

## Studi *In Silico* Gadolinium(III)-Diethylene Triamine Pentaacetic Acid-Folat Dan Modifikasinya Terhadap Reseptor Folat Sebagai Senyawa Pengontras Untuk Deteksi Kanker

Muhammad Yusuf<sup>1,2</sup>, Bayu Shiddiq Widhi Pratama<sup>1</sup>, Umi Baroroh<sup>2,3</sup>, Shabarni Ghaffar<sup>1</sup>, Ukun MS Soedjanaatmadja<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjadjaran, Jalan Raya Bandung – Sumedang km. 21, Sumedang 45363, Jawa Barat

<sup>2</sup>Pusat Riset Bioteknologi Molekular dan Bioinformatika, Universitas Padjadjaran, Jalan Singaperbangsa No. 2, Bandung 40133, Jawa Barat

<sup>3</sup>Departemen Bioteknologi Farmasi, Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia, Jalan Soekarno-Hatta No. 354 (Parakan Resik 1), Bandung 40266, Jawa Barat

\*Penulis korespondensi: [ukun@unpad.ac.id](mailto:ukun@unpad.ac.id)

DOI: <https://doi.org/10.24198/cna.v9.n3.36035>

**Abstrak:** Tumor ganas atau kanker merupakan salah satu masalah utama kesehatan di dunia. Pendeteksian dini sel kanker dengan menggunakan *Magnetic Resonance Imaging* (MRI) memungkinkan penanganan yang lebih baik. Pemilihan senyawa kontras yang tepat dapat meningkatkan akurasi diagnosa terhadap penyakit kanker. Sel kanker banyak mengekspresikan reseptor folat  $\alpha$  yang mampu mengikat asam folat dalam tubuh. Penambahan asam folat ke dalam senyawa pengontras Gadolinium (III)-diethylene triamine pentaacetic acid (Gd-DTPA) berguna untuk meningkatkan spesifisitas diagnostik sel kanker. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui interaksi senyawa pengontras dengan molekul target reseptor folat  $\alpha$  dengan penambatan molekul dan simulasi dinamika molekul (MD). Struktur Gd-DTPA-folat dimodelkan dari struktur kristal Gd-DTPA dan folat. Hasil penambatan molekul dan simulasi MD menunjukkan interaksi Gd-DTPA-folat menurunkan afinitas folat terhadap reseptornya. Hasil perhitungan energi reseptor folat dengan folat dan Gd-DTPA-folat pada simulasi MD masing-masing  $-47,65$  kkal/mol dan  $-43,78$  kkal/mol. Modifikasi dilakukan pada struktur asam folat dengan penambahan gugus formil dan diuji kembali dengan penambatan molekul dan simulasi MD. Hasil simulasi menunjukkan bahwa modifikasi berpengaruh terhadap peningkatan afinitas folat dengan reseptor folat  $\alpha$  melalui interaksi elektrostatis, dengan energi yang dihasilkan pada penambatan molekul dan MD masing-masing sebesar  $-7,04$  kkal/mol dan  $-60,04$  kkal/mol. Hasil penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat untuk menghasilkan senyawa pengontras yang spesifik terhadap sel kanker.

**Kata kunci:** asam folat, Gd-DTPA, reseptor folat, senyawa pengontras, penambatan molekul, simulasi dinamika molekul

**Abstract:** Malignant tumors or cancer are a major health problem in the world. Early detection using magnetic resonance imaging (MRI) for the presence of cancer cells could enable better handling. The selection of the proper contrast agents can improve the accuracy of cancer diagnosis. Cancer cells express a lot of folate receptor  $\alpha$  that can bind folic acid in the body. The addition of folic acid to the contrast agents of Gadolinium (III) -diethylene triamine pentaacetic acid (Gd-DTPA) is helpful to improve the diagnostic specificity of cancer cells. This study aims to determine the interaction of contrast agents with the target molecule, folate receptor  $\alpha$ , using docking molecule and molecular dynamics simulations (MD). The structure of Gd-DTPA-folate was built using the crystal structure of Gd-DTPA and folate. The result from docking and MD simulation showed the interaction of Gd-DTPA-folate decreases folate for its receptors. The calculation energy between folate receptor with folic acid and Gd-DTPA-folate in MD simulation was  $-47.65$  kkal/mol and  $-43.78$  kkal/mol, respectively. Modifications to the addition of the formyl group were performed on the structure of folic acid and evaluated using docking and MD simulation. The simulation showed that the modifications affect the affinity of folate to the receptor by electrostatic interaction, with the energy generated in docking and MD simulations respectively by  $-7.04$  kkal/mol and  $-60.04$  kkal/mol. The results of this study are expected to be useful for producing specific contrast agents against cancer cells.

**Keywords:** folic acid, Gd-DTPA, folate receptor, docking, contrast agent, molecular docking, molecular dynamics simulation

## PENDAHULUAN

Tumor ganas atau kanker merupakan salah satu masalah utama kesehatan masyarakat. Hingga saat ini, kanker masih menjadi masalah kesehatan di berbagai negara di dunia dan merupakan penyebab kematian pertama di dunia. Dua pertiga dari penderita kanker tersebut berada di negara-negara yang sedang berkembang (Setiati 2009). Kanker menjadi salah satu penyebab utama morbiditas dan mortalitas di seluruh dunia hingga 10 juta kematian terkait kanker pada tahun 2020. Kanker paru, hati, perut, kolorektal, dan kanker payudara merupakan jenis kanker penyebab kematian terbesar setiap tahunnya. Lebih dari 30% dari kematian akibat kanker disebabkan oleh lima faktor risiko perilaku dan pola makan, yaitu: indeks massa tubuh tinggi, kurang konsumsi buah dan sayur, kurang aktivitas fisik, penggunaan rokok, dan konsumsi alkohol berlebihan (WHO 2021). Pendeteksian kanker sejak dini secara tepat dapat memungkinkan penanganan yang lebih baik.

Perkembangan teknologi kesehatan telah mendorong banyak penelitian untuk menghasilkan alat bantu diagnosa berbasis komputer, salah satunya dengan penggunaan *Magnetic Resonance Imaging* (MRI). MRI merupakan suatu alat kedokteran di bidang pemeriksaan diagnostik radiologi, yang mampu menghasilkan rekaman gambaran potongan tubuh manusia secara transversal, koronal, sagital dan paraaksial dengan menggunakan medan magnet (Astuti & Handayani 2012). Untuk menghasilkan gambaran MRI dengan kualitas yang optimal sebagai alat diagnostik, maka harus memperhitungkan hal-hal yang berkaitan dengan teknik penggambaran MRI, antara lain persiapan pasien serta teknik pemeriksaan pasien yang baik dan kontras yang sesuai dengan tujuan pemeriksaannya.

Senyawa pengontras (*contrast agent*) untuk MRI yang biasa digunakan merupakan kompleks berbasis Gadolinium (Gd) yaitu kompleks senyawa gadolinium dengan *diethylene triamine pentaacetic acid* (DTPA) dan 1,4,7,10 tetraazasiklododekan (DOTA) (Hermann *et al.* 2008). Salah satu contrast agent yang sering dipakai dalam bidang kesehatan adalah Magnevist<sup>®</sup>. Senyawa pengontras Gd-DTPA mempunyai berat molekul yang kecil sehingga cepat keluar dari tubuh melalui ginjal atau urin serta melalui feses. Gd-DTPA juga tidak bersifat spesifik sehingga tidak dapat masuk ke dalam sel target dan tidak dapat membedakan dengan jelas suatu jenis kelainan apakah suatu tumor ganas, tumor jinak, atau inflamasi (Miyake *et al.* 2012). Pengembangan senyawa pengontras untuk deteksi penyakit kanker yang diperlukan pada saat ini adalah senyawa yang spesifik menuju target dan seminimal mungkin masuk ke organ atau jaringan yang bukan target, sehingga tidak bias dalam diagnosa penyakit dan memudahkan dalam proses pengobatan.

Sel kanker diketahui banyak mengekspresikan reseptor folat (RF) pada permukaannya di berbagai

jenis penyakit kanker seperti kanker payudara, kanker ovarium, dan kanker rahim (Chen *et al.* 2009). Reseptor folat (RF) adalah suatu membran protein yang memiliki berat molekul 38-40 kDa dengan ikatan *glycosyl phosphatidyl inositol* (GPI) sehingga dapat menempel pada permukaan sel (Adang *et al.* 2012). Terdapat 3 jenis reseptor folat yaitu RF  $\alpha$ , RF  $\beta$  dan RF  $\gamma$ . Dari penelitian sebelumnya, diketahui bahwa RF  $\alpha$  merupakan reseptor folat yang paling banyak diekspresikan pada sel kanker. Ekspresi RF  $\alpha$  yang berlebih ini dapat dijadikan sebagai penanda adanya sel kanker dalam tubuh karena jarang ditemukan pada permukaan sel normal. Reseptor folat dapat mengenali folat dan dapat berikatan dengan afinitas yang tinggi (Kelemen 2006). Interaksi antara keduanya dapat dijadikan sebagai acuan dalam modifikasi senyawa pengontras Gd-DTPA menjadi senyawa pengontras yang spesifik terhadap sel kanker.

Penambatan molekul digunakan untuk memprediksi bagaimana interaksi suatu protein dengan ligannya, dalam hal ini memprediksi interaksi Gd-DTPA-folat dengan reseptor folat  $\alpha$ . Interaksi antara reseptor dan ligan yang dihasilkan dari simulasi tersebut diuji kembali melalui simulasi dinamika molekular (MD) untuk mengetahui kestabilan kompleks protein dan ligan dengan menggunakan pendekatan khusus yang sesuai dengan kondisi alamiah di dalam tubuh manusia. Pemodelan molekul secara komputasi bertujuan untuk mempercepat penemuan-penemuan obat yang efektif dengan memprediksi interaksi ligan-protein sebelum melakukan percobaan di laboratorium dan percobaan praklinis yang mahal (Hafeez 2013). Penelitian berbasis komputasi ini bisa menjadi suatu validasi data untuk penelitian sintesis Gd-DTPA-folat selanjutnya. Pada penelitian ini dilakukan penambatan molekul dan simulasi MD pada Gd-DTPA-folat dan reseptor folat untuk mengetahui interaksi dan afinitas yang terbentuk. Selain itu, modifikasi pada struktur asam folat dengan penambahan gugus formil juga dilakukan dan dievaluasi dengan penambatan molekul dan simulasi MD untuk meningkatkan afinitas terhadap reseptor folat  $\alpha$ . Penelitian ini diharapkan mampu memberikan arahan dalam menghasilkan senyawa pengontras yang spesifik terhadap sel kanker.

## BAHAN DAN METODE

### Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini terbagi ke dalam dua bagian, yaitu perangkat keras (*hardware*) dan perangkat lunak (*software*). Perangkat keras terdiri dari seperangkat PC (*Personal Computer*) dengan spesifikasi prosesor core i7 CPU 920 @2,67 GHz, memori RAM 8 GB, GPU NVIDIA Ge Force GTX 980 4 GB, dan hardisk 2 TB. Sedangkan perangkat lunak yang digunakan adalah: Biovia Discovery Studio 2016, Autodock 4.2, Amber14, Amber Tools 15, dan Visual Molecular

Dynamics (VMD). Alat yang digunakan dalam penelitian ini terbagi ke dalam dua bagian, yaitu perangkat keras (*hardware*) dan perangkat lunak (*software*). Perangkat keras terdiri dari seperangkat PC (*Personal Computer*) dengan spesifikasi prosesor core i7 CPU 920 @2,67 GHz, memori RAM 8 GB, GPU NVIDIA GeForce GTX 980 4 GB, dan hardisk 2 TB. Sedangkan perangkat lunak yang digunakan adalah: Biovia Discovery Studio 2016, Autodock 4.2, Amber14, Amber Tools 15, dan Visual Molecular Dynamics (VMD).

### Bahan

Bahan yang digunakan adalah struktur kristal reseptor folat (kode PDB 4LRH), dan struktur kristal Gd-DTPA-folat (kode CCDC: 1307236).

### Penambatan Molekul

Penambatan molekul dilakukan pada tiga sistem masing-masing antara reseptor folat dengan ligan. Terdapat tiga ligan, yaitu asam folat, Gd-DTPA-folat, dan Gd-DTPA-5-formil THF. Struktur kristal reseptor folat-ligan ditambahkan atom hidrogen dalam konformasinya menggunakan program *Biovia Discovery Studio*. Struktur kristal tersebut kemudian dipisahkan antara ligan dengan reseptor folat dan disimpan masing-masing dalam format pdb. Untuk ligan yang mengandung unsur Gd diganti dengan unsur Fe karena program Autodock4 belum memiliki parameter khusus untuk unsur lantanida seperti gadolinium. Unsur Fe dipilih karena Fe dalam kondisi bebas memiliki muatan yang sama seperti Gd yaitu +3.

Ligan dan reseptor folat diubah dalam bentuk format pdbqt dan penambatan molekul dilakukan menggunakan program *Autodock 4*. Penyesuaian ukuran dan titik pusat *grid map* dilakukan pada sisi pengikatan ligan. Penambatan molekul dilakukan sebanyak 100 kali dengan nilai evaluasi medium (2.500.000) serta protokol Lamarckian-GA. Konformasi ligan dengan nilai energi pengikatan terendah dipilih untuk simulasi MD.

### Simulasi Dinamika Molekul (MD)

Simulasi MD dilakukan menggunakan program Amber14. Asam amino pada struktur protein diubah terlebih dahulu dengan tipe atom yang sesuai pada kondisi natifnya. Pada asam amino sistein bebas tipe atom yang digunakan adalah CYS, sedangkan pada asam amino sistein yang membentuk jembatan sulfida menggunakan tipe atom CYX. Pada asam amino histidin, terdapat 3 jenis tipe atom yang berbeda tergantung posisi protonasi atom N pada cincin imidazol. *Input file* untuk simulasi disiapkan dengan menggunakan modul Leap serta parameterisasi struktur ligan dengan perhitungan semiempirik kuantum AM1\_BCC. Tidak seperti pada

penambatan molekul, ligan yang mengandung unsur Gd parameterisasi dilakukan dengan perhitungan mekanika kuantum menggunakan program *RESP ESP charge Derive* dengan tetap menggunakan unsur Gd. Molekul air ditambahkan secara eksplisit ke dalam sistem dengan model air TIP3P BOX dengan jarak minimal 10 Å dari permukaan terluar dari kompleks. Minimisasi struktur dilakukan menggunakan modul pmemd.MPI secara bertahap. Minimisasi pertama dilakukan dengan 1000 langkah algoritma *steepest descend* diikuti dengan 2000 langkah minimisasi *conjugate gradient* dengan memberikan hambatan sebesar 500 kkal/molÅ<sup>2</sup> pada tulang punggung protein. Minimisasi tanpa hambatan dilakukan kemudian sebanyak 1000 langkah untuk menghindari adanya tumbukan antar atom. Selanjutnya dilakukan pemanasan secara bertahap dengan modul pmemd.cuda hingga suhu 37 °C selama 60 ps dalam keadaan NVT. Pada tahap ini hambatan sebesar 5 kkal/molÅ<sup>2</sup> diberikan pada kompleks. Kemudian sistem disetimbangkan secara bertahap dengan menggunakan modul pmemd.cuda selama 1000 ps dalam keadaan NPT. Setelah itu dilakukan produksi dengan menggunakan modul pmemd.cuda selama 10 ns dengan *timestep* 2 fs. Trajektori hasil simulasi ini kemudian dilakukan analisis untuk memperoleh data RMSD, RMSF serta energi pengikatan ligan dengan reseptornya.

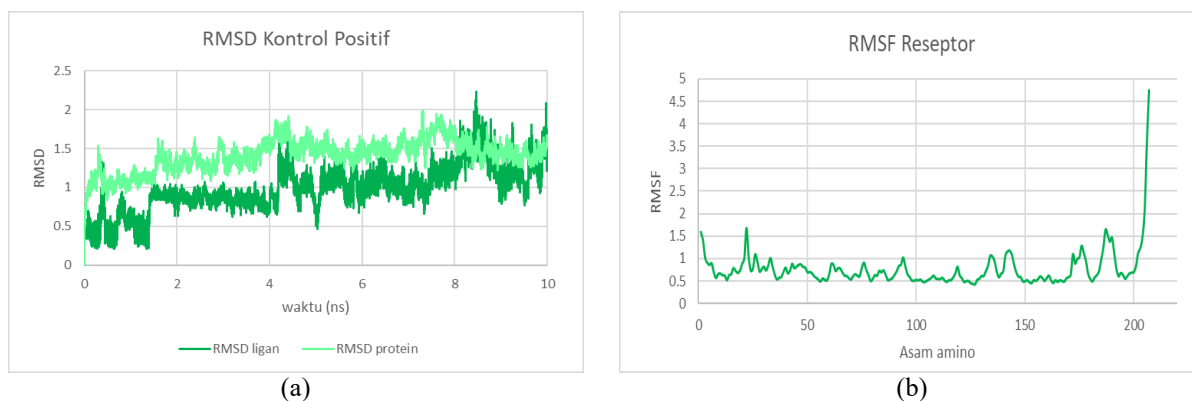
## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Penambatan Molekul Asam Folat-Reseptor (Kontrol Positif)

Reseptor folat yang digunakan pada penelitian ini adalah reseptor folat  $\alpha$  karena yang paling banyak diekspresikan di berbagai macam jenis jaringan kanker maupun jaringan normal (Keleman 2006). Penambatan molekul pada kompleks asam folat-reseptor folat dilakukan untuk memvalidasi metode. Hasil penambatan molekul menunjukkan nilai energi ikat -12,68 kkal/mol. Total energi ikat tersebut merupakan hasil penjumlahan dari energi intermolekular, energi internal, energi torsi, dan energi sistem. Selain itu, didapatkan juga nilai RMSD sebesar 0.77 Å terhadap struktur kristal. Nilai ini menunjukkan bahwa struktur hasil penambatan molekul tidak jauh berbeda dengan struktur kristalnya dan parameter yang dibuat dapat dijadikan sebagai acuan untuk melakukan penambatan molekul senyawa ligan lainnya (Hernandez-Santoyo *et al.* 2013).

### Simulasi MD pada kontrol positif

Hasil simulasi menunjukkan bahwa asam folat yang terikat pada reseptor stabil selama simulasi yang ditunjukkan dengan grafik RMSD yang dibawah 2 Å selama simulasi. Nilai RMSF reseptor folat hanya



**Gambar 1.** Grafik (a) RMSD dan (b) RMSF ligan dan reseptor pada kontrol positif.

mengalami fluktuasi yang sangat tinggi pada residu asam amino 207 (Gambar 1). Hal ini disebabkan karena residu tersebut merupakan C-terminal sehingga posisinya bergerak bebas dan mengalami fluktuasi yang sangat tinggi.

Selama simulasi, asam folat cenderung stabil di dalam sisi pengikatan reseptor. Konformasi struktur ligan menjadi berubah ketika memasuki 4 ns saat struktur terlihat tertarik ke arah belakang. Hal ini disebabkan terbentuknya ikatan hidrogen antara atom H pada cincin pterin dengan residu D81 serta atom C karbonil pada pterin dengan residu R103. Selain itu, adanya kompetisi pembentukan interaksi hidrofobik pi-pi *stacking* antara Y85 dan Y60 terhadap cincin pterin menyebabkan hilangnya interaksi pi-pi *stacking* terhadap Y85, namun terbentuk interaksi baru NH-pi *stacking* yang merupakan ikatan hidrogen non-classical.

Perhitungan energi selama simulasi dilakukan menggunakan *Molecular Mechanics Generalized Born Surface Area* (MM-GBSA) pada program *Amber14*. Dengan program ini, sistem menghitung besaran energi dari kompleks reseptor-ligan, energi reseptor, dan energi ligan. Selisih dari ketiga besaran energi yang dihasilkan merupakan besaran energi ikat antara reseptor dengan ligan (Miller *et al.* 2012). Besar energi ikat yang dihasilkan adalah -47,65 kkal/mol.

#### Penambatan molekul Gd-DTPA-folat – reseptor

Fe-DTPA-folat pada posisi gamma digunakan pada penambatan molekul karena konsentrasinya lebih banyak (Bettio *et al.* 2006). Jumlah torsi yang diaktifkan pada ligan ini disesuaikan dengan jumlah pada kontrol positif. Dari 32 buah total torsi, hanya 9 buah yang diaktifkan dengan deaktivasi torsi pada struktur etilendiamin dan DTPA. Deaktivasi torsi pada struktur DTPA juga bertujuan agar struktur DTPA tetap membentuk *crown* yang mampu menopang atom Fe dengan membentuk ikatan kovalen koordinasi.

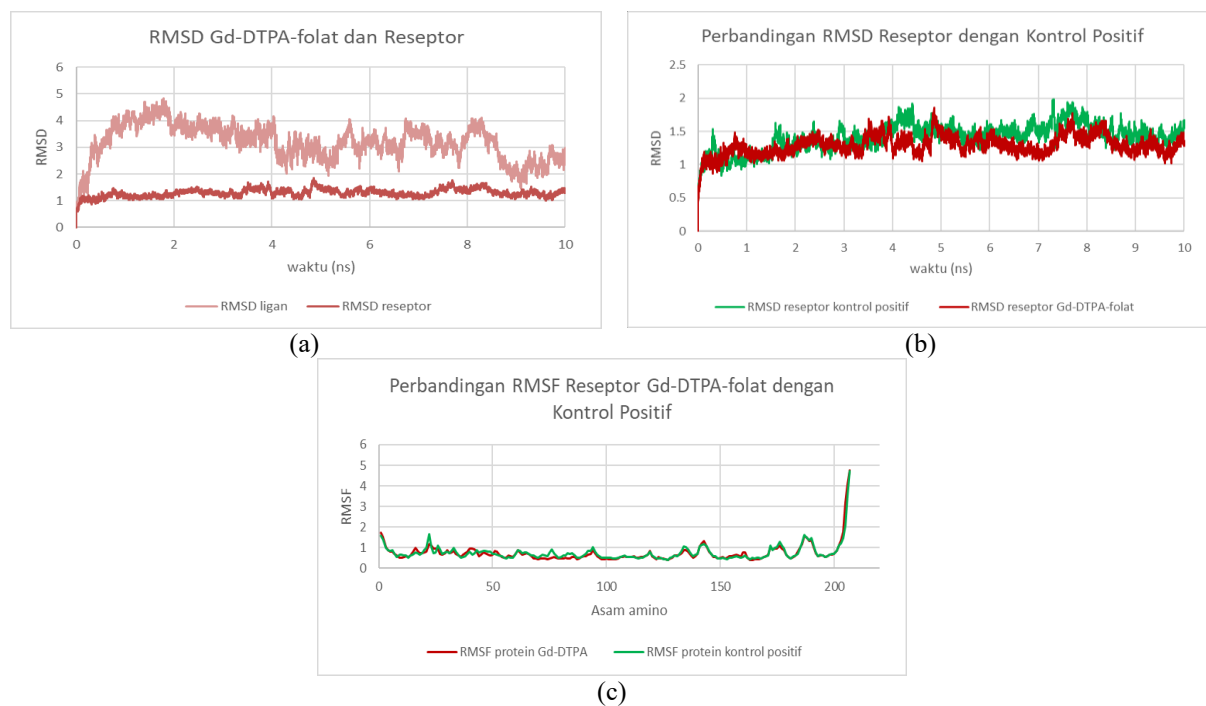
Selanjutnya, pengaturan *grid map* menggunakan parameter dari hasil penambatan molekul kontrol positif, karena pada parameter tersebut telah

berisikan koordinat yang sesuai untuk lokasi sisi aktif dari reseptor folat. Penyesuaian dilakukan dengan memperbesar ruang grid map, dari  $40 \times 40 \times 40$  titik menjadi  $70 \times 70 \times 70$  titik dengan jarak antar titik sebesar  $0,375 \text{ \AA}$ , seluruh ligan berada dalam *grid map*. Setelah itu, dilakukan penambatan molekul dengan parameter yang sama dengan kontrol positif. Hasil didapatkan bahwa Fe-DTPA-folat pada posisi gamma memperoleh energi sebesar -5,13 kkal/mol. Sayangnya, Fe-DTPA-folat ini menghasilkan energi yang lebih besar dibandingkan kontrol yang memiliki energi sebesar -12,68 kkal/mol. Ketika dibandingkan, kedua struktur menghasilkan nilai RMSD sebesar  $2,78 \text{ \AA}$  (Gambar 2).



**Gambar 2.** Perbandingan posisi asam folat dengan Fe-DTPA-folat didalam reseptor setelah penambatan molekul. (Merah: Fe-DTPA-folat, Hijau: Asam folat).

Energi bebas torsional merupakan salah satu penyebab perbedaan dari energi total keduanya. Energi bebas torsional merupakan suatu energi yang dibutuhkan ligan untuk memutar semua torsi yang ada pada struktur dari posisi sebelum berikatan hingga akhirnya membentuk ikatan dengan reseptor. Pada struktur asam folat, energi torsi dari strukturnya hanya sebesar +2,68 kkal/mol, sedangkan pada struktur Fe-DTPA-folat, energi torsi yang dihasilkan mencapai +8,95 kkal/mol. Torsi pada struktur etilendiamin hingga DTPA yang tidak aktif



Gambar 3. Grafik (a & b) RMSD dan (c) RMSF ligan dan reseptor

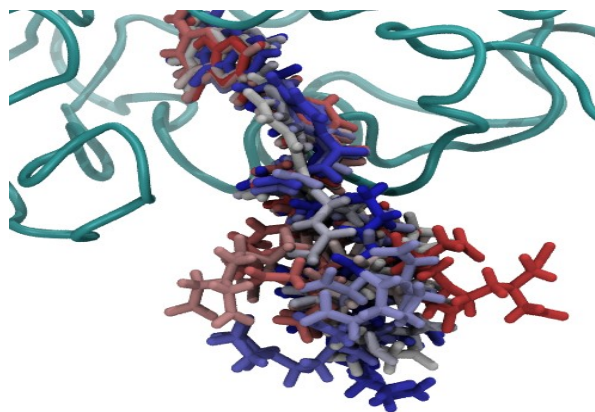
kemungkinan menyebabkan beban energi bagi torsi yang aktif untuk melakukan penyesuaian struktur di dalam reseptor.

#### Simulasi MD pada Gd-DTPA-folat

Hasil simulasi menunjukkan bahwa reseptor folat stabil selama simulasi walaupun dari hasil perhitungan RMSD ligan mengalami perubahan konformasi yang cukup signifikan dari kondisi awal (Gambar 3). Berdasarkan data RMSF, reseptor folat hanya mengalami fluktuasi yang sangat tinggi pada residu asam amino 207 sama seperti hasil kontrol positif, sehingga struktur reseptor folat diasumsikan stabil selama simulasi. Perbandingan dengan hasil MD dari kontrol positif dilakukan untuk mengamati kestabilan hasil MD Gd-DTPA-folat. Hasil perbandingan nilai RMSD dari reseptor pada kontrol positif dengan reseptor pada simulasi Gd-DTPA-folat menunjukkan bahwa reseptor yang mengikat Gd-DTPA stabil selama simulasi.

Hasil dari perbandingan RMSD dari ligan pada kontrol positif dengan ligan Gd-DTPA-folat menunjukkan bahwa Gd-DTPA-folat sangat tidak stabil. Ketidakstabilan ditunjukkan dengan terbentuknya cukup banyak puncak dari grafik RMSD pada Gambar 3 yang menandakan struktur Gd-DTPA-folat sering mengalami perubahan konformasi. Berdasarkan hasil analisis secara visual dengan program VMD, terjadinya perubahan konformasi yang cukup sering selama simulasi disebabkan oleh pergerakan struktur Gd-DTPA yang bergerak bebas diluar reseptor folat (Gambar 4). Namun, pergerakan dari Gd-DTPA tersebut tidak mempengaruhi konformasi folat yang berada pada sisi pengikatan reseptor folat sehingga Gd-DTPA-

folat tidak terlepas dari reseptor folat selama simulasi berlangsung.

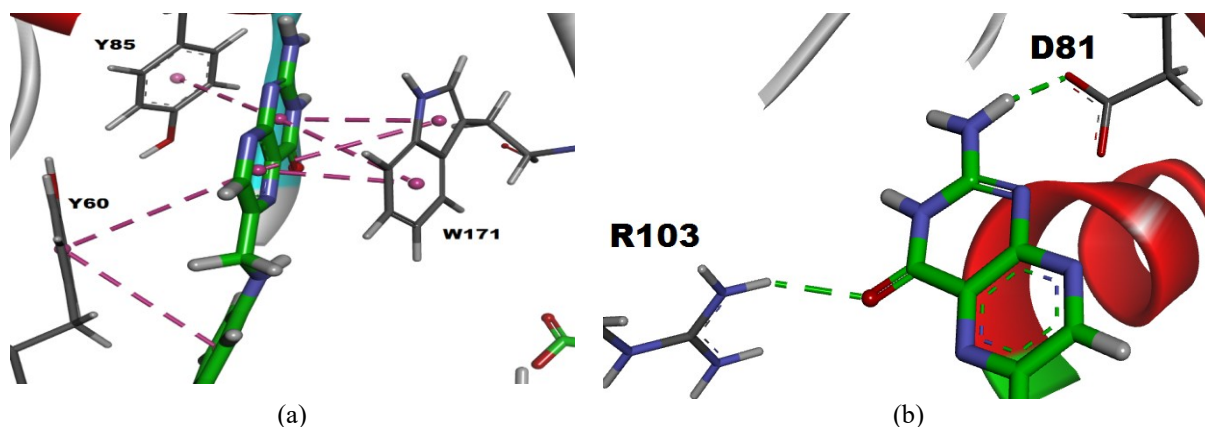


Gambar 4. Pergerakan Gd-DTPA selama proses MD dari awal hingga akhir simulasi (gradasi warna merah ke biru)

Total energi yang dihasilkan antara Gd-DTPA-folat dengan reseptor folat sebesar  $-42,78$  kkal/mol. Hasil tersebut menunjukkan bahwa energi yang dihasilkan lebih besar bila dibandingkan dengan energi ikat antara folat dengan reseptor yaitu  $-47,65$  kkal/mol. Hal tersebut menunjukkan bahwa penambahan gugus Gd-DTPA menurunkan afinitas pada interaksi asam folat dengan reseptor folat. Namun, penurunan afinitas tersebut masih dikategorikan baik, karena selama simulasi tidak ada tanda-tanda visual yang menunjukkan folat akan terlepas dari sisi pengikatan reseptor folat.

Salah satu penyebab Gd-DTPA-folat stabil di dalam reseptor folat karena adanya interaksi





**Gambar 5.** (a) Interaksi pi-pi stacking antara cincin pterin dengan asam amino sekitarnya. (b) Ikatan hidrogen pada cincin pterin.

hidrofobik pi-pi *stacking* antara cincin pterin pada folat dengan residu asam amino aromatik disekitarnya, seperti Y85, Y60, dan W171 (Gambar 5a). Interaksi antar cincin aromatik ini menghasilkan struktur cincin yang saling bertumpuk dan mampu menjaga kestabilan dari folat untuk tetap berada dalam reseptor folat. Namun pada akhir simulasi, profil interaksi tersebut sama seperti yang ditunjukkan pada kontrol positif. Y85 dan Y60 saling berkompetisi dalam membentuk interaksi pi-pi *stacking* dan diakhiri dengan pembentukan interaksi NH-pi *stacking*. Ikatan hidrogen yang terbentuk antara cincin pterin dengan D81 dan R103 juga menjadi pondasi bagi cincin pterin dari asam folat untuk tetap tertahan di dalam reseptor folat selama simulasi (Gambar 5b).

#### Modifikasi senyawa Gd-DTPA-folat

Berdasarkan hasil MD Gd-DTPA-folat, senyawa folat dari Gd-DTPA-folat cukup stabil di dalam reseptor folat. Modifikasi terhadap struktur folat dilakukan dengan asumsi untuk meningkatkan afinitasnya terhadap reseptor. Salah satu modifikasi yang dilakukan adalah dengan cara memodifikasi senyawa folat dengan turunannya. Hal ini dilakukan karena berdasarkan hasil analisis penambatan molekul maupun MD, hanya struktur folat yang berada dalam reseptor, sedangkan struktur etilendiamin dan Gd-DTPA berada di luar reseptor dan tidak memberikan pengaruh besar terhadap pengikatan folat dengan reseptornya. Modifikasi dilakukan dengan melihat peta persebaran atom O akseptor ikatan hidrogen dari hasil perhitungan *grid map*. Berdasarkan hasil persebaran atom O akseptor, dapat dilakukan modifikasi pada atom N nomor 5 pada cincin pterin dengan penambahan suatu gugus yang memiliki atom O akseptor ikatan hidrogen. Salah satu gugus yang memungkinkan adalah penambahan gugus formil atau aldehyd. Modifikasi tersebut menghasilkan struktur folat yang biasa dikenal sebagai 5-formiltetrahydrofolat.

#### Penambatan molekul pada Gd-DTPA-5-formilTHF.

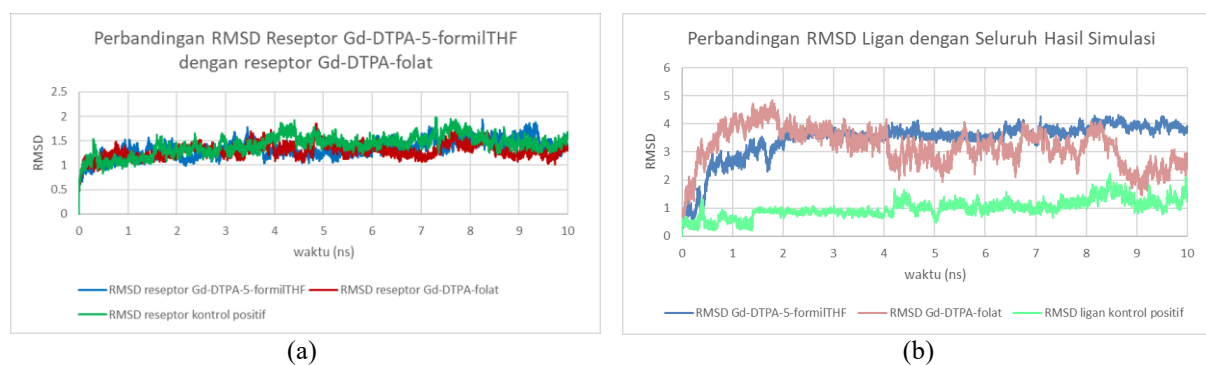
Hasil penambatan molekul pada Gd-DTPA-5-formilTHF, didapatkan nilai energi ikat -7,04 kkal/mol. Hasil ini menunjukkan adanya penambahan gugus formil pada atom N nomor 5 pada cincin pterin menyebabkan afinitas ligan terhadap reseptor folat menjadi lebih baik. Perbedaan cukup signifikan terlihat pada hasil penambatan molekul Gd-DTPA-folat sebelum dan setelah modifikasi. Pada Gd-DTPA-folat, energi yang dihasilkan dari ikatan hanya sebesar -5,13 kkal/mol, sedangkan setelah modifikasi, energinya menjadi -7,04 kkal/mol.

Hasil ini menunjukkan bahwa energi bebas torsional dari Gd-DTPA-5-formilTHF meningkat bila dibandingkan dengan energi dari Gd-DTPA-folat. Energi berubah dari +8,95 kkal/mol menjadi +9,25 kkal/mol. Penambahan gugus formil pada cincin pterin sangat berperan pada perubahan energi intermolekular, energi dihasilkan lebih minimum bila dibandingkan pada kontrol positif. Energi intermolekular yang dihasilkan oleh senyawa folat (kontrol positif), Gd-DTPA-folat dan Gd-DTPA-5-formilTHF masing-masing adalah -15,37 kkal/mol, -14,08 kkal/mol dan -16,28 kkal/mol. Penambahan gugus formil tersebut berhasil meningkatkan afinitas Gd-DTPA-folat terhadap reseptor, sehingga dilakukan simulasi MD untuk membuktikan hasil ini.

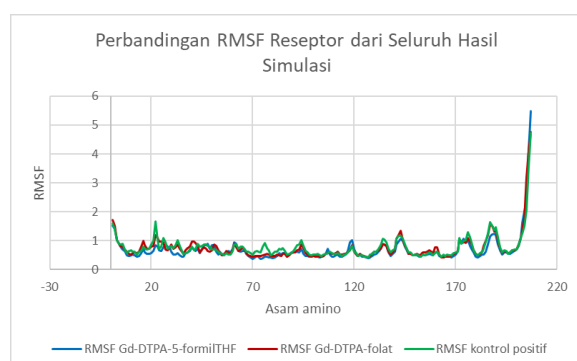
#### Simulasi MD pada Gd-DTPA-5-formilTHF

Hasil simulasi MD struktur ligan dan reseptor stabil selama simulasi, seperti yang ditunjukkan data RMSD pada Gambar 6. Sedangkan menurut data RMSF, reseptor folat pada simulasi ini menunjukkan profil yang tidak jauh berbeda dengan hasil simulasi sebelumnya (Gambar 7).

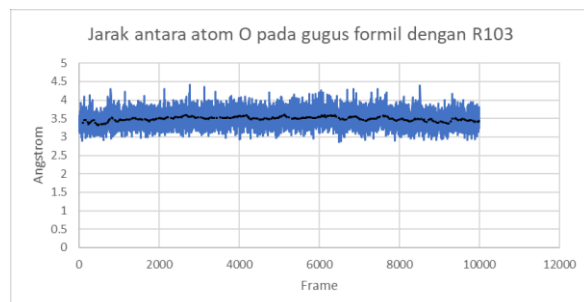
Hasil perhitungan energi menunjukkan bahwa energi ikatan yang terbentuk antara reseptor folat dengan ligan Gd-DTPA-5-formilTHF sebesar -60,04 kkal/mol. Energi yang dihasilkan menunjukkan bahwa penambahan gugus formil sebagai modifikasi cincin pterin berhasil meningkatkan afinitas folat terhadap reseptornya. Bila dibandingkan dengan



**Gambar 6.** Grafik RMSD (a) semua reseptor dan (b) ligan dari seluruh hasil simulasi



**Gambar 7.** Grafik RMSF semua reseptor dari seluruh hasil simulasi



**Gambar 8.** Grafik fluktuasi jarak atom O dengan R103 selama simulasi

energi hasil simulasi kontrol positif dan Gd-DTPA-folat, masing-masing hanya menghasilkan energi sebesar  $-47,65$  kkal/mol dan  $-42,78$  kkal/mol. Perbedaan paling besar diperoleh dari energi elektrostatik ketiga sistem. Berdasarkan data yang diperoleh, modifikasi yang dilakukan pada struktur folat menghasilkan energi elektrostatik yang paling minimum. Hal ini disebabkan oleh adanya interaksi antara atom O pada C karbonil dari gugus formil dengan gugus  $\text{NH}_2$  dari R103. Atom O yang lebih bersifat negatif memberikan interaksi elektrostatik terhadap atom N yang lebih bersifat positif. Hal ini diperkuat dengan jarak antara masing-masing atom selama simulasi berada pada rentang 3A, dimana masih berada dalam rentang jarak elektrostatik yang mencapai batas 5 A (Gambar 8). Hasil ini

