



## POTENSI SENYAWA BAIKALEIN SEBAGAI INHIBITOR *TUMOR NECROSIS FACTOR ALPHA CONVERTING ENZYME* (TACE) MELALUI MOLECULAR DOCKING

### *THE POTENCY OF BAICALEIN AS TUMOR NECROSIS FACTOR ALPHA CONVERTING ENZYME (TACE) INHIBITOR BY MOLECULAR DOCKING*

I Putu Rizki Karisma Parta Wiratama\*, I Putu Ari Anggara Catur Pratama

Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana, Bali.

#### ABSTRAK

**Pendahuluan:** Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) berperan dalam beberapa penyakit seperti penyakit jantung, dan metabolik termasuk gagal jantung, hipertensi, arterosklerosis, stroke, infeksi paru, diabetes melitus dan pelepasan sitokin tidak terkontrol pada infeksi SARS-CoV-2. Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  Coverting Enzyme (TACE) berperan dalam pemotongan tmTNF- $\alpha$  dan melepas sTNF- $\alpha$  yang memberi sinyal melalui TNFR1 dan TNFR2 sehingga penghambatan TACE berpotensi sebagai pendekatan terapi beberapa penyakit tersebut. **Tujuan:** Untuk mengetahui potensi baikalein dalam penghambatan TACE melalui pendekatan *in silico molecular docking*. **Metode:** Penelitian ini meliputi beberapa tahapan yaitu preparasi protein, optimasi struktur 3 dimensi baikalein, validasi *molecular docking* dan *docking* baikalein. **Hasil:** Metode *docking* dinyatakan valid dengan nilai RMSD 0,61. Nilai energi ikatan hasil *docking* baikalein (-8,46 kkal/mol) lebih negatif dibandingkan *native ligand* Q283 (-7,86 kkal/mol). baikalein berinteraksi dengan TACE melalui ikatan hidrogen pada residu asam amino yang sama dengan *native ligand* Q283 (LEU348 dan GLY349). **Kesimpulan:** Baikalein berinteraksi lebih kuat pada situs ikatan yang sama dengan *native ligand* sehingga secara *molecular docking* senyawa baikalein berpotensi dalam menghambat TACE.

**Kata Kunci:** Baikalein, *Molecular Docking*, TACE

#### ABSTRACT

**Introduction:** Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  plays a role in several diseases such as heart disease, and includes heart failure, hypertension, atherosclerosis, stroke, pulmonary infections, diabetes mellitus and uncontrolled cytokines in SARS-CoV-2 infection. Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  Converting Enzyme (TACE) plays role in cutting tmTNF- $\alpha$  and releasing sTNF- $\alpha$ . TACE that give signal through TNFR1 and TNFR 2 so inhibition may be a potential therapeutic approach for several related diseases. **Objective:** To determine the potential of Baicalein in inhibiting TACE through a *silico molecular docking* approach. **Method:** This research includes several steps, namely protein preparation, optimization of the Baicalein 3-dimensional structure, validation of *molecular docking* and *docking* Baicalein. **Result:** The *docking* method is declared valid with RMSD value of 0.61. The bond energy value obtained from *docking* of Baicalein (-8,46 kcal/mol) more negative than the *native ligand* Q283 (-7,86 kcal/mol). Baicalein interacts with TACE via hydrogen at the same amino acid residue as the *native ligand* Q283 (LEU348 and GLY349). **Conclusion:** Baicalein interacts more strongly at the same site as the *native ligand*, so that Baicalein can inhibit TACE through *in silico molecular docking* approach.

