

Pentingnya Interaksi Hidrogen Dengan Nitrogen Backbone Di Situs FS918 Pada VEGFR2 Berdasarkan Analisis 31 Struktur Kristal VEGFR2

The Importance Of Hydrogen Interaction With Nitrogen Backbone In Site FS918 VEGFR2 Based On Analysis 31 Crystal Structure VEGFR2

Fandriastika Maranantan¹, Anintia Mara Christy²

¹Molecular Modeling Center "MOLMOD.ORG" Yogyakarta, Indonesia

²Akademi Farmasi Nasional Surakarta, Indonesia

Intisari

Dilakukan pengamatan interaksi polar terhadap 31 struktur kristal VEGFR2 menggunakan PyMOL 1.2r1. Interaksi yang terlihat berupa interaksi langsung dan tak langsung. Dari hasil pengamatan visual terlihat bahwa interaksi langsung *backbone* nitrogen di situs FS918 merupakan interaksi penting karena sekitar 87% dari seluruh struktur kristal VEGFR2 memiliki interaksi tersebut (dari 31 struktur kristal hanya 4 yang tidak memiliki interaksi tersebut).

Kata kunci: VEGFR2, interaksi hydrogen, nitrogen backbone, situs FS918

Abstract

Polar interactions was observed from 31 VEGFR2 crystal structure using PyMOL 1.2r1. The interactions was seen in form of direct and indirect interactions. From visual observation shows that nitrogen backbone direct interaction in site FS918 is important because approximately 87% of the entire VEGFR2 crystal structure has this interaction (from 31 crystal structure only 4 that has not interaction).

Keywords: VEGFR2, hydrogen interaction, nitrogen backbone, FS918 site

Pendahuluan

Neo-angiogenesis memiliki peran yang sangat penting dalam perkembangan dan kelangsungan hidup sebagian besar jenis kanker [1]. Pentargetan terhadap VEGFR menggunakan inhibitor molekul kecil merupakan salah satu strategi menghambat proses neo-angiogenesis. VEGFR2 merupakan salah satu subtype dari reseptor VEGFR yang dipertimbangkan sebagai reseptor utama yang bertanggung jawab untuk memediasi efek psikologikal dan patologikal VEGF-A pada sel endothelial [2]. VEGFR1

memiliki sepuluh kali lipat afinitas ikatan yang lebih tinggi pada VEGF, namun VEGFR1 memiliki kemampuan aktivasi *intrasekuler signaling intermediates* yang lebih rendah dibanding VEGFR2, dan akibatnya VEGFR1 dapat beraksi sebagai regulator negatif angiogenesis melalui ikatan dengan VEGF dan mencegah terikatnya VEGF ke VEGFR2 [3]. Sorafenib [4] dan Sunitinib [5] adalah molekul kecil yang dapat menghambat VEGFR2 dan telah disetujui oleh FDA

untuk pengobatan karsinoma sel ginjal [6]. Beberapa molekul kecil penghambat tirosin kinase lain juga baru-baru ini dalam investigasi uji klinik fase 3.

Jumlah data hasil struktur makromolekul hasil kristalografi sinar-x berbagai jenis protein semakin meningkat, termasuk tersedianya kristal VEGFR2 dengan beberapa molekul kecil penghambatnya. Hal ini memungkinkan untuk dilakukannya analisis untuk melihat interaksi-interaksi yang berperan penting dalam VEGFR2 terhadap molekul kecil penghambatnya. Dengan teridentifikasinya interaksi penting ini diharapkan mampu mempercepat penemuan obat penghambat VEGFR2. Pada penelitian ini dilakukan analisis terhadap interaksi polar pada 31 kristal x-rey VEGFR2 dengan menggunakan PyMOL 1.2r1.

Metode

Bahan

Sejumlah 31 struktur VEGFR2 yang memiliki molekul kecil penghambat dari <http://www.pdb.org/> dengan kode 2XIR [7], 4AG6, 4AGC, 4AGD, 4ASE, 4ASD [8], 2OH4 [9], 3CJF, 3CJG [10], 3D7W [11], 3EFL [12], 3EWH [13], 3VID [14], 1Y6A, 1Y6B [15], 1YWN [16], 2P2H, 2P2I [17], 2QU5, 2QU6 [18], 2RL5 [19], 3BQ8, 3BE2 [20], 3B8R [21], 3C7Q [22], 3CP9, 3CPB, 3CPC [23], 3VHE [24], 3U6J [25], dan 3VNT [26]

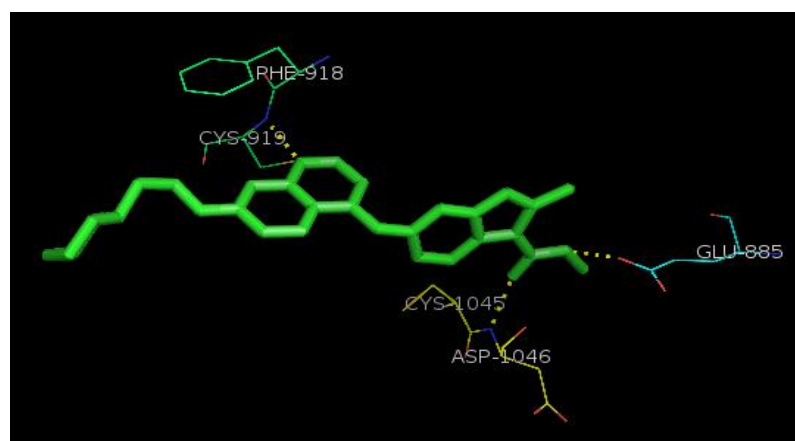
digunakan sebagai referensi interaksi polar.