menunjukkan bahwa penambatan molekul dan simulasi MD dapat mengevaluasi energi ikatan yang terjadi pada ketiga sistem. Hasil modifikasi ligan Gd-DTPA-5-formilTHF memiliki nilai energi yang paling negatif pada penambatan molekul dan simulasi MD, meskipun hanya dilakukan selama 10 ns. RMSD reseptor selama simulasi juga menunjukkan bahwa ketiga sistem memiliki nilai yang relatif stabil sehingga perubahan konformasi skala besar diharapkan tidak akan terjadi. Selain itu, perbedaan nilai energi hasil MD antara kontrol positif, Gd-DTPA-folat, dan Gd-DTPA-5-formilTHF juga besar. Oleh karena itu, hasil ini diharapkan dapat memberikan arahan untuk menghasilkan senyawa pengontras yang spesifik terhadap sel kanker.

## KESIMPULAN

Afinitas Gd-DTPA-folat dengan reseptor folat  $\alpha$  berdasarkan hasil penambatan molekul dan simulasi MD menghasilkan energi masing-masing sebesar  $-5,13$  kkal/mol dan  $-42,78$  kkal/mol. Penambahan Gd-DTPA pada struktu folat menurunkan afinitas folat terhadap reseptor dibandingkan kontrol positif. Modifikasi pada Gd-DTPA-5-formilTHF berhasil meningkatkan afinitas, baik dari hasil penambatan molekul maupun hasil simulasi MD dengan nilai energi masing-masing sebesar  $-7,04$  kkal/mol dan  $-60,04$  kkal/mol. Hasil penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat untuk menghasilkan senyawa pengontras yang lebih spesifik terhadap sel kanker.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ungkapan rasa terima kasih kepada Direktorat Riset dan Pengabdian pada Masyarakat (DRPM) Universitas Padjadjaran melalui hibah internal Academic Leadership Grant (ALG).

## DAFTAR PUSTAKA

Adang, H.G., Yono, S., & Maskur, M. (2012). Sintesis Gd-DTPA-folat untuk magnetic resonance imaging contrast agent dan karakterisasinya menggunakan perunut radio aktif  $^{153}\text{Gd-DTPA-folat}$ . *Jurnal Sains Materi Indonesia*. **13(4)**: 1-6

- Astuti, L.W., & Handayani, T. (2012). Klasifikasi MRI otak menggunakan jaringan syaraf tiruan berdasarkan data wavelet yang direduksi dengan NCMF. Seminar Nasional Informatika. UPN Veteran. Yogyakarta.
- Bettio, A., Honer, M., Muller, C., Bruhlmeier, M., Muller, U., Schibli, R., Groehm, V. Schubiger, A., & Ametamey, S. (2006). Synthesis and preclinical evaluation of a folic acid derivative labeled with  $^{18}\text{F}$  for PET imaging of folate receptor-positive tumors. *Journal of Nuclear Medicine*. **47(7)**: 1153-1160.
- Chen, W.T., Thirumalai, D., Shih, T.T.F., Chen, R.C., Tu, S.Y., Lin, C.I. & Yang, P.C. (2010). Dynamic contrast-enhanced folate-receptor-targeted MR imaging using a Gd-loaded PEG-dendrimer-folate conjugate in a mouse xenograft tumor model. *Molecular Imaging and Biology*. **12(2)**: 145-154.
- Hafeez, A., Saify, Z.S., Naz, A., Yasmin, F. & Akhtar, N. (2013). Molecular docking study on the interaction of riboflavin (Vitamin B<sub>2</sub>) and cyanocobalamin (Vitamin B<sub>12</sub>) coenzymes. *Journal of Computational Medicine*. **2013**: 312183.
- Hermann, P., Kotek, J., Kubíček, V. & Lukeš, I. (2008). Gadolinium (III) complexes as MRI contrast agents: ligand design and properties of the complexes. *Dalton Transactions*. **2008(23)**: 3027-3047.
- Hernández-Santoyo, A., Tenorio-Barajas, A.Y., Altuzar, V., Vivanco-Cid, H. & Mendoza-Barrera, C. (2013). Protein-protein and protein-ligand docking. In Ogawa, T. (ed). *Protein Engineering-Technology and Application*. pp.63-81. IntechOpen. London.
- Kelemen, L.E. (2006). The role of folate receptor  $\alpha$  in cancer development, progression and treatment: cause, consequence or innocent bystander?. *International Journal of Cancer*. **119(2)**: 243-250.
- Miller III, B.R., McGee Jr, T.D., Swails, J.M., Homeyer, N., Gohlke, H. & Roitberg, A.E. (2012). MMPBSA.py: An efficient program for end-state free energy calculations. *Journal of Chemical Theory and Computation*. **8(9)**: 3314-3321.
- Miyake, Y., Kimura, Y., Ishikawa, S., Tsujita, H., Miura, H., Narazaki, M., Matsuda, T., Tabata, Y., Yano, T., Toshimitsu, A. & Kondo, T. (2012). Synthesis and functional evaluation of chiral dendrimer-triamine-coordinated Gd complexes as highly sensitive MRI contrast agents. *Tetrahedron Letters*. **53(34)**: 4580-4583.
- Setiati, E. (2009). *Waspada! 4 Kanker Ganas Pembunuh Wanita; Kanker Rahim, Kanker Indung Telur, Kanker Leher Rahim, Kanker Payudara*. Edisi 1. Penerbit Andi. Yogyakarta.
- World Health Organization. 2021. Fact sheet: Cancer. WHO. Geneva.