**Keywords:** Baicalein, *Molecular Docking*, TACE

Alamat Korespondensi:

I Putu Rizki Karisma Parta Wiratama: Universitas Udayana, Jalan Raya Kampus Unud Jimbaran, Kec. Kuta Selatan, Kab. Badung, Bali, Indonesia, 80361. HP: 081237613709. Rizkikarisma10@yahoo.com

## PENDAHULUAN

Tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ) merupakan salah satu sitokin pro-inflamasi yang paling banyak dikarakterisasi. TNF- $\alpha$  ada dalam dua bentuk, yang pertama yaitu dalam bentuk prekursor dan yang kedua adalah bentuk tersekresi setelah modifikasi oleh enzim (1). Peningkatan jumlah mediator inflamasi ini pada sistem saraf perifer berkaitan erat dengan penyebab beberapa penyakit seperti penyakit jantung, serebrovaskular, dan metabolik termasuk gagal jantung, hipertensi, arterosklerosis, stroke, infeksi paru dan diabetes melitus. Selain itu TNF- $\alpha$  juga berperan dalam terjadinya pelepasan sitokin pro-inflamasi yang tidak terkontrol pada kasus infeksi SARS-CoV-2 (2). Oleh karena itu, pendekatan terapi pada beberapa penyakit tersebut dapat dilakukan dengan mengontrol pelepasan TNF- $\alpha$ .

TNF- $\alpha$  disintesis di dalam sel dalam bentuk prekursor atau dalam bentuk transmembrannya. TNF- $\alpha$  harus diproses dulu oleh TNF- $\alpha$  Converting Enzyme (TACE) menjadi bentuk aktifnya yang dikenal dengan nama sTNF- $\alpha$  untuk kemudian dapat memberikan sinyal melalui ikatan dengan reseptor TNFR1 dan TNFR2

(3). TACE merupakan protein terikat membran yang bertanggung jawab atas pelepasan ektodomain berbagai protein transmembran seperti sitokin, kemokin dan faktor pertumbuhan serta reseptornya (4). TACE berperan memotong bentuk transmembran TNF- $\alpha$  (tmTNF- $\alpha$ ) melalui pemotongan sehingga menjadi sTNF- $\alpha$  yang dikenal dengan ectodomain shedding (5). Penghambatan TACE secara tidak langsung akan dapat menghambat pelepasan sTNF- $\alpha$  sehingga berpotensi untuk menjadi target terapi terhadap penyakit terkait.

Flavonoid merupakan salah satu golongan senyawa metabolit sekunder yang memiliki potensi terhadap berbagai aktivitas biologis seperti antioksidan, hepatoprotektif, antibakteri, anti-inflamasi, antikanker, dan antivirus (6). Baikalein merupakan salah satu senyawa golongan flavonoid yang berpotensi memiliki aktivitas biologis. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi senyawa baikalein sebagai penghambat TACE melalui pendekatan *in silico molecular docking*.

## METODE

### Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di

laboratorium Kimia Farmasi Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana. Penelitian dilaksanakan pada bulan Desember 2021 hingga Februari 2022

#### **Alat**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu laptop ASUS dengan spesifikasi Windows 10 64 bit RAM 4 GB. Laptop dilengkapi dengan program Openbabel GUI, Hyperchem 8, Chimera 1.10.1 serta Autodock Tools.

#### **Bahan**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah struktur 3 dimensi protein Tumor Necrosis Factor Alpha Converting Enzyme (TACE) dengan PDB ID : 2OI0 (7).

#### **Sampel**

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah struktur 3 dimensi dari senyawa baikalein (8).

### **Tahapan/Jalannya Penelitian**

#### **Preparasi Protein**

Protein TACE yang digunakan dalam penelitian (7) yang mengandung *native ligand* (3s)-1-[[4-(but-2-yn-1-yloxy)phenyl]sulfonyl] pyrrolidine-3-athiol (ID: Q283). Protein TACE kemudian dipreparasi dengan

memisahkan protein dari *native ligand*-nya menggunakan program Chimera 1.10.1.

#### **Optimasi Struktur 3 Dimensi Senyawa Baikalein**

Struktur tiga dimensi baikalein (8) Struktur tiga dimensi dioptimasi menggunakan program Hyperchem 8. Optimasi dilakukan dengan menggunakan metode komputasi semi empiris AM1 (Austin Model 1), kemudian dilakukan perhitungan *single point* dan optimasi geometri.

#### **Validasi Metode Molecular Docking**

Validasi metode molecular docking dilakukan dengan melakukan *redocking native ligand* Q283 ke protein TACE menggunakan Autodock 4.2. Ukuran grid box diatur dan disesuaikan dengan  $x = 30$ ,  $y = 30$ ,  $z = 30$ ; grid center  $x = 44.438$ ,  $y = 27.972$ ,  $z = 2.215$ . Protokol *molecular docking* dinyatakan valid dengan nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD) 3.0 (9).

#### **Docking Senyawa Baikalein pada Protein Target TACE**

Struktur 3d baikalien yang telah dioptimasi kemudian di-*docking*-kan pada protein TACE menggunakan Autodock 4.2 dengan ukuran *grid box* dan *grid center* yang sama dengan

tahap validasi (10). Hasil *docking* adalah energi ikatan dan visualisasi interaksi. Semakin rendah energi ikatan maka interaksi yang terbentuk semakin kuat yang menunjukkan potensi senyawa tersebut sebagai inhibitor TACE (11).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Pemisahan *native ligand* Q283 dari protein TACE dilakukan pada tahap preparasi protein dengan tujuan menyediakan situs pengikatan untuk proses *docking* serta untuk mendapatkan *native ligand* Q283 yang digunakan untuk validasi metode *docking*. *Native ligand* Q283 dan TACE yang dipreparasi dapat dilihat pada Gambar 1. Optimasi struktur 3D senyawa baikalein dilakukan untuk mendapatkan struktur 3D baikalein yang paling stabil dengan energi total yang paling rendah. Total energi yang dihasilkan dari perhitungan *single point* baikalein adalah -3053,45 kkal/mol dan menurun menjadi -3510,08 kkal/mol setelah dilakukan optimasi geometri (Gambar 2) yang menunjukkan bahwa struktur yang diperoleh stabil.

Validasi metode *molecular docking* dilakukan dengan redocking *native ligand* Q283 pada protein TACE.

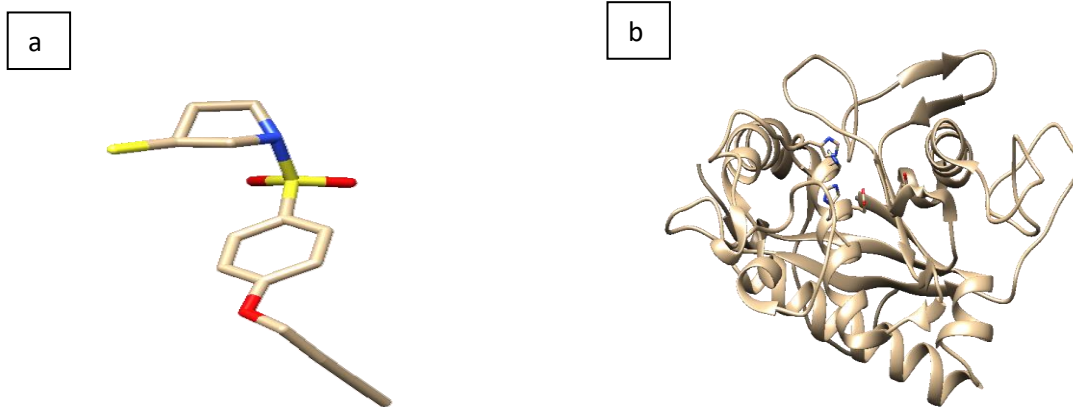
Proses validasi menghasilkan 10 konformasi dengan nilai RMSD dan energi ikatan yang berbeda. Konformasi 1 memiliki nilai RMSD terendah yaitu sebesar 0,61 (Tabel 1) menunjukkan metode *docking* yang valid.

Struktur baikalein yang sudah dioptimasi di-*docking*-kan pada protein TACE menggunakan ukuran grid box dan grid center yang sama seperti proses validasi untuk memastikan senyawa tersebut di-*docking*-kan di situs pengikatan. Proses *docking* menghasilkan sepuluh dan dipilih konformasi terbaik dengan energi ikatan terendah. Konformasi dengan energi ikatan terendah adalah konformasi 10 dengan nilai energi ikatan sebesar -8,46 kkal/mol (Tabel 2). Analisis visualisasi menunjukkan bahwa baikalein berinteraksi dengan TACE melalui ikatan hidrogen melalui residu asam amino LEU348 dan GLY349 (Gambar 3). Hasil penelitian kami menunjukkan bahwa baikalein memiliki afinitas ikatan yang lebih rendah (-8,46 kkal/mol) dibandingkan *native ligand* Q283 (-7,86 kkal/mol) (Tabel 4). *Native ligand* Q283 dan senyawa baikalein memiliki interaksi yang sama melalui ikatan hidrogen dengan residu asam amino LEU384 dan GLY349.

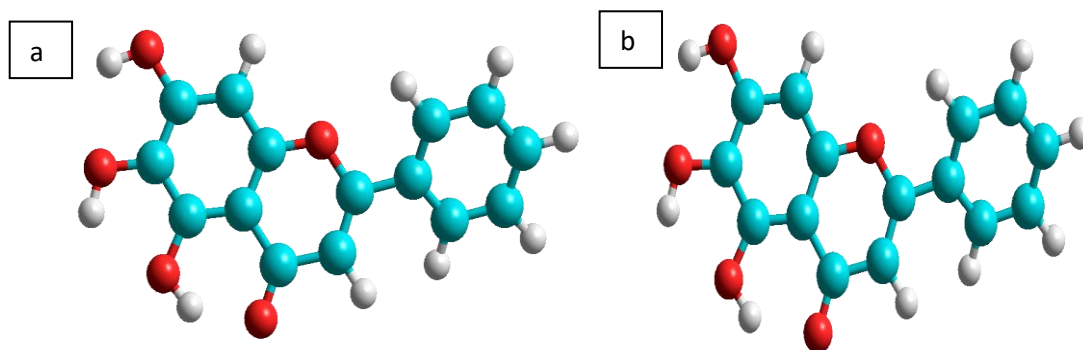
Hasil ini menunjukkan bahwa baikalein merapat di situs aktif yang sama dengan Q283 pada protein target TACE.

Studi docking molekuler *in silico* pada TACE dengan PDB ID yang berbeda (PDB ID: 3KME) dilakukan dengan menggunakan beberapa senyawa yang berbeda oleh Awaluddin et al., 2017. Senyawa sejenis dengan baikalein (quercetin dan catechin)

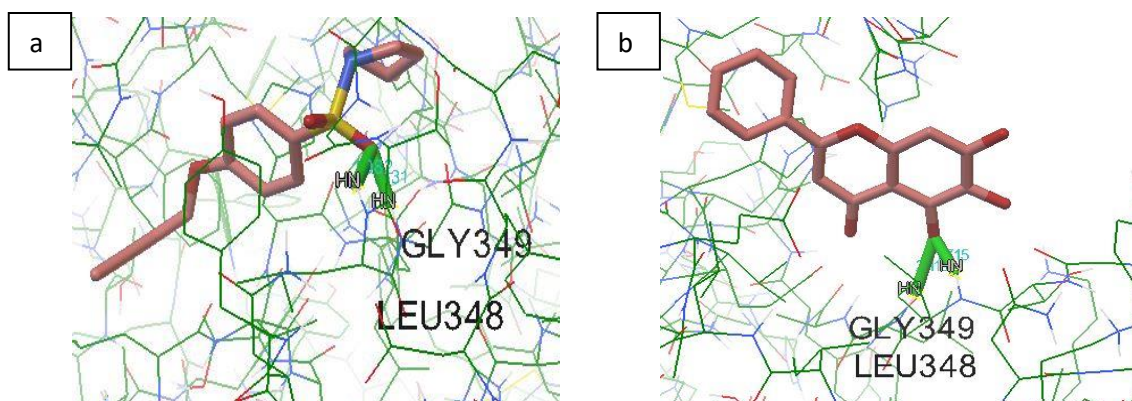
menunjukkan afinitas terhadap TACE sebesar 133.544 kkal/mol dan -128,925 kkal/mol (12). Penelitian tersebut mendukung adanya afinitas antara senyawa baikalein dengan protein TACE. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, senyawa baikalein memiliki potensi dalam penghambatan enzim TACE berdasarkan pendekatan *in silico molecular docking*.



**Gambar 1. Hasil Preparasi Protein (a) Makromolekul TACE (b) Native Ligand Q283**



**Gambar 2. Hasil Optimasi Geometri Struktur 3D Senyawa Baikalein (a) Single Point Calculation (b) Optimasi Geometri**



**Gambar 3. Hasil Visualisasi Molecular Docking pada TACE (a) Native Ligand Q283 (b) Senyawa Baikalein**

**Tabel 1. Hasil Redocking Q283 pada TACE**

Protein	Ligand	Conformation	Bonding Energy (kcal/mol)	RMSD (Å)	Amino Acid Residue	Groups in Hydrogen Bonds
TACE	Q283	1*	-7,86	0,61	LEU348 GLY349	HN-O2 HN-O2
		2	-7,96	0,87	LEU348 GLY349	HN-O1 HN-O2
		3	-8,03	0,71	LEU348 GLY349	HN-O2 HN-O2
		4	-8,02	0,71	LEU348 GLY349	HN-O1, O2 HN-O2
		5	-8,11	0,80	LEU348 GLY349	HN-O1, O2 HN-O2
		6	-8,09	0,69	LEU348 GLY349	HN-O1, O2 HN-O2
		7	-8,02	0,70	LEU348 GLY349	HN-O2 HN-O2
		8	-8,11	0,76	LEU348 GLY349	HN-O2 HN-O2
		9	-7,95	0,77	LEU348 GLY349	HN-O1, O2 HN-O2
		10	-8,06	0,71	LEU348 GLY349	HN-O1, O2 HN-O2

**Keterangan:** Hasil validasi metode dengan mendockingkan kembali native ligand Q283 pada TACE, konformasi 1 merupakan konformasi terbaik dengan nilai RMSD 0,51 Å.

Tabel 2. Hasil Molecular Docking Senyawa Baikalein pada TACE

Protein	Ligand	Conformation	Bonding Energy (kcal/mol)	Amino Acid Residue	Groups in Hydrogen Bonds
TACE	Baikalein	1	-8,46	LEU348 GLY349	HN-O HN-O
		2	-8,45	LEU348 GLY349	HN-O HN-O
		3	-8,46	LEU348 GLY349	HN-O HN-O
		4	-8,45	LEU348 GLY349	HN-O HN-O
		5	-8,45	LEU348 GLY349	HN-O HN-O
		6	-8,45	LEU348 GLY349	HN-O HN-O
		7	-8,46	LEU348 GLY349	HN-O HN-O
		8	-8,46	LEU348 GLY349	HN-O HN-O
		9	-7,46	LEU348 GLY349	HN-O HN-O
		10*	-8,46	LEU348 GLY349	HN-O HN-O

**Keterangan:** Hasil docking senyawa baikalein pada protein TACE diperoleh konformasi 10 dengan energi ikatan yang paling negatif, menandakan konformasi 10 memiliki energi ikatan yang paling kuat dengan protein TACE.

Tabel 3. Perbandingan Hasil Molecular Docking Q283 dan Baikalein pada TACE

Protein	Ligand	Bonding Energy (kcal/mol)	Amino Acid Residue	Groups in Hydrogen Bonds
TACE	Q283	-7,86	LEU348	HN-O2
			GLY349	HN-O2
	Baikalein	-8,46	LEU348	HN-O
			GLY349	HN-O

**Keterangan:** Perbandingan hasil docking native ligand Q283 dengan baikalein pada protein TACE menunjukkan baikalein memiliki energi ikatan lebih negatif dibandingkan native ligand dan berikatan pada residu asam amino yang sama menunjukkan baikalein memiliki potensi dalam menghambat TACE.

## KESIMPULAN

Senyawa baikalein (energi ikatan – 8,46 kkal/mol) memiliki afinitas yang lebih baik terhadap TACE dibandingkan dengan *native ligand* Q283 (energi ikatan -7,86 kkal/mol) serta berinteraksi melalui ikatan hidrogen dengan residu yang sama dengan *native ligand* Q283. Hal ini menunjukkan baikalein memiliki potensi sebagai pendekatan terapi melalui penghambatan TACE. Diharapkan kedepannya dapat dilakukan penelitian lebih lanjut baik secara *in vitro* maupun *in vivo* terkait aktivitas senyawa baikalein dalam penghambatan TACE.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada laboran dan dosen Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana atas segala dukungan dan bimbingannya dalam pelaksanaan penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Grabarek B, Bednarczyk M, Mazurek U. The Characterization of Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- $\alpha$ ), its Role in Cancerogenesis and Cardiovascular System Diseases and Possibilities of Using this Cytokine as a Molecular Marker. *Acta Univ Lodz Folia Biol Oecologica*. 2017;13(1):1–8.
2. Li X, Geng M, Peng Y, Meng L, Lu S. Molecular Immune Pathogenesis and Diagnosis of Covid-19. *J Pharm Anal*. 2020;10(2):102–8.
3. Jang DI, Lee AH, Shin HY, Song HR, Park JH, Kang TB, et al. The Role of Tumor Necrosis Factor Alpha (Tnf- $\alpha$ ) in Autoimmune Disease and Current Tnf- $\alpha$  Inhibitors in Therapeutics. *Int J Mol Sci*. 2021;22(5):1–16.
4. Chemaly M, McGilligan V, Gibson M, Clauss M, Watterson S, Alexander HD, et al. Role of Tumour Necrosis Factor Alpha Converting Enzyme (TACE/ADAM17) and Associated Proteins in Coronary Artery Disease and Cardiac Events. *Arch Cardiovasc Dis*. 2017;110(12):700–11.
5. Yu Y, Cao Y, Bell B, Chen X, Weiss RM, Felder RB, et al. Brain Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  Converting Enzyme Contributes



- to Sympathetic Excitation in Heart Failure Rats. *Physiol Behav.* 2019;74(1):63–72.
6. Kumar S, Pandey AK. Review Article Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. *Nutraceuticals Heal Care.* 2013;2013(1):1–16.
  7. Wei Y, Rao GB, Bandarage UK. Crystal Structure Analysis of the TNF- $\alpha$  Converting Enzyme (TACE) in Complexed with Aryl-sulfonamide [Internet]. *rcsb.org*. 2007 [cited 2021 Dec 1]. Available from: <https://www.rcsb.org/structure/2oi0>
  8. National Center for Biotechnology Information. Baicalein [Internet]. *PubChem Compound Summary for CID 5281605*. 2022 [cited 2021 Dec 1]. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5281605>
  9. Cahyani NKN, Putri WNE, Dwivayana IKD, Mirayanti NPD, Laksmiani NPL. In Silico Study of Lutein as Anti-HER-2 Receptors in Breast Cancer Treatment. *Pharm Reports.* 2021;1(1):17.
  10. Dewi NKDP, Suryadewi KD, Fitriari DM, Andini KL, Laksmiani NPL. Molecular Docking of Gallic Acid as Anti-Photoaging in Silico. *Pharm Reports.* 2021;1(2):18.
  11. Du X, Li Y, Xia YL, Ai SM, Liang J, Sang P, et al. Insights Into Protein – Ligand Interactions: Mechanisms, Models, and Methods. *Int J Mol Sci.* 2016;17(2):1–34.
  12. Awaluddin R, Muhtadi WK, Chabib L, Ikawati Z, Martien R, Ismail H. Molecular Docking and ADME-Toxicity Studies of Potential Compounds of Medicinal Plants Grown in Indonesia as an Anti-Rheumatoid Arthritis. *AIP Conf Proc.* 2017;1823(2017).