Alat

PyMOL1.2r1(<http://www.pymol.org/>) [27] digunakan untuk melihat interaksi polar pada 31 struktur kristal VEGFR2. Pengamatan komputasional dilakukan seluruhnya menggunakan Linux (Ubuntu 10.04 LTS Lucid Lynx) dengan Intel® Core™ i5 CPU 2.67 GHz dan RAM 2.00 GB.

Prosedur

Berkas file .pdb 31 struktur kristal VEGFR2 diunduh dari <http://www.pdb.org/>. Masing-masing file dibuka menggunakan PyMOL 1.2r1, dilihat interaksi polar yang ada antara molekul kecil penghambat dengan binding site VEGFR2 kemudian didata. Pendataan dilakukan dengan membagi menjadi 2 golongan besar yaitu interaksi langsung dan interaksi tak langsung. Interaksi langsung yaitu interaksi ligan langsung dengan VEGFR2, sedangkan interaksi tak langsung yaitu antara ligan dengan VEGFR2 yang diperantarai air (hanya diperantarai satu molekul air). Baik interaksi langsung maupun tak langsung masing-masing dibagi lagi menjadi 2 kelas yaitu interaksi dengan *backbone* dan interaksi dengan residu asam amino. Kemudian interaksi *backbone* masing-masing dibagi kembali menjadi dua sub kelas yaitu karbonil *backbone* dan nitrogen *backbone*.



Gambar 1. Tiga Interaksi Langsung yang dominan pada kristal VEGFR2, dimodelkan dengan menggunakan struktur kristal dengan kode 2XIR

Tabel I. Interaksi Tak Langsung 31 struktur Kristal VEGFR2

Kode PDB Struktur Kristal	Interaksi Tak Langsung		
	<i>Backbone</i>		<i>Non Backbone</i>
	Karbonil	Nitrogen	
2XIR			
4AG8	Leu 840, Gly 841		
4AGC	Leu 840, Gly 841		
4AGD			
4ASE			
4ASD	Leu 840, Gly 841		Glu 885
2OH4			
3CJF	Arg 1030, Asn 1031		
3CJG		Asn 921, Gly 920	Asp 1044, Asn 921
3DTW			
3EFL			
3EWH			Lys 868
3VID			
1Y6A			
1Y6B	Arg 1030, Asn 1031	Gly 920, Asn 921	
1YWN			Asn 921
2P2H		Asn 923, Gly 922	Asn 923, Lys 868, Asp 1046
2P2I			
2QU5			
2QU6			Asp 1046
2RL5	Arg 1027, His 1026		
3B8Q			
3B8R			
3BE2			
3C7Q			
3CP9			
3CPB			
3CPC			
3VHE			
3U6J			
3VNT	Leu 840, Gly 841, Val 899, Asn 900		

Hasil dan Pemahasan

Pendataan awal dimulai dengan melihat jumlah interaksi tak langsung pada 31 struktur kristal VEGFR2 (Tabel I). Dari hasil analisis 31 struktur kristal VEGFR2 terlihat bahwa interaksi ligan yang berupa interaksi tak langsung merupakan interaksi yang tak penting, hal ini karena banyaknya struktur kristal yang tidak memiliki interaksi tersebut (sekitar 77% tidak terdapat interaksi tak langsung *backbone* karbonil, 90% tidak memiliki interaksi tak langsung *backbone* nitrogen, dan 80 % tidak memiliki interaksi tak langsung pada residu asam amino).

Pendataan dilanjutkan dengan melihat interaksi langsung yang terdapat

pada 31 struktur kristal VEGFR2. Dari hasil pengamatan didapatkan sekitar 58% memiliki interaksi langsung *backbone* karbonil, 96% memiliki interaksi langsung *backbone* nitrogen, dan 74% memiliki interaksi langsung dengan residu asam amino. Melihat persentase yang cukup besar dari 31 struktur kristal yang memiliki interaksi langsung *backbone* nitrogen dan interaksi langsung residu asam amino, pengamatan dilanjutkan

dengan memfokuskan pada jenis interaksi yang ada di interaksi langsung *backbone* nitrogen dan interaksi langsung residu asam amino. Dari hasil pengamatan pada interaksi langsung residu asam amino walaupun 74% terlihat dari 31

struktur kristal VEGFR2, jenis interaksi yang ada didominasi oleh interaksi dengan Glu 885 dan terdapat juga interaksi dengan Glu 883. Terdapat kejanggalan pada beberapa file VEGFR2, yaitu beberapa file struktur kristal ternyata memiliki penomoran yang berbeda. Oleh karena itu dilakukan penyesuaian nomor

asam amino mengikuti web uniprot.org. Interaksi yang ada sebelum dan setelah penyesuaian nomor asam amino diperlihatkan pada table II. Jumlah interaksi Glu 885 dihitung dan persentasenya hanya mencapai 58% dari 31 struktur kristal VEGFR2.

Tabel II. Interaksi Langsung Struktur Kristal VEGFR2 sebelum dan setelah penyesuaian nomor asam amino

Kode PDB Struktur Kristal	Interaksi Langsung Sebelum Penyesuaian Nomor Asam Amino			Interaksi Langsung Setelah Penyