



Penambatan Molekul dan Dinamika Molekul beberapa Fitokimia dari *Acalypha Indica L.* sebagai Inhibitor Matriks Metalloproteinase⁹

(Molecular docking and molecular dynamics of selected phytochemical from *Acalypha Indica L.* as inhibitors of matrix metalloproteinase⁹)

Aiyi Asnawi^{*1}, Ellin Febrina², Widhya Aligita¹, Anne Yuliantini¹, & Arfan³

¹Fakultas Farmasi, Universitas Bhakti Kencana, Kota Bandung, Jawa Barat, Indonesia

²Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran, Sumedang, Jawa Barat, Indonesia

³Fakultas Farmasi, Universitas Halu Oleo, Kendari, Sulawesi Tenggara, Indonesia

ABSTRACT: Various pharmacological effects have been attributed to *Acalypha Indica L.*, a plant. Matrix metalloproteinases (MMPs) are an excellent example of the most important proteinases involved in metastatic cells. It has been linked to various illnesses, including those of the respiratory system, the autoimmune system, and even cancer. As a result, this paper aimed to obtain the lead compound from several phytochemicals from *Acalypha Indica L.* that were responsible for the migration of cells by using molecular docking and molecular dynamics. The ligand was successfully docked into the active site of the MMP9 crystal structure (PDB ID: 5UE4) by using AutoDock Release 4.2.6. The process for docking was validated by re-docking the native ligand in the active pocket of the MMP9. Utilizing the GROMACS, a molecular dynamics (MD) simulation was performed. Six of the ligands were able to bind to MMP9 more efficiently than the native ligand. In the MD simulation, S54 and S56 were the ligands with the highest negative energy stabilize complex, but Arg106 residue and gamma structure influenced S56's energy to be more stable. The γ -sitosterol acetate has the potential to serve as a lead compound for MMP9.

Keywords: *Acalypha indica L.*; cancer; docking; MD; MMP9.

ABSTRAK: Berbagai efek farmakologis telah dikaji terhadap ekstrak dan isolat dari *Acalypha Indica L.* terutama terkait dengan aktifitas anti kanker. Matrix metalloproteinases MMP9 merupakan contoh yang sangat baik dari kelompok proteinase terpenting yang terlibat dalam sel metastatic/kanker. MMP9 telah dikaitkan dengan berbagai macam penyakit, termasuk sistem pernapasan, sistem autoimun, dan bahkan kanker. Maka dari itu, makalah ini bertujuan untuk mendapatkan senyawa pemandu dari beberapa fitokimia *Acalypha Indica L.* yang bertanggung jawab dalam migrasi sel dengan menggunakan penambatan molekul dan dinamika molekul. Ligan ditambatkan ke situs aktif struktur kristal MMP9 (PDB ID: 5UE4) menggunakan aplikasi AutoDock Release 4.2.6. Proses penambatan molekul divalidasi dengan melakukan penambatan ulang ligan alami pada sisi aktif MMP9. Selanjutnya, menggunakan GROMACS dilakukan simulasi dinamika molekul (MD) ditandem dengan algoritma gmx_MMGBSA dan gmx_MMGBSA_ana untuk menghitung energi ikatan dan kontribusi residu terhadap terhadap kestabilan kompleks. Hasil menunjukkan hanya satu ligan dari 36 ligan yang dievaluasi tidak mampu berikatan dengan sisi aktif MMP9, dan enam dari ligan mampu mengikatnya lebih negatif daripada ligan alami. Kompleks dengan ligan S54 dan S56 yang memiliki energi paling negatif tetapi dari sisi parameter lainnya, kompleks S56 paling stabil. Dapat disimpulkan, γ -sitosterol asetat (S56) memiliki potensi untuk berfungsi sebagai senyawa pemandu untuk MMP9.

Kata kunci: *Acalypha indica L.*; kanker; penambatan molekul; MD; MMP9.

Pendahuluan

Kanker adalah penyakit yang berhubungan dengan metastasis, invasi jaringan, pertumbuhan tumor abnormal, remodeling jaringan, atau peradangan [1]. *Matrix metalloproteinases* (MMP) mencontohkan kelompok proteinase yang paling signifikan [2]. Hal ini berkaitan dengan berbagai penyakit, mulai dari gangguan pernafasan hingga gangguan autoimun dan bahkan kanker [3].

Sudah diketahui dengan baik bahwa MMP memiliki efek pada kemampuan metastatik kanker dan terlibat dalam sejumlah jalur pensinyalan. MMP terdiri dari lebih dari 20 protease, yang merupakan produk dari gen yang berbeda yang menunjukkan fungsi yang sedikit berbeda. Keluarga enzim MMPs ditentukan oleh ion Zn^{2+} di pusat katalitik, yang dikenal luas sebagai matriksin. Matriksin ini

Article history

Received: 09 Feb 2023
Accepted: 13 April 2023
Published: 30 April 2023

Access this article



***Corresponding Author:** Aiyi Asnawi

Fakultas Farmasi, Universitas Bhakti Kencana, Jl. Soekarno Hatta No. 754, Cibiru, Kota Bandung, Jawa Barat, 40161, | Email: aiyi.asnawi@bku.ac.id

memainkan fungsi unik dalam proses remodeling jaringan serta perkembangan organ. Karena MMP2 dan MMP9, juga dikenal sebagai gelatinase, sangat terkait dengan kualitas penyebaran kanker, masuk akal untuk berasumsi bahwa pengembangan inhibitor efektif MMP2 dan MMP9 harus menjadi salah satu fokus utama dalam pengobatan kanker [4].

Acalypha indica L. merupakan tumbuhan yang telah digunakan secara medis selama berabad-abad dan terkenal dengan potensi terapeutik yang dimilikinya. Telah digambarkan sebagai agen antioksidan dan sumber yang kaya anti-kanker adalah anggota keluarga Euphorbiaceae dan memiliki berbagai kualitas terapeutik lainnya seperti antijamur [5], anti-ulkus [6], asma dan bronkitis [7], dan stimulasi hormon spesifik [8]. Ekstrak metanol daun *Acalypha indica* L. telah menghasilkan tujuh senyawa cyanopyridone berbeda yang telah diidentifikasi. Biorobin, nicotiflorin, clitorin, dan mauritianin adalah beberapa glikosida kaempferol terkenal yang juga telah diidentifikasi. Ekstrak metanol dari bagian aerial *Acalypha indica* L. juga telah digunakan untuk mengisolasi glukosida sianogenik yang diberi nama acalyphein [9]. Meskipun telah banyak dilaporkan bahwa *Acalypha indica* L. memiliki aktivitas anti-inflamasi dan anti-kanker, fitokimia yang berperan penting dalam MMP9 belum pernah dilaporkan.

Senyawa kimia atau bahan alam dapat disebut sebagai senyawa pemandu jika memiliki aksi biologis terhadap target farmakologis. Tujuan optimalisasi pemandu adalah untuk meningkatkan jumlah interaksi, baik terikat maupun tidak terikat, dengan target farmakologis tertentu. Hal ini diidentifikasi secara umum menggunakan metode desain obat berbantuan computer [10]. Penambatan molekul adalah teknik desain obat berbantuan komputer untuk karakterisasi interaksi protein-ligan. Penambatan molekul lebih berfokus pada mode pengikatan ligan pada sisi aktif. Untuk mendapatkan informasi yang lebih detail, diperlukan studi dinamika molekul (MD) yang memberikan informasi tentang stabilitas kompleks ligan-protein. Meskipun analisis penambatan molekul dapat memberikan mode pengikatan yang dapat diterima, efek pelarut dan fleksibilitas protein tidak sepenuhnya menjadi pertimbangan. Oleh karena itu, simulasi MD dijalankan pada kompleks untuk mempelajari lebih lanjut tentang bagaimana ligan dan reseptor berinteraksi satu sama lainnya. Oleh karena itu, makalah ini bertujuan untuk menghasilkan fitokimia dari *Acalypha indica* L. dalam upaya mendapatkan senyawa pemandu sebagai inhibitor MMP9 yang memiliki fungsi esensial dalam proses migrasi sel. Memanfaatkan simulasi penambatan molekul dan simulasi MD, fitokimia tanaman ini diuji kemampuannya terhadap

struktur kristal dari protein MMP9.

Metode Penelitian

Piranti Keras

Workstation dilengkapi prosesor Intel® Xeon E5-2670 V2 yang berjalan pada 2,50 gigahertz dengan 20 inti dan 40 utas, dengan RAM 32 gigabyte dan sistem operasi ganda (Windows 10 Pro-64-bit dan Linux Ubuntu 18.04 64-bit).

Penambatan Molekul

Fitokimia dari *Acalypha indica* L. disebut dengan ligan ditambatkan ke situs aktif struktur kristal MMP9 (PDB ID: 5UE4) menggunakan aplikasi AutoDock Release 4.2.6 [11]. Untuk preparasi struktur kristal protein untuk penambatan molekul, perlu penghapusan molekul air serta heteroatom lainnya. File koordinat ini dibuat dalam format khusus untuk file koordinat yang disebut PDBQT, yang digunakan oleh AutoDock. Format ini mencakup informasi tentang atom hidrogen polar, muatan parsial, jenis atom, dan informasi tentang artikulasi modul fleksibel. Grid box pra-perhitungan memanfaatkan jarak titik kisi standar, dengan nilai default 0,375 angstrom. Beberapa pencarian dilakukan untuk menyelidiki keadaan konformasi ligan secara fleksibel, memanfaatkan peta yang dihasilkan oleh AutoGrid untuk menemukan interaksi ligan-protein di setiap titik dalam simulasi docking. Struktur tiga dimensi fitokimia dari *Acalypha indica* L. yang telah dilaporkan diunduh dari database NCBI pubchem [12]. Discovery Studio Visualizer (DSV) versi 21.1.0.20298 dan AutoDockTools versi 1.5.6 digunakan untuk memasukkan atom hidrogen polar ke dalam struktur ligan. Di akhir simulasi docking, AutoDock menambahkan koordinat untuk setiap konformasi docking, dan informasi tentang pengelompokan serta energi interaksi, ke file log docking. Proses penambatan molekul divalidasi dengan melakukan penambatan ulang ligan alami pada sisi aktif. Hal ini dilakukan agar posisi ligan alami dapat digunakan sebagai referensi. Postur terbaik (*best pose*) dipilih untuk konformer yang menempati posisi pertama dalam grup yang memiliki anggota terbanyak. DSV digunakan sehingga interaksi dua dan tiga dimensi antara ligan dan MMP9 agar dapat dipahami dengan lebih baik.

Dinamika Molekul

MD dilakukan dengan menggunakan GROMACS [13] alat pada koordinat kompleks MMP9-ligan. Medan gaya ff14SB digunakan untuk simulasi, dan model air TIP3P diterapkan untuk melengkapi sistem. Selanjutnya

dengan menggunakan Python dan Acypye [14], medan gaya GAFF dan muatan AM1-BCC digunakan saat menetapkan parameter dan topologi untuk ligan. Untuk menyiapkan model, digunakan kotak simulasi kubik dengan jarak buffer satu mikron. Ion lawan, seperti Na^+ dan Cl^- , dimasukkan ke dalam sistem sampai kondisi netral (untuk detailnya, lihat Asnawi et al. 2022) [15]. Tahapan terakhir menggunakan algoritma gmx_MMGBSA dan gmx_MMGBSA_ana untuk menghitung energi ikatan dan kontribusi residu terhadap energi ikatan dalam kompleks [16,17].

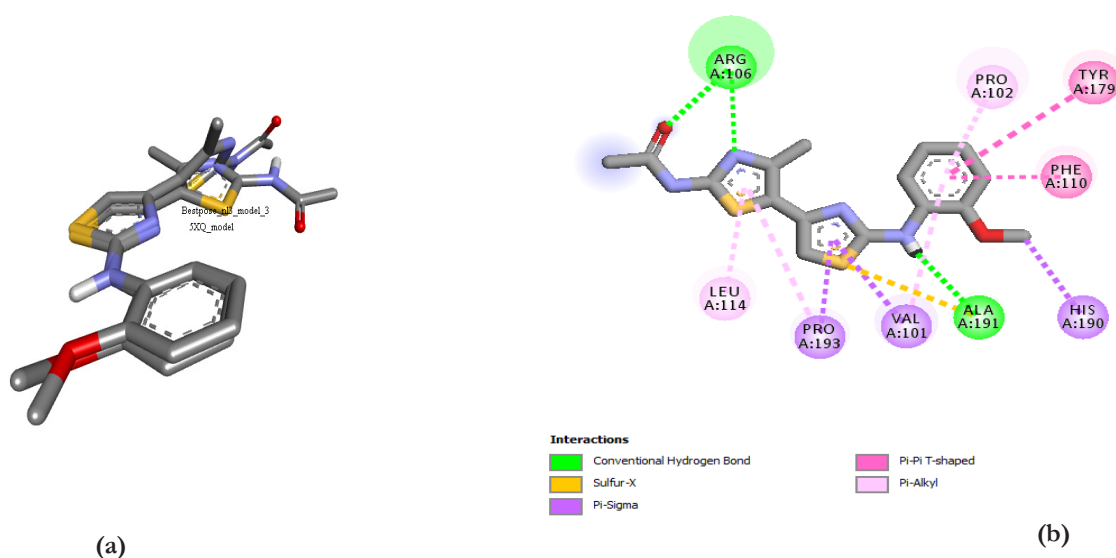
Hasil dan Diskusi

Penambatan molekul digunakan untuk memprediksi nilai mengenai hubungan pengikatan yang akan dimiliki antara ligan dan reseptor. Interaksi yang dipertimbangkan untuk prediksi ini meliputi interaksi konformasi, ikatan hidrogen, hidrofobik, dan elektrostatik. Untuk memulai, teknik penambatan molekul perlu divalidasi dengan melakukan penambatan ulang ligan alami (ID: 5XQ) ke dalam reseptornya (PDB ID: 5UE4). Jika diperoleh hasil penambatan ulang menawarkan pola interaksi dari best pose yang sama dengan pola interaksi struktur kristal tiga dimensinya, maka teknik docking dapat dikatakan telah berhasil tervalidasi. Deviasi kuadrat rata-rata akar, atau RMSD, antara struktur penambatan ulang dan kristal 5XQ (Gambar. 1a) adalah 1,92 Å, yang dapat diterima karena kurang dari 2. Jika deviasi akar-mean-kuadrat (RMSD)

dari tumpang tindih pose dari ligan alami (sebelum dan sesudah redocking) kurang dari 2,0 Å, kualitas teknik docking dapat digunakan [18]. Hasil penambatan ulang menunjukkan energi bebas pengikatan dan konstanta penghambatan 5XQ dengan menggunakan ukuran Grid box pada 55, 45, dan 40 dan pusat Grid box pada 43.912, 64.908, dan 39.675. Nilai-nilai ini diperkirakan berturut-turut adalah -7,82 kkal/mol dan 1,84 μM . Model optimasi (pose terbaik) untuk ligan alami ini melibatkan pembentukan tiga ikatan hidrogen dengan residu asam amino Arg106 dan Ala191. Selain itu, pose terbaik ini menampilkan tiga interaksi Pi-Sigma dengan atom Val101, His190, dan Pro193, serta dua interaksi Pi-Pi berbentuk T dengan atom Phe110 dan Tyr179, dan tiga interaksi Pi-Alkyl dengan atom Pro102, Leu114, dan Pro193 (Gambar. 1b). Ada beberapa kesamaan penting antara pola interaksi pose terbaik dan struktur kristal tiga dimensi.

Fitokimia *Acalypha indica* L. yang telah di publikasikan sebelumnya adalah yang digunakan sebagai ligan uji [15]. Hanya satu ligan (β -Sitosterol β -D-glukosida) dari 36 ligan yang diuji tidak mampu berinteraksi dengan sisi aktif MMP9, dan enam ligan mampu mengikat sisi aktif lebih efektif daripada ligan alami. Keenam ligan dengan kemampuan membentuk ikatan ditunjukkan dengan kode S49, S50, S54, S56, dan S57, dan masing-masing energi ikatan bebasnya diperkirakan sebesar berturut-turut adalah -9,03, -9,09, -9,81, -9,62, dan -9,25 kkal/mol (Tabel 1).

Pola interaksi dengan residu asam amino dari masing-masing ligan ini memiliki polayang mirip. Ditemukan satu



Gambar 1. Ilustrasi grafis proses penambatan ulang ligan alami dengan protein yang berinteraksi dengannya. Struktur tumpang tindih hasil penambatan ulang dan struktur kristal sinar-X 3D ligan alami (5XQ) dari protein 5UE4 (a), dan interaksi 2D dari ligan alami 5XQ dalam sisi pengikat protein 5UE4 (b)

Tabel 1. Analisis energi ikatan dan konstanta inhibisi dari fitokimia dari *Acalypha indica* L. dalam sisi pengikat MMP9 (PDB ID 5UE4)

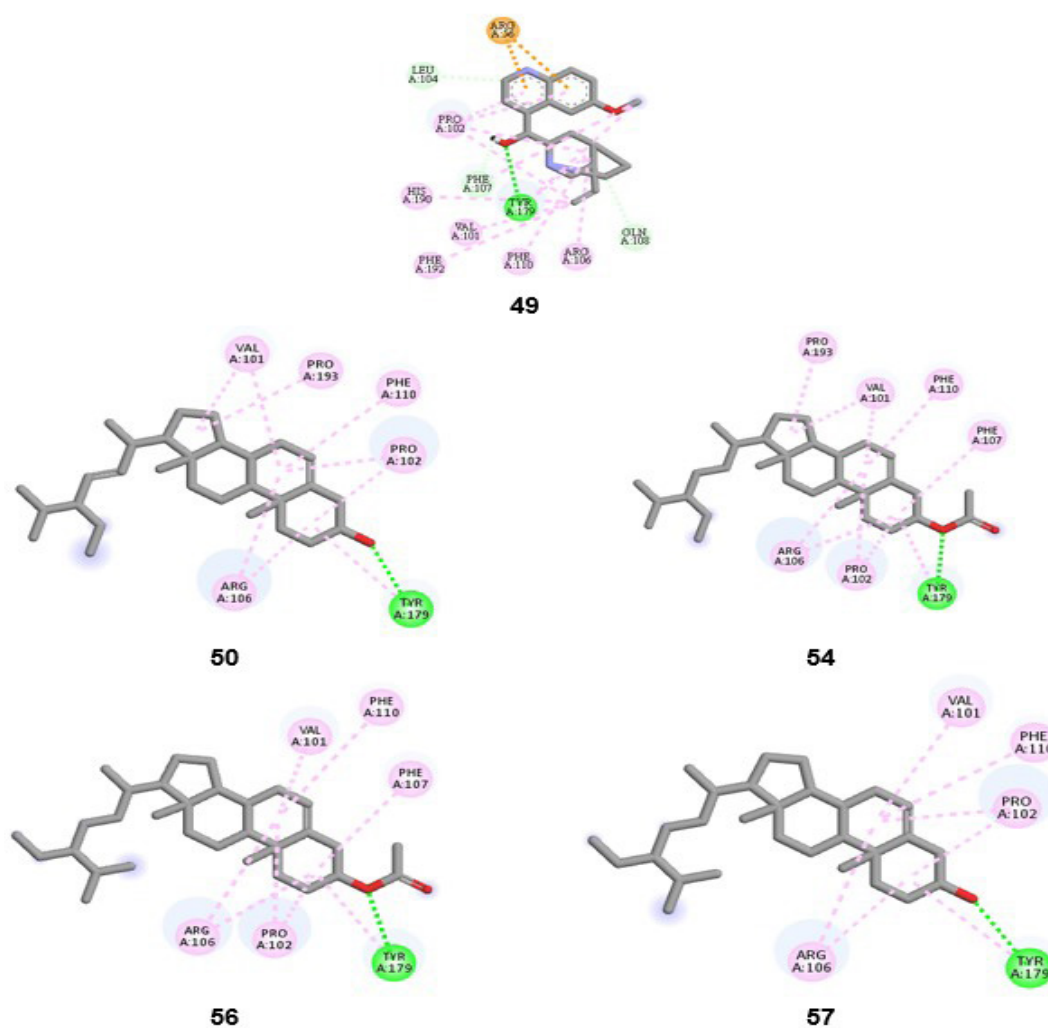
Kode	Ligan	Energi bebas ikatan (ΔG), (kcal/mol)	Konstanta inhibisi (Ki), μM
NL	~{N}-[5-[2-[(2-methoxyphenyl)amino]-1,3-thiazol-4-yl]-4-methyl-1,3-thiazol-2-yl] ethanamide, (ID: 5XQ)	-7,82	1,84
S23	1,3-dioxolane,4-ethyl-5-octyl-2,2-bis (trifluoromethyl)-, trans-	-5,44	103,15
S24	2-methyl anthraquinone	-7,56	2,88
S25	3,8-Nonadien-2-one, E	-5,49	93,93
S26	4,4',5,5',6,6' hexahydroxy diphenic acid	-7,17	5,58
S27	4-Amino-3-methoxypyrazolo[3,4-d] pyrimidine	-4,67	379,02
S28	Acaindinin	-3,80	1,630
S29	Acalyphin amide	-5,62	76,52
S30	Aurantiamide	-6,49	17,61
S31	Caffeic acid	-6,51	16,92
S32	Catechol	-4,45	549,60
S33	Chrysin	-7,35	4,10
S34	Corilagin	-3,39	3,300
S35	Ellagic acid	-7,31	4,36
S36	Ferulic acid	-6,38	20,92
S37	Galangin	-7,02	7,14
S38	Gallic acid	-4,47	526,80
S39	Geranin	-4,50	498,66
S40	Glucogallin	-7,52	3,09
S41	Hesperetin	-7,48	3,31
S42	Hexamethylcyclotrisiloxane	-7,30	4,49
S43	Kaempferol	-6,94	8,21
S44	Naringenin	-7,33	4,21
S45	Naringin	-5,16	164,58
S46	Nicotiflorin	-4,77	316,69
S47	Quebrachitol	-3,40	3,230
S48	Quercetin	-6,72	11,80
S49	Quinine	-9,03*	0,24028
S50	Stigmasterol	-9,09*	0,21712
S51	Syringic acid	-4,85	276,80
S52	Tectoquinone	-7,56	2,88
S53	Tri-O-methylellagic acid	-7,47	3,36
S54	β-sitosterol acetate	-9,81*	0,064,34
S55	β-Sitosterol β-D-glucoside	+3,66e+004**	
S56	γ-Sitosterol acetate	-9,62*	0,08807
S57	γ-sitosterol	-9,25*	0,16464

ikatan hidrogen antara S49 dan residu asam amino Tyr179. Selain itu, ligan ini memiliki enam interaksi Pi-Alkyl yang berbeda dengan residu Val101, Pro102, Arg106, Phe110, Leu114, His190, dan Phe192.

S50 membentuk satu ikatan hidrogen dengan residu triptofan (asam amino) 179. Selain itu, ligan ini memiliki lima interaksi Pi-Alkyl yang berbeda dengan residu Val101, Pro102, Arg106, dan Phe110, serta Pro193. S54 membentuk satu ikatan hidrogen dengan residu triptofan, yang merupakan asam amino. Selain itu, ligan ini memiliki enam interaksi Pi-Alkyl dengan residu Val101, Pro102, Arg106, Phe107, dan Phe110, serta Pro193. S56 membentuk satu ikatan hidrogen dengan residu triptofan (asam amino) 179. Selain itu, ligan ini memiliki lima interaksi Pi-Alkyl yang berbeda dengan residu Val101, Pro102, Arg106, Phe107, dan Phe110. S57 membentuk satu ikatan hidrogen dengan residu triptofan, yang berasal dari asam amino. Selain itu,

ligan ini memiliki empat interaksi Pi-Alkyl, dan masing-masing dengan residu Val101, Pro102, Arg106, dan Phe110 ([Gambar 2](#)). Selanjutnya, kami menggunakan simulasi dinamika molekul untuk menentukan kapasitas kelima ligan ini untuk berpartisipasi dalam pembentukan kompleks. Pengukuran RMSD, RMSF, MMGBSA, dan komponen energi diperiksa sebagai bagian dari parameter yang diamati.

Kami melakukan simulasi dinamika molekul (MD) untuk mengidentifikasi ligan yang paling efektif dalam hal kemampuannya untuk menstabilkan kompleks MMP9. Simulasi MD dilakukan dengan bantuan GROMACS 2019.6. Untuk mengevaluasi stabilitas kompleks ligan 5UE4, nilai RMSD, RMSF, dan MMGBSA dipantau selama 100 ns. Selain itu, kontribusi residu terhadap energi ikatan kompleks juga dianalisis. Medan gaya Amber yang ditemukan dalam paket GROMACS digunakan untuk



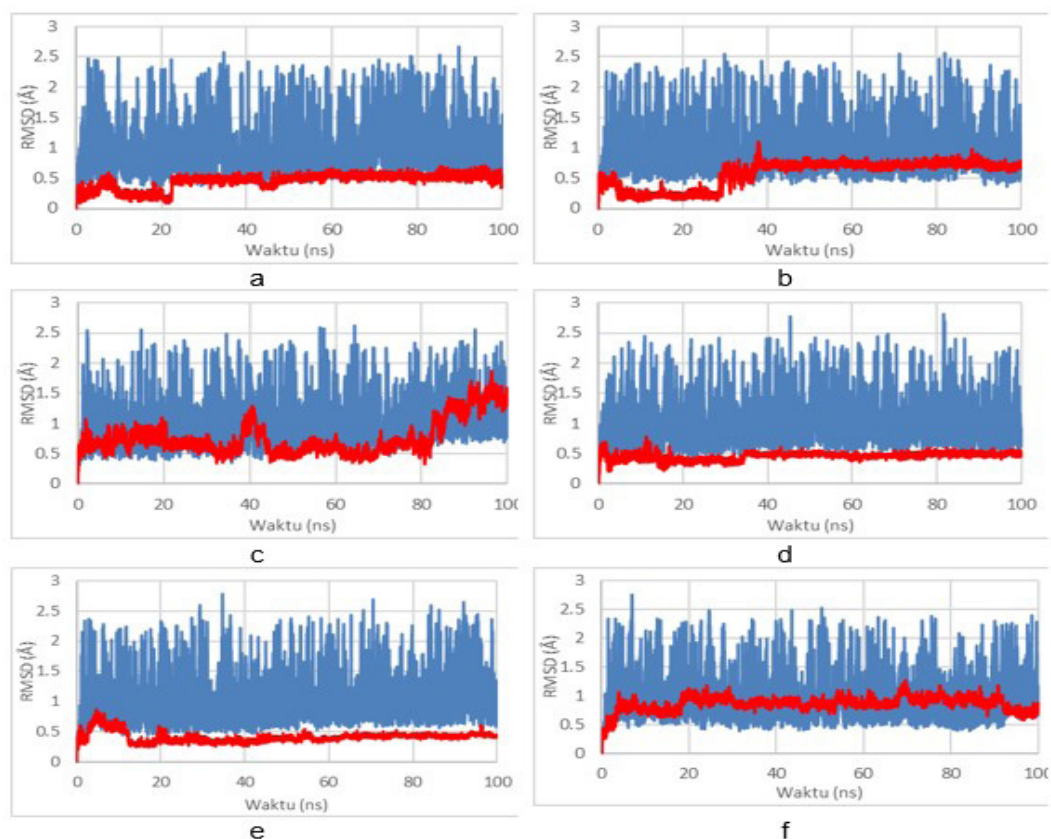
Gambar 2. Visualisasi interaksi antara ligan dan sisi pengikat protein dari protein 5UE4. Ligan dimodelkan sebagai tongkat dalam representasi ini

membangun topologi dan mengoordinasikan file untuk protein. File struktur dan topologi awal untuk setiap kompleks dibuat dengan menggabungkan data koordinat dan topologi protein dengan data ligan.

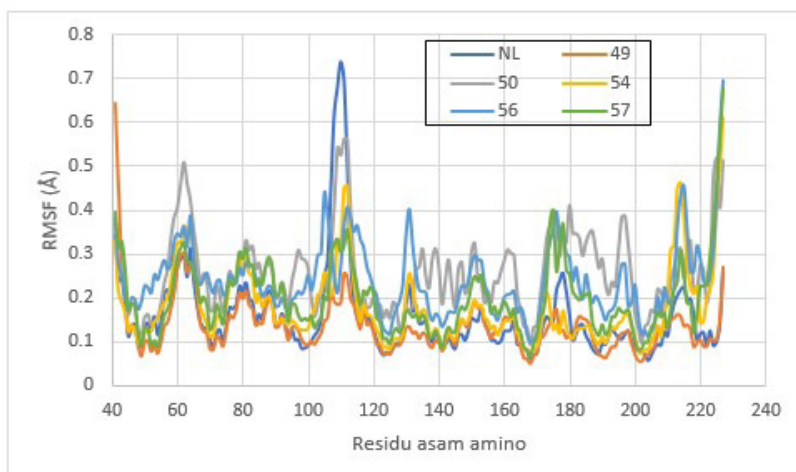
Nilai RMSD dari atom tulang punggung yang mengacu pada struktur alami ligan 5UE4 kompleks digunakan sehingga penyimpangan dalam lintasan MD dapat dipantau. RMSD adalah jenis metrik kesamaan yang sering digunakan dalam penelitian struktur dan dinamika makromolekul. Hingga 20 nanodetik ke dalam percobaan, kompleks 5UE4-5XQ menunjukkan standar deviasi relatif kurang dari 5 Å. Setelah itu, RMSD ligan ini berfluktuasi disekitar 0,5 Å selama periode waktu 20–100 ns ([Gambar. 3a](#)).

Hingga 30 nanodetik ke dalam percobaan, kompleks 5UE4-S49 berfluktuasi dengan deviasi rata-rata akar kuadrat kurang dari 5 Å. Selain itu, antara 30 dan 40 ns, ligan ini memperlihatkan RMSD yang berkisar antara 0,5 hingga 1,0 Å. Selain itu, RMSD ligan ini bervariasi antara 40 dan 100 ns hingga sekitar 0,65 Å ([Gambar. 3b](#)). Hingga 45 ns, kompleks 5UE4-S50 dengan deviasi

root-mean-square 1,0-1,5 Å. Setelah itu, RMSD ligan ini berkisar antara 0,50 dan 0,65 Å dari 45 hingga 80 nanodetik. Selanjutnya, RMSD ligan ini bervariasi dari yang rendah 0,65 Å hingga tinggi 1,72 Å antara 80 dan 100 nanodetik ([Gambar. 3c](#)). Hingga 13 ns, kompleks 5UE4-S56 berfluktuasi dengan deviasi kuadrat akar rata-rata 0,3-0,8 Å. Setelah itu, RMSD ligan ini berkisar antara 0,25-0,45 Å selama rentang waktu 13–100 ns ([Gambar. 3d](#)). Rentang nilai RMSD dalam kompleks 5UE4 -S54 dari 0 hingga 100 ns, dengan nilai berkisar antara 0,36 hingga 0,47 Å ([Gambar. 3e](#)). Hingga 4,2 nanodetik, kompleks 5UE4-S57 menunjukkan fluktuasi dengan standar deviasi relatif (RMSD) kurang dari 0,63 Å. Selanjutnya, RMSD ligan ini bervariasi antara 0,9 dan 1,2 Å selama rentang waktu 4,2 hingga 93 ns. Dan pada rentang antara 93 dan 100 ns, ligan ini menunjukkan fluktuasi dengan RMSD sekitar 0,67 Å ([Gambar. 3f](#)). Secara keseluruhan, semua ligan uji dan protein menunjukkan fluktuasi dengan nilai RMSD masing-masing kurang dari 2,0 Å dan kurang dari 5,0 Å, menunjukkan bahwa ligan mampu menstabilkan MMP9 pada rentang 100 ns selama percobaan simulasi.



Gambar 3. Deviasi kuadrat rata-rata relatif (RMSD) dari 5XQ (a), S49 (b), S50 (c), S54 (d), S56 (e) dan S57 (f) dalam kompleks dengan struktur kristal MMP9. Pergerakan ligan ditunjukkan oleh warna merah, sedangkan biru mewakili pergerakan protein MMP9



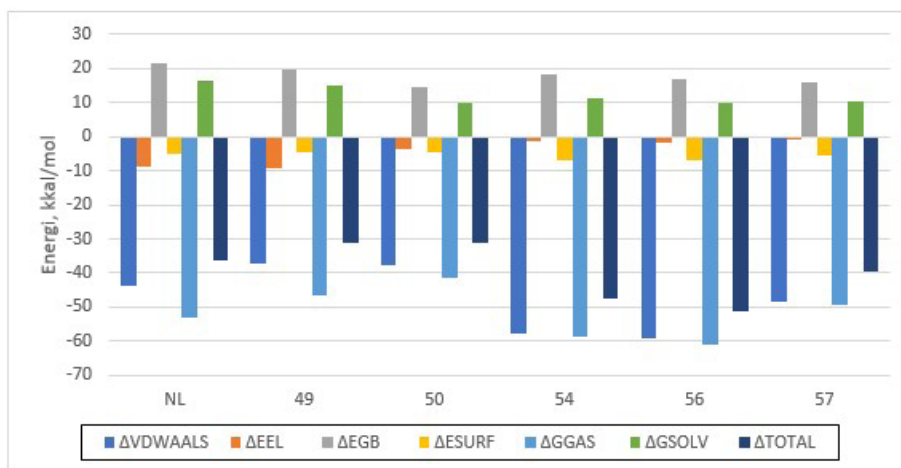
Gambar 4. Plot RMSF untuk berbagai residu asam amino saling tumpang tindih

Kompleks 5UE4-S50 adalah kompleks dengan tingkat stabilitas struktural terendah di antara enam kompleks ini.

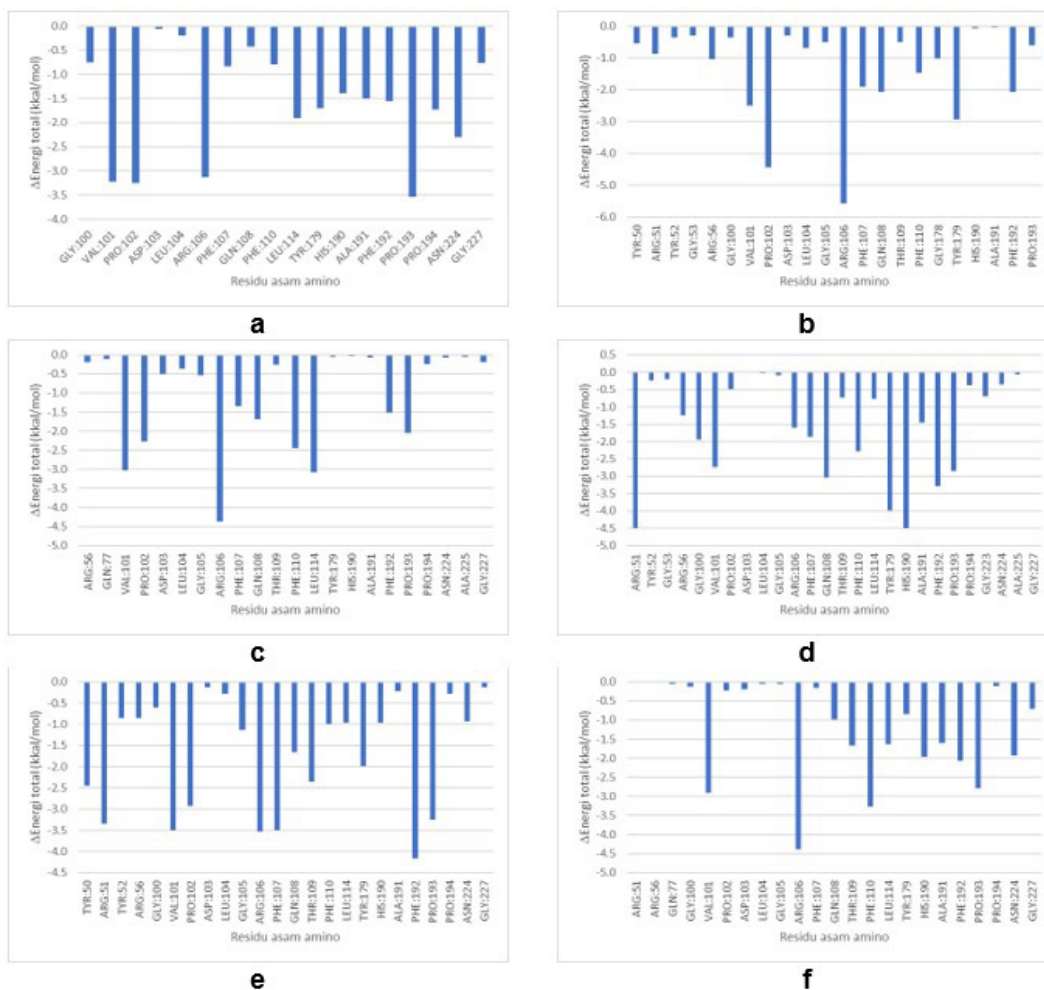
Fluktuasi root-mean-square (RMSF) adalah metrik yang menentukan jarak partikel tertentu (seperti residu protein) menjauh dari posisi referensinya selama waktu tertentu (biasanya posisi rata-rata waktu partikel). Oleh karena itu, RMSF memeriksa komponen struktur yang menyimpang paling banyak (atau paling sedikit) dari struktur rata-ratanya. Dalam jarak 5 Å dari ligannya masing-masing, residu asam amino Val101, Pro102, Leu104, Arg106, Phe107, Phe110, Tyr179, His190, Phe192, dan Pro193 diidentifikasi berkontribusi pada pembentukan kompleks (Gambar. 2). Jumlah penyimpangan Phe110 dari kompleks 5UE4-NL, 5UE4-S50, 5UE4-S54, dan 5UE4-S57 sedikit bervariasi, seperti yang ditunjukkan oleh nilai RMSF masing-masing berturut-turut sebesar 0,7391, 0,5239, 0,3206, dan 0,3049 Å. Sedangkan kuantitas

kompleks 5UE4-S49 berubah secara signifikan di dekat Phe107 (RMSF = 0,2142 Å). Di sisi lain, RMSF untuk kompleks 5UE4-S56 berkisar sedikit lebih tinggi dari 0,2738 Å pada Arg106. Secara khusus, RMSFs untuk Tyr179, yang bertanggung jawab untuk pembentukan ikatan hidrogen, adalah sebagai berikut untuk kompleks 5UE4-NL, 5UE4-S49, 5UE4-S50, 5UE4-S54, dan 5UE4-S57 : 0,2167, 0,1085, 0,3254, 0,135, dan 0,3017 Å. Fluktuasi tinggi terlihat, secara rata-rata, pada posisi Arg106, Phe107, dan Phe110 (Gambar. 4).

Kami menggunakan metode MM-GBSA untuk menentukan energi bebas ikatan dari kekuatan interaksi kompleks 5UE4-ligan uji. Untuk memperkirakan energi bebas ligan menjadi makromolekul, energi mekanika molekuler yang dikombinasikan dengan Poisson-Boltzmann atau Generalized Born dan solvasi kontinum luas permukaan (MM/PBSA dan MM/GBSA) adalah



Gambar 5. Energi ikatan total dari kompleks dan komponennya



Gambar 6. Jumlah energi yang disumbangkan masing-masing residu asam amino terhadap energi ikatan keseluruhan 5XQ (a), S49 (b), S50 (c), S54 (d), S56 (e) dan S57 (f)

pendekatan yang populer. Metode ini telah berhasil digunakan dalam berbagai sistem [19]. Energi ikatan MMPBSA dari lintasan GROMACS dapat dihitung dengan bantuan program `gmx_mmpbsa`, dan juga dapat digunakan untuk melakukan dekomposisi energi. Berdasarkan MMPBSA.py AMBER, `gmx_MMPBSA` adalah alat baru yang dibuat agar data GROMACS dapat digunakan untuk menghitung energi bebas keadaan akhir.

Temuan perhitungan energi total MMGBSA kompleks menunjukkan, secara umum, bahwa komponen energi interaksi antarmolekul (ΔG_{GAS}) lebih berpengaruh daripada energi bebas solvasi (ΔG_{SOLV}). Energi van der Waals ($\Delta E_{VDWAALS}$) dan elektrostatik (ΔE_{EEL}). Dimana kompleks 5UE4-S54 dan 5UE4-S56 lebih negatif daripada kompleks 5UE4-S49, 5UE4-S50, dan 5UE4-S57, serta kompleks NL (Gambar 5). Hal ini menunjukkan bahwa kompleks ini memiliki interaksi antarmolekul yang lebih kuat. Sehingga ligan S54 dan S56 dapat memiliki ikatan yang lebih kuat dengan reseptor dibandingkan dengan

ligan S49, S50, S57, dan NL. Oleh karena itu, terlepas dari kenyataan bahwa semua ligan uji membentuk ikatan hidrogen dengan Tyr179, ligan S54 dan S56 membentuk ikatan hidrogen sebagai akseptor proton atom O dalam bentuk $-O-$, sedangkan ligan lainnya dimana atom O dalam bentuk $-OH$ bentuk, bertindak sebagai donor proton. Sangat menarik untuk dicatat bahwa energi intramolekul kompleks 5UE4-S56 lebih negatif daripada energi kompleks 5UE4-S54. Ini menunjukkan bahwa, dibandingkan dengan konfigurasi beta, konfigurasi gamma memiliki dampak yang jauh lebih signifikan pada bagaimana protein berinteraksi dengannya (Gambar 2).

Penyelidikan mekanika molekuler dan penciptaan ligan aktif baru dapat memperoleh manfaat besar dari pemahaman interaksi makromolekul, seperti antara protein (termasuk interaksi protein-peptida), protein dan DNA, serta protein dan RNA. Untuk mencapai tujuan ini, MM/PB(GB)SA telah digunakan secara ekstensif untuk meramalkan interaksi ini. Metode-metode ini, khususnya,

dianggap sebagai strategi yang paling efektif untuk memprediksi interaksi antara makromolekul ini karena evaluasi energi dekomposisi dan potensi penerapan mutasi titik tunggal secara *in silico* [20].

Berdasarkan kontribusi residu Tyr179 terhadap energi ikatan kompleks, dapat disimpulkan bahwa ligan S49, S54, dan S56 masing-masing memiliki energi berturut-turut sebesar -2,928, -3,985, dan -1,989 kkal/mol, dimana yang lebih negatif daripada energi ligan alami. Selain itu, hal ini menunjukkan bahwa ikatan hidrogen antara S54 dan ligan lainnya adalah yang terkuat dari semuanya. Di sisi lain, dengan pengecualian kompleks S54, residu Arg106 berdampak besar pada semua energi ikatan kompleks lainnya, serta energi ikatan residu Tyr179. Hal ini memiliki hubungan yang signifikan dengan energi keseluruhan dari S54, yang sebanding tetapi agak lebih rendah dari S56 (lihat Gambar 6).

Menurut hasil analisis RMSD dan RMSF, semua ligan mampu menstabilkan kompleks; namun, estimasi komponen energi mengungkapkan bahwa ligan S54 dan S56 memiliki jumlah energi negatif terbesar. Di sisi lain, residu Arg106 dan struktur gamma berdampak signifikan pada jumlah total energi yang dimiliki kompleks 5UE4-S56.

Kesimpulan

Kesimpulannya, lima ligan memiliki energi yang lebih negatif dari ligan alami 5XQ dalam hal kemampuannya untuk berinteraksi dengan protein MMP9 (PDB ID 5UE4). Namun, penelitian lanjutan berdasarkan kajian dinamika molekul menunjukkan bahwa ligan S56 (β -sitosterol β -D-glukosida) memiliki potensi sebagai senyawa pemandu untuk MMP9.

