamoxifen, pharmacophore.*

PENDAHULUAN

Kanker serviks adalah neoplasma ganas yang timbul dari sel-sel yang berasal dari leher rahim, salah satu gejala yang paling umum dari kanker serviks adalah pendarahan pada vagina yang abnormal, tetapi dalam beberapa kasus mungkin tidak ada gejala yang jelas sampai kanker telah berkembang menuju kebagian pinggung. Dua jenis utama dari sel-sel yang menutupi serviks adalah sel skuamosa (eksoserviks) dan sel-sel

kelenjar (endoserviks). (Anonim, 2012-2014: 3-4).

Beberapa jumlah laporan yang mendukung hubungan antara infeksi *human papilloma virus* (HPV) dan karsinogenesis serviks. Di sisi lain, tidak semua wanita terinfeksi HPV dapat menyebabkan kanker serviks, hal ini menunjukkan bahwa faktor-faktor lain yang terlibat bersama dengan HPV dalam menginduksi karsinogenesis serviks. Hormon seks telah terbukti dalam

meningkatkan ekspresi gen dari HPV 16 dan HPV 18, dua sub tipe HPV yang paling terkait dengan kanker serviks. Selain itu, disebagian besar kasus kanker serviks muncul karena paparan estrogen yang sebagian besar sensitif pada leher rahim. Baru-baru ini study mengenai dengan perinatal ER α tikus *knocout* diobati dengan dietilstilbestrol telah menemukan bahwa ER α diperlukan untuk pengembangan adenosis servikovaginal (Megan, 2014: 1164).

Chung dan Lambert menyajikan pendekatan baru menggunakan antagonis reseptor estrogen (modulator reseptor estrogen selektif atau SERM) untuk mengobati prakanker serviks dan kanker. (Castle, 2011: 3). Telah diketahui bahwa ER α diperlukan dalam aktivitas karsinogenik estrogen dalam leher rahim dan estrogen yang memberikan kontribusi tidak hanya untuk genesis tetapi juga untuk pemeliharaan serviks penyakit neoplastik, utilitas obat antagonis ER α dalam mengobati atau mencegah kanker serviks telah dievaluasi dengan menggunakan model tikus transgenik HPV, 3 antagonis ER α telah dievaluasi, yaitu tamoxifen, raloxifen dan fulvestrant. Obat tersebut telah disetujui oleh FDA untuk digunakan dalam pengobatan/ pencegahan kanker payudara manusia, dan merupakan anggota obat dari kelas *selective estrogen receptor modulator* (SERM) (Chung, 2010: 4).

Pemodelan farmakofor berbasis ligan telah menjadi strategi dibidang komputasi khususnya untuk memudahkan penemuan obat khususnya agonis dan antagonis reseptor estrogen *alfa* yang digunakan sebagai terapi kanker leher rahim tanpa adanya sasaran struktur makromolekul dengan menggunakan aplikasi MOE.

METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian ini bersifat teoritis eksperimentatif. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini berupa 23 ER- α yang diperoleh dari situs RCSB. Penelitian ini menggunakan pendekatan kimia komputasi melalui pencarian fitur-fitur farmakofor dan berlangsung selama 3 bulan di Fakultas Ilmu Kesehatan Fakultas Farmasi UIN Alauddin Mks.

Penentuan Sidik Jari Interaksi Ligan-protein /PLIF)

Sidik jari interaksi protein dengan ligan dibuat dengan menggunakan struktur-struktur protein reseptor estrogen *alfa* yang diunduh dari situs RCSB. Seluruh struktur kemudian dibuka pada jendela MOE dan disejajarkan sehingga rantai memiliki struktur yang sama yang akan bergerak bersama-sama sebagai satu unit. Analisis PLIF *DBV | Compute | PLIF | Generate*

Penentuan Fitur Farmakofor

Pencarian farmakofor secara hipotetik digambarkan sebagai

pharmacophore query, yaitu seperangkat fitur query yang biasanya dibuat dari titik anotasi ligan. Titik anotasi adalah penanda dalam ruang yang menunjukkan lokasi dan jenis atom atau gugus yang penting, seperti donor dan akseptor hidrogen, pusat aromatik, posisi proyeksi interaksi yang mungkin, muatan gugus, dan bio-isosterik. Poin-poin anotasi pada ligan adalah lokasi fitur yang potensial yang akan menjadi *query pharmacophore*. Fitur farmakofor ditentukan melalui empat tahapan yaitu membuat database konformasi, membuat *Query Pharmacophore*, mencari fitur farmakofor berdasarkan *Query Pharmacophore* pada database konformasi, kemudian memperbaiki *Query*.

Virtual Skringing

Langkah keempat adalah virtual skringing, dengan mendownload terlebih dahulu beberapa ribu senyawa dari zinc¹² databes. Senyawa-senyawa yang telah didownload kemudian disimpan sebagai databes, untuk melakukan langkah virtual skringing ikuti beberapa perintah *MOE >> Compute >> Pharmacophore >> Search*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

PLIF/Interaksi sidik jari ligan-protein

Tujuan dari analisis interaksi protein-ligan ini adalah untuk mengetahui interaksi antara ligan dengan jenis-jenis asam amino yang terdapat pada situs aktif reseptor RE- α yang kemudian akan

berinteraksi dengan senyawa-senyawa ligan. Dengan menggunakan 23 struktur kompleks ligan-protein, dapat dibuat sidik jari interaksi ligan-protein dengan membandingkan cara pengikatan masing-masing ligan terhadap residu asam amino di sisi pengikatan protein. Interaksi diantaranya ikatan hidrogen, interaksi ionik dan kontak permukaan yang diklasifikasikan sesuai dengan residu asal, dan dibangun dalam skema sidik jari yang merupakan representasi dari database dari protein-ligan kompleks. Pada tabel IV.1 terlihat bahwa Arg 394A, Asp 351A, Glu 353A, Gly 521A dan His 524A merupakan asam amino yang penting dalam pengikatan antara ligan dan reseptor RE- α .

Penyusunan *Query* Farmakofor Ligan

Salah satu tahapan yang paling penting dalam penyusunan *query* farmakofor ligan ini adalah pada proses pensejajaran (*alligment*) struktur 23 protein yang telah diunduh dari situs RCSB. Pada saat proses pensejajaran berlangsung dari seluruh protein perlu diperhatikan agar 23 protein tersebut benar-benar sejajar dengan baik, karena akan sulit untuk membuat fitur farmakofor dari ligan jika strukturnya tidak sejajar dengan baik. Adapun dalam proses pensejajaran tersebut, protein dibuka pada jendela MOE satu persatu dan disejajarkan setiap penambahan protein. Hal tersebut dilakukan agar pensejajaran struktur protein dapat berjalan maksimal

dan menghasilkan struktur yang sejajar dengan baik.

Sebelum masuk pada tahap membuat fitur farmakofor ligan, seluruh reseptor dan pelarut dihilangkan sehingga yang bertumpuk hanya struktur ligan saja. Selanjutnya pembuatan fitur farmakofor ligan dapat dilakukan dengan menjalankan *Pharmacophore Query Editor*. Titik-titik anotasi ligan akan muncul secara otomatis di layar MOE. Adapun cara pemilihan titik anotasi ligan yang tepat adalah ligan yang memiliki kemiripan struktur ligan senyawa obat (Raloxifen, Tamoxifen, Estradiol, dll) dengan ligan yang telah didownload dari RCSB, titik-titik anotasi yang dipilih kemudian dibuat menjadi tiga fitur farmakofor. Ketiga fitur farmakofor tersebut masing-masing sebagai gugus donor proton dan akseptor proton (F3:Don&Acc dan F1:Don&Acc) dan gugus kationik (F2:Cat). Tiga titik anotasi ligan tersebut dipilih karena banyaknya titik anotasi ligan yang bertumpuk pada titik-titik tersebut. Di samping itu, berdasarkan interaksi ligan yang diperoleh pada tahap analisis interaksi ligan-protein, dapat dilihat bahwa interaksi ligan dengan protein terjadi di titik anotasi ligan pada fitur farmakofor F3: Don&Acc dan F1: Don&Acc (4-hidroxytamoxifen) masing-masing merupakan antagonis reseptor estrogen *alfa* terhadap kanker serviks, dalam hal ini terapi yang paling baik untuk

pemilihan obat anti estrogen terhadap pemicu (eksogen) kanker serviks sebagaimana informasi yang tercantum pada penelitian-penelitian sebelumnya.

