

MOLECULAR DINAMIK SENYAWA TURUNAN BENZIMIDAZOL SEBAGAI INHIBITOR KOLINESTERASE

Rizka Amalia¹, Ruswanto²

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Perjuangan Tasikmalaya

²Prodi Farmasi, STIKes Bakti Tunas Husada Tasikmalaya

Email: rizkamilia6@gmail.com

ABSTRAK

Alzheimer adalah proses penyakit dengan hendaya berat fungsi otak (kemampuan kerja otak menurun) atau sering disebut gangguan pikun, yang berlangsung secara progresif yang mengakibatkan gangguan berpikir, mengingat, mental, emosi dan perilaku. Sehingga mengakibatkan aktivitas sehari-hari terganggu. Umumnya yang terkena orang usia lanjut, walau bisa juga pada usia lebih muda. Hal ini mengarah pada saran bahwa inhibitor cholinesterase (ChE) mungkin akan menghentikan defisit kadar acetylcholine dan membantu membalikkan karakteristik kerusakan memori dari penyakit ini. Menggambarkan sintesis dan aktivitas penghambatan cholinesterase dari 4 turunan benzimidazole. Tujuan penelitian adalah untuk mencari kandidat obat alzheimer secara in silico. Metode yang digunakan adalah molecular dinamik. Untuk menganalisis dinamika sistem, dilihat dari fluktuasi sistem versus waktu simulasi. RMSD memainkan peran penting stabilitas protein. Pada simulasi protein dan ligan, terjadi peningkatan nilai RMSD diawali sistem terlihat cukup stabil pada kisaran waktu 0,691912 ns sampai 0,853676 ns pada sumbu Y 0,109454. Nilai RMSF yang memiliki fleksibilitas tinggi dan tidak stabil adalah pada titik atom X: 3921,65 ; Y: 0,270422 nm karena paling banyak mengalami perubahan posisi saat simulasi dinamika berlangsung.

PENDAHULUAN

Alzheimer's Disease (AD), ditemukan oleh Alois Alzheimer pada tahun 1907, digambarkan sebagai penyakit degeneratif sistem saraf pusat (SSP) yang ditandai terutama oleh penurunan dini mental pikun. Meskipun penyakit ini pernah dianggap langka, sekarang ditetapkan sebagai penyebab utama demensia dan mempengaruhi sekitar 24% orang berusia 85 tahun ke atas di seluruh dunia [1]. Terlepas dari semua upaya besar, AD tetap tidak dapat disembuhkan meskipun kemajuan terbaru dalam terapi obat telah menantang pandangan ini [2,3].

Dalam beberapa dekade terakhir, pengobatan untuk AD didasarkan pada hypothesis 'hipotesis kolinergik,' yang dikaitkan dengan gangguan pada transmisi kolinergik [4]. Hal ini mengarah pada saran

bahwa inhibitor cholinesterase (ChE) mungkin akan menghentikan defisit kadar acetylcholine dan membantu membalikkan karakteristik kerusakan memori dari penyakit ini [5]. Empat obat farmasi, yaitu donepezil, rivastigmine, tacrine, dan galantamine, diaplikasikan secara klinis sebagai inhibitor kolinesterase. Kami terkejut bahwa tidak banyak upaya yang telah dilakukan dalam memanfaatkan benzimidazol dalam mengembangkan obat AD baru [6]. Inti benzimidazole adalah penting secara signifikan dalam penelitian kimia obat karena tinggi afinitas terhadap berbagai enzim dan reseptor protein [7,8]. Selain itu, karena turunan benzimidazole telah banyak digunakan di area lain seperti anti-hipertensi [9], anti-virus [10], dan anti-mikobakteri [11] agen, farmakokinetik mereka dipahami dengan baik. Oleh karena

itu, mereka mewakili titik awal yang baik untuk mengembangkan obat baru. Mekanisme interaksi antara turunan benzimidazol dan inhibitornya, dapat diteliti melalui metode *in vivo*, *in vitro*, maupun *in silico*. Studi mengenai interaksi benzimidazol dengan ligannya dapat 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*), namun analisis penambatan molekuler belum dapat digunakan untuk mengamati kestabilan ikatan yang terjadi terhadap ruang dan waktu sehingga diperlukan simulasi dinamika molekuler untuk menganalisis dinamika interaksi inhibisinya dan mengamati kestabilan ikatan yang terjadi dan interaksinya secara lebih lanjut.

Saat ini, desain dan penemuan obat telah banyak dilakukan dengan bantuan computer (Ruswanto, 2019; Ruswanto, 2018; Ruswanto, 2013; Ruswanto, 2015; Ruswanto, 2017).