Referensi

- [1]. NHS. Chemotherapy - NHS [Internet]. 2020 [cited 2022 Feb 13]. Available from: <https://www.nhs.uk/conditions/chemotherapy/#:~:text=Chemotherapy is a cancer treatment,and spreading in the body>
- [2]. Singh D, Srivastava SK, Chaudhuri TK, Upadhyay G. Multifaceted role of matrix metalloproteinases (MMPs). *Front Mol Biosci*. 2015;2(MAY):19. <https://doi.org/10.3389/FMOLB.2015.00019/BIBTEX>
- [3]. Dufour A, Overall CM. Missing the target: matrix metalloproteinase antitargets in inflammation and cancer. *Trends Pharmacol Sci*. 2013;34(4):233–42. <https://doi.org/10.1016/J.TIPS.2013.02.004>
- [4]. Zhang J, Wang S, He Y, Yao B, Zhang Y. Regulation of matrix metalloproteinases 2 and 9 in corneal neovascularization. *Chem Biol Drug Des*. 2020;95(5):485–92. <https://doi.org/10.1111/CBDD.13529>

- [5]. Sakthi SS, Geetha M, Saranraj P. PHARMACOLOGICAL SCREENING OF *Datura metel* AND *Acalypha indica* FOR ITS ANTIFUNGAL ACTIVITY AGAINST PATHOGENIC FUNGI. *Int J Pharm Sci Heal care*. 2011;1(2):15–30.
- [6]. Kalimuthu S, Rajesh P, Kannan VR, Balamurugan B, Chandrasekar TM. Antiulcer activity of Methanolic extract of *Acalypha indica* Linn. (Euphorbiaceae) by Pylorus Ligation and Swim Stress Induced Ulceration. *J Pharm Res*. 2010;3(11):2779–83.
- [7]. Sundararaman P, Djerassi C. A convenient synthesis of progesterone from stigmaterol. *J Org Chem*. 2002;42(22):3633–4. <https://doi.org/10.1021/JO00442A044>
- [8]. Gupta S, Bandopadhyay A. Overcoming seed dormancy of *Acalypha indica* L.(Euphorbiaceae): An important medicinal plant. *Indian J Plant Sci*. 2013;2(1):72–9.
- [9]. Syahiran N, Mohamed R, Idayu I, Zahidin NS, Saidin S, Zulkifli RM, et al. review of *Acalypha indica* L.(Euphorbiaceae) as traditional medicinal plant and its therapeutic potential. *J Ethnopharmacol*. 2017;207:146–73. <https://doi.org/10.1016/J.JEP.2017.06.019>
- [10]. Chen X, Ung CY, Chen Y. Can an *in silico* drug-target search method be used to probe potential mechanisms of medicinal plant ingredients? *Nat Prod Rep*. 2003;20(4):432–44. <https://doi.org/10.1039/B303745B>
- [11]. Bitencourt-Ferreira G, Pintro VO, de Azevedo WF. Docking with AutoDock4. In: *Methods in Molecular Biology*. Humana, New York, NY; 2019. p. 125–48. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9752-7_9
- [12]. NCBI Nc. PubChem Compound Database. *Natl Cent Biotechnol Inf*. 2018;
- [13]. Kohnke B, Kutzner C, Grubmüller H, Grubmüller H. A GPU-accelerated Fast Multipole Method for GROMACS: performance and accuracy. *J Chem Theory Comput*. 2020;16(11):6938–49. <https://doi.org/10.1021/ACS.JCTC.0C00744>
- [14]. Bernardi A, Faller R, Reith D, Kirschner KN. ACPYPE update for nonuniform 1–4 scale factors: Conversion of the GLYCAM06 force field from AMBER to GROMACS. *SoftwareX*. 2019;10:100241. <https://doi.org/10.1016/J.SOFTX.2019.100241>
- [15]. Asnawi A, Aman LO, Nursamsiar, Yuliantini A, Febrina E. MOLECULAR DOCKING AND MOLECULAR DYNAMIC STUDIES: SCREENING PHYTOCHEMICALS OF *Acalypha indica* AGAINST BRAF KINASE RECEPTORS FOR POTENTIAL USE IN MELANOCYTIC TUMOURS. *Rasayan J Chem*. 2022;15(2):1352–61. <https://doi.org/10.31788/RJC.2022.1526769>
- [16]. Valdés-Tresanco MES, Valdés-Tresanco MES, Valiente PA, Moreno E. Gmx_MMPBSA: A New Tool to Perform End-State Free Energy Calculations with GROMACS. *J Chem Theory Comput*. 2021;17(10):6281–91. <https://doi.org/10.1021/acs.jctc.1c00645>
- [17]. Ischak NI, Ode LA, Hasan H, Kilo A La, Asnawi A. *In silico* screening of *Andrographis paniculata* secondary metabolites as anti-diabetes mellitus through PDE9 inhibition. *Res Pharm Sci*. 2023;18(1):100. <https://doi.org/10.4103/1735-5362.363619>
- [18]. Mukherjee S, Balias TE, Rizzo RC. Docking Validation Resources: Protein Family and Ligand Flexibility Experiments. *J Chem Inf Model*. 2010;50(11):1986–2000. <https://doi.org/10.1021/CI1001982>
- [19]. Genheden S, Ryde U. The MM/PBSA and MM/GBSA methods to estimate ligand-binding affinities. *Expert Opin Drug Discov*. 2015;10(5):449–61. <https://doi.org/10.1517/17460441.2015.1032936>
- [20]. Tuccinardi T. What is the current value of MM/PBSA and MM/GBSA methods in drug discovery?. Vol. 16, *Expert Opinion on Drug Discovery*. Taylor & Francis; 2021. p. 1233–7. <https://doi.org/10.1080/17460441.2021.1942836>.



Copyright © 2023 The author(s). You are free to share (copy and redistribute the material in any medium or format) and adapt (remix, transform, and build upon the material for any purpose, even commercially) under the following terms: Attribution — You must give appropriate credit, provide a link to the license, and indicate if changes were made. You may do so in any reasonable manner, but not in any way that suggests the licensor endorses you or your use; ShareAlike — If you remix, transform, or build upon the material, you must distribute your contributions under the same license as the original (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>)