Virtual skrining

Proses virtual skrining digunakan untuk membantu menemukan senyawa senyawa yang kemungkinan besar berpotensi sebagai obat, dengan membutuhkan waktu yang relatif singkat. Jika target telah diketahui, algoritma *docking* dapat digunakan untuk menempatkan kandidat obat ke dalam sisi aktif dari target seperti enzim atau reseptor. Kemudian interaksi senyawa-senyawa yang telah diikat kemudian diurutkan berdasarkan hasil analisis secara komputasi komponen sterik dan elektrostatisnya.

Hingga saat ini telah banyak ditemukan senyawa anti kanker dari bahan alam. Tetapi, belum diketahui senyawa-senyawa yang selektif terhadap reseptor estrogen *alfa*. Berdasarkan uraian di atas, maka dilakukan penelitian yang secara khusus memodelkan interaksi beberapa senyawa yang diketahui memiliki aktivitas anti kanker serviks melalui penghambatan estrogen melalui RE- α . Pada penelitian ini dilakukan proses virtual skrining terhadap 3560 senyawa kimia yang diunduh dari situs zinc database. Dari proses tersebut tidak diperoleh senyawa kimia bahan alam yang *hits* dengan fitur farmakofor ligan yang memiliki interaksi

dengan reseptor estrogen alfa, dikarenakan jumlah senyawa yang diperoleh dari Zinc databes masih kurang serta pertimbangan yang lain sehingga tidak diperoleh senyawa-senyawa yang *hit*.

KESIMPULAN

Berdasarkan uraian di atas maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Asam amino yang penting dalam interaksi reseptor RE- α yaitu Arg 394A, Asp 351A, Glu 353A, Gly 521A, dan His 524A.
2. Adapun *query* farmakofor yang berperan dalam interaksi ligan-reseptor memiliki fitur dua gugus donor proton dan akseptor proton, nama ligan ke dua fitur tersebut adalah antagonis 4-hidroxitamoxifen.

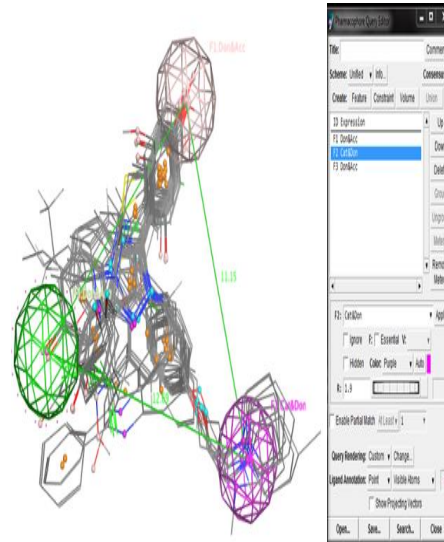
KEPUSTAKAAN

American Cancer Society. *Cervical Cancer*. USA : Atlanta, Inc. 2014.

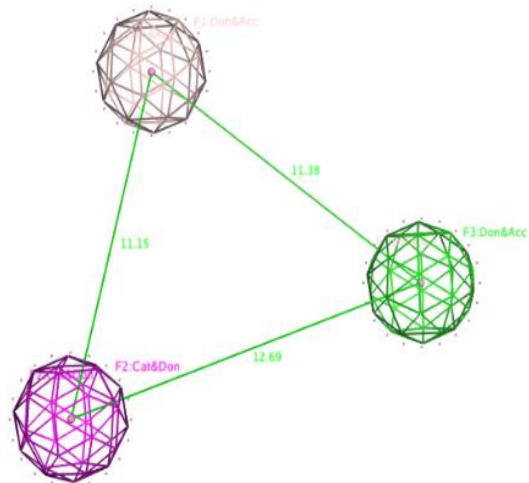
Castl, E. Philip. *Do selective estrogen receptor modulators treat cervical precancer and cancer? time to pool data from relevant trials*. Italy : Division of Cancer Epidemiology and Genetics, National Cancer Institute. 2011.

Chung SH, Lambert PF. *Prevention and treatment of cervical cancer in mice using estrogen receptor antagonists*. USA; *Proc Natl Acad Sci*. 2009.

Spurgeon, E. Megan, dkk. *Recurrence of Cervical Cancer in Mice after Selective Estrogen Receptor Modulator Therapy*. USA; *Proc Natl Acad Sci*. 2014.



Gambar IV.1 Fitur Farmakofor dan Query Editor



Gambar IV.2 Jarak antar fitur-fitur dalam farmakofor *query*

F3 ke F1: 11.38
 F1 ke F2: 11.15
 F2 ke F3: 12.69