Dinamika molekuler merupakan suatu metode simulasi dengan media komputer yang memungkinkan untuk merepresentasikan interaksi molekul-molekul atom dalam jangka waktu tertentu. Teknik ini berdasarkan pada persamaan hukum Newton dan hukum mekanika klasik. Dinamika molekuler mensimulasikan molekul-molekul yang saling menarik dan mendorong dan menabrak satu sama lain. Simulasi dinamika molekul memberikan informasi statik dan dinamik pada skala atomik, seperti posisi dan kecepatan. Informasi ini lalu dapat diolah menjadi informasi pada skala makroskopis seperti tekanan, suhu dan lain-lain. Dinamika molekul bersifat deterministik. Jika keadaan suatu materi diketahui pada waktu tertentu, maka keadaan materi tersebut pada waktu berbeda dapat ditentukan dengan sempurna (Allen, 2003). Simulasi dinamika molekuler dapat dilakukan menggunakan program seperti Amber dan Gromac.

Dan studi mengenai inhibisi aktivitas enzim dengan penambatan molekuler maupun

simulasi dinamika molekuler ini diharapkan dapat memberikan gambaran interaksi turunan benzimidazol sebagai inhibitor kolinesterase.

Tujuan penelitian ini untuk memperoleh gambaran dinamika molekul turunan benzimidazol dengan ligan hasil penambatan molekuler menggunakan simulasi dinamika molekuler.

METODOLOGI PENELITIAN

Perangkat Keras

Seperangkat komputer Processor Intel (R) Celeron (R) CPU N3350 @ 1.10GHz 1.10GHz, memory (RAM) 2 GB, 64-bit Operating System.

Perangkat Lunak

GROMACS, MarvinSketch, MMV, VMD, Grace

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan untuk *in silico* diantaranya reseptor *4BC1* yang didownload dari Protein Data Bank (PDB).

Persiapan berkas masukan

Dalam simulasi dinamika molekuler berkas masukan yang harus disiapkan meliputi persiapan makromolekul, ligan, serta topologi dan koordinat.

- a. Persiapan ligan dari hasil penambatan molekuler
- b. Pembuatan topologi dan koordinat
Topologi dan koordinat yang akan dibuat adalah: ligan, makromolekul, kompleks ligan-makromolekul dalam suasana vakum dan dalam pelarut air. Pada tahapan ini struktur ligan harus diberikan penambahan muatan AM1-BCC menggunakan piranti lunak Antechamber yang diakses melalui PuTTY. Diperoleh berkas keluaran .mol2 hasil dari antechamber harus dibuat berkas .frcmod. Setelah semua berkas disiapkan, pembuatan topologi dan koordinat dengan piranti lunak tLeap dapat dilakukan dengan pembuatan berkas leap.in terlebih dahulu. Pada tahap ini, diperlukan penambahan counter-ions (Ion Na⁺) untuk membuat sistem menjadi netral dan seluruh sistem dilarutkan

pada air TIP3P dengan kotak oktahedron dengan jarak kotak minimal 12 Å.

Minimisasi energi

Untuk memudahkan pengaturan dalam penyimpanan berkas hasil minimasi, ekuilibrasi dan produksi, maka harus dibuatkan folder pada masing-masing langkah. Berkas topologi dan koordinat yang digunakan adalah kompleks ligan-makromolekul dalam pelarut air. Minimisasi dilakukan dalam dua tahapan: tahap pertama merupakan minimisasi terhadap molekul air saja, dan tahap kedua merupakan minimisasi terhadap seluruh sistem yaitu ligan dan molekul air.

Ekuilibrasi

Tahap ekuilibrasi dilakukan dalam 3 tahapan. Pada tahapan pertama, dilakukan ekuilibrasi untuk membuat volume yang konstan dan menaikkan suhu dari 0o K menjadi 300o K. Ekuilibrasi tahapan kedua dan ketiga dilakukan untuk membuat seluruh sistem berada pada suhu dan tekanan yang konstan. Parameter untuk ekuilibrasi diatur pada berkas eq1.in, eq2.in dan eq3.in. Sebelum produksi dimulai, harus dilakukan pengecekan pada empat parameter yakni suhu, berat jenis, energi potensial dan RMSD (Root Mean Square Deviation) untuk mengetahui apakah sistem sudah siap untuk dilakukan produksi dinamika molekuler atau belum. Suhu, berat jenis dan energi potensial harus berada angka yang konstan, yakni 300o K untuk suhu, 1 gram/ml untuk berat jenis. Parameter suhu, berat jenis, dan energi potensial dapat dilihat pada berkas keluaran

.out. yang kemudian diekstrak menjadi berkas .dat dan dikonversi menjadi Microsoft Excel, kemudian masing-masing parameter dibuat plot terhadap waktu. Sedangkan parameter RMSD dilakukan dengan Ptraj terhadap proses hasil ekuilibrasi terakhir, produksi dapat dilakukan apabila kurva plot RMSD terhadap waktu menunjukkan nilai konstan.

Produksi

Berkas .rst hasil ekuilibrasi tahapan ketiga dijadikan sebagai restart file pertama untuk memulai produksi. Proses produksi dilakukan dengan piranti lunak sander yang dapat diakses dengan PuTTY. Untuk menjalankan produksi, diperlukan berkas run_md.x yang berfungsi menjalankan produksi secara otomatis selama 10 kali. Kemudian juga diperlukan berkas do.run untuk menjalankan berkas run_md.x dan membuat log file produksi.

Analisis

Analisis hasil simulasi dinamika molekuler yang berupa berkas keluaran dan berkas trajectory dilakukan dengan program ptraj dan VMD dari Gromacs Tools. Parameter yang akan dianalisis adalah fluktuasi energi potensial, RMSD (Root Mean Square Deviation), dan RMSF (Root Mean Square Fluctuation).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Simulasi dinamika molekuler benzimidazol dan ligan dilakukan dengan program gromacs. Simulasi dinamika molekuler dilakukan dengan beberapa tahapan yakni persiapan berkas masukan, pembuatan koordinat dan topologi ligan, minimisasi, ekuilibrasi, produksi, dan analisis.

Persiapan berkas masukan

Simulasi dinamika molekuler memerlukan berkas masukan yang harus disiapkan terlebih dahulu meliputi persiapan makromolekul dan molekul ligan. Ligan yang digunakan pada simulasi dinamika molekuler adalah dua konformasi turunan 4 benzimidazol yakni berdasarkan energi dan klaster terbaik sebagai senyawa ligan yang diuji.

Tahapan kedua adalah pembuatan topologi dan koordinat ligan, makromolekul, kompleks ligan-makromolekul dalam suasana vakum dan dalam pelarut air. Tahapan ini dilakukan agar simulasi berlangsung pada posisi yang tetap dan tidak ada perubahan struktur dari atom-atom backbone residu maupun ligan. Pada tahap ini juga dilakukan penambahan counter-ions (Ion Na⁺) untuk membuat

sistem menjadi netral dan seluruh sistem dilarutkan pada model air TIP3P dalam kotak oktahedron untuk mengefisienkan waktu simulasi dan jarak kotak minimal 12 Å yang merupakan jarak standar yang digunakan pada program ini.

Minimisasi energi

Tahapan ini dilakukan untuk merelaksasi sistem dan dilakukan dalam dua tahapan: tahap pertama merupakan minimisasi terhadap molekul air saja, dan tahap kedua merupakan minimisasi terhadap seluruh sistem yaitu ligan dan molekul air.

Ekuilibrasi

proses ekuilibrasi yang dilakukan untuk menstabilkan sistem sehingga keadaannya konstan sebelum dilakukan produksi. Tahap ekuilibrasi dilakukan dalam 3 tahapan. Pada tahapan pertama, dilakukan ekuilibrasi untuk membuat volume yang konstan dan menaikkan suhu dari 0 K menjadi 300 K. Ekuilibrasi tahapan kedua dan ketiga dilakukan untuk membuat seluruh sistem berada pada suhu dan tekanan yang konstan.

Produksi

Proses produksi menggunakan algoritma weak-coupling dapat dilakukan setelah keempat parameter suhu, energi potensial, RMSD, dan RMSF terpenuhi, ditunjukkan dengan nilai yang konstan.

Analisis hasil dinamika molekuler

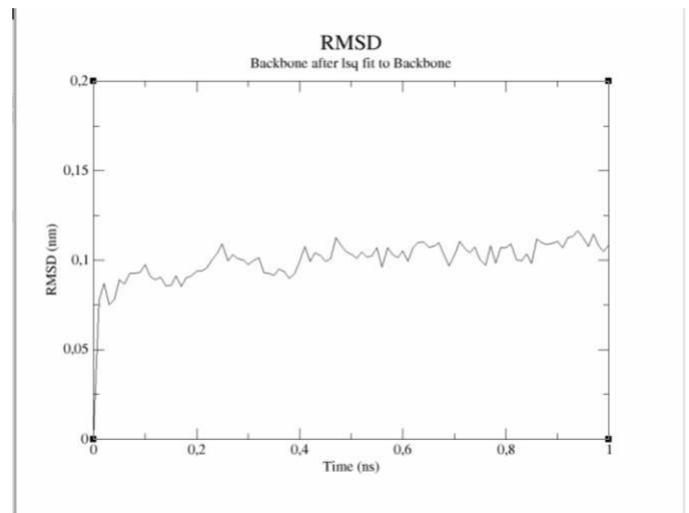
RMSD

RMSD (Root Mean Square Deviation) atau akar kuadrat rata-rata deviasi merupakan suatu ukuran yang sering digunakan dalam geometri 3D molekul untuk membandingkan perubahan atau pergeseran konformasi molekul. Nilai RMSD atom backbone protein dihitung mulai dari awal simulasi dan diplot dengan waktu seperti yang ditunjukkan pada (Gambar 1).

Peningkatan nilai RMSD menunjukkan bahwa struktur protein mulai terbuka dan ligan mulai mencari sisi ikatan atau kordinat yang sesuai pada protein tersebut, sedangkan nilai RMSD yang stabil menandakan bahwa konformasi maksimal protein terikat dengan *ligand* mulai tercapai

sehingga protein mampu mempertahankan posisinya. Selain itu, adanya interaksi antar residu membuat protein cenderung memperhatikan strukturnya.

Untuk menganalisis dinamika sistem, dilihat dari fluktuasi sistem versus waktu simulasi. RMSD memainkan peran penting stabilitas protein. Pada simulasi protein dan ligan, terjadi peningkatan nilai RMSD diawali sistem terlihat cukup stabil pada kisaran waktu 0,691912 ns sampai 0,853676 ns pada sumbu Y 0,109454.

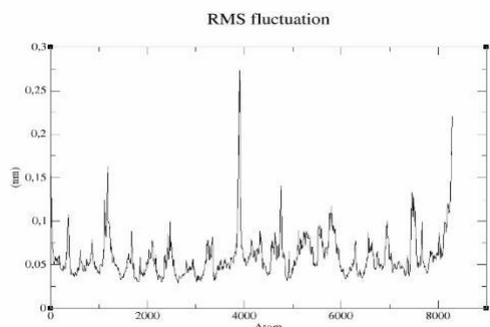


Gambar 1

RMSF

RMSF (Root Mean Square Fluctuation) atau akar kuadrat rata-rata fluktuasi adalah ukuran dari deviasi antara posisi partikel dan beberapa posisi referensi. Berbeda dengan RMSD, RMSF dihitung terhadap masing-masing residu penyusun protein yakni melihat sejauh mana fluktuasi pergerakan masing-masing residu selama simulasi berlangsung. Nilai RMSF menggambarkan pergeseran konformasi setiap residu asam amino yang memberikan fleksibilitas protein. Fluktuasi yang memiliki fleksibilitas tinggi dan tidak stabil adalah pada titik atom X: 3921,65 ; Y: 0,270422 nm karena paling banyak mengalami perubahan posisi saat simulasi dinamika berlangsung. Sehingga residu tersebut tidak berperan penting pada situs pengikatan terhadap reseptor. Pada titik

atom X: 2653,4 ; Y: 0,0281227 nm tidak memberikan fleksibilitas tinggi dan dapat dikatakan merupakan residu yang stabil berperan penting pada situs aktif pengikatan dengan reseptor (Gambar 2).



Gambar 2

KESIMPULAN

Dinamika molekuler merupakan suatu metode simulasi dengan media komputer yang memungkinkan untuk merepresentasikan interaksi molekulmolekul atom dalam jangka waktu tertentu. Teknik ini berdasarkan pada persamaan hukum newton dan hukum mekanika klasik.

Untuk menganalisis dinamika sistem, dilihat dari fluktuasi sistem versus waktu simulasi. RMSD memainkan peran penting stabilitas protein. Pada simulasi protein dan ligan, terjadi peningkatan nilai RMSD diawali sistem terlihat cukup stabil pada kisaran waktu 0,691912 ns sampai 0,853676 ns pada sumbu Y 0,109454. Nilai RMSF yang memiliki fleksibilitas tinggi dan tidak stabil adalah pada titik atom X: 3921,65 ; Y: 0,270422 nm karena paling banyak mengalami perubahan posisi saat simulasi dinamika berlangsung. Sehingga residu tersebut tidak berperan penting pada situs pengikatan terhadap reseptor. Pada titik atom X: 2653,4 ; Y: 0,0281227 nm tidak memberikan fleksibilitas tinggi dan dapat dikatakan merupakan residu yang stabil berperan penting pada situs aktif pengikatan dengan reseptor.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] K. Blennow, MJ de Leon, H. Zetterberg, penyakit Alzheimer, *Lancet* 368 (2006) 387-403.
- [2] BM McGleenon, KB Dynan, AP Passmore, inhibitor Acetylcholinesterase pada penyakit Alzheimer, *Br. J. Clin. Pharmacol.* 48 (4) (1999) 471-480 .
- [3] T. Mohamed, PPN Rao, penyakit Alzheimer: kecenderungan yang muncul dalam terapi molekul kecil, *Curr. Med. Chem.* 18 (28) (2011) 4299-4320 .
- [4] SB Dunnett, HC Fibiger, Peran sistem otak depan kolinergik dalam belajar dan memori: relevansi dengan CITS fi de kognitif penuaan dan demensia Alzheimer, *Prog. Otak Res.* 98 (1993) 413-420 .
- [5] M. Weinstock, peran Kemungkinan dari sistem kolinergik dan model penyakit, *J. Neural Transm. Suppl.* 49 (1997) 93-102 .
- [6] V. Pejchal, S. Stepankova, Z. Padelkova, A. Imramovsky, J. Jampilek, 1,3Substituted imidazolidine-2,4,5-Triones: sintesis dan penghambatan enzim kolinergik, *Molekul* 16 (2011) 7565-7582 .
- [7] M. Mader, A. de Dios, C. Shih, BD Anderson, imidazolil Benzimidazole dan imidazo [4,5- b] pyridines sebagai p38 ampuh Sebuah MAP kinase inhibitor dengan sangat baik . in vivo antiin fl sifat inflamasi, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 18 (2008) 179- 183 .
- [8] BE Evans, KE Rittle, MG Bock, RM Dipardo, RM Freidinger, WL Whitter, GF Lundell, DF Veber, S. Anderson, Metode untuk penemuan

- obat: pengembangan ampuh, selektif, antagonis cholecystokinin lisan yang efektif, *J. Med. Chem.* 42 (1988) 2235-2246 .
- [9] JR Kumar, J. Jawahar, DP Pathak, Sintesis turunan benzimidazole: sebagai agen anti-hipertensi, *E-Journal Chem.* 3. (2006) 278-285 .
Chem. 3 (13) (2006).278-285 .
- [10]G. Komazin, RG Ptak, BT Emmer, LB Townsend, JC Drach, Perlawanan dari cytomegalovirus manusia untuk D- dan Benzimidazole L-ribosyl sebagai alat untuk mengidentifikasi target potensial untuk obat antivirus, *Nukleosida, Nukleotida Asam Nukleat* 22 (2003) 1725- 1727.
- [11]M. Pieroni, SM Tipparaju, S. Lun, Y. Lagu, AW Sturm, WR Bishai, AP Kozikowski, Pyrido [1,2-a] berbasis benzimidazole-agen aktif terhadap tuberkulosis (TB), resisten (MDR) TB dan ekstensif drugresistant TB (XDR), *ChemMedChem* 6 (2011) 334-342 .
- [12]Allen, M. P. (2003). Introduction to Molecular Dynamics Simulation. *NIC Series*, 23, 1-28.
- [13]Ruswanto, Siswandono, Richa M, Tita N dan Tresna L., 2017, Molecular Docking of 1-Benzoyl-3-Methylthiourea as Anti Cancer Candidate and Its Absorption, Distribution, and Toxicity Prediction, *J. Pharm. Sci & Res.*, Vol. 9(5), pp. 680-684.
- [14]Ruswanto, Mardhiha, Mardianingrum, R., and Novitriani, K., 2015. Sintesis dan Studi In Silico Senyawa 3-Nitro-N'-[(Pyridin-4- Yl) Carbonyl] Benzohidrazide sebagai Kandidat Antituberkulosis, *Chimica et Natura Acta* 3(2), 54-61.
- [15]Ruswanto, Taufik H. (2013). Desain dan pemodelan molekul turunan 1,3-dibenzoil tiourea sebagai inhibitor chk1 secara in silico. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada.* 9, 14-21.
- [16]Ruswanto, R., Nofianti, T., Mardianingrum, R., and Lestari, T. , 2018, Desain dan Studi In Silico Senyawa Turunan Kuwanon-H sebagai Kandidat Obat Anti-HIV, . *J. Kim. Val.* 4, 57–66.
- [17]Ruswanto, Mardianingrum, R., Nofianti, T., and Rahayuningsih, N. , 2017, Synthesis and Molecular Docking of Isonicotinohydrazide Derivatives as Anti-tuberculosis Candidates, *Malaysian Journal of Fundamental and Applied Sciences*, Vol. 15(3): 367-371, DOI: <https://doi.org/10.11113/mjfas.v15n3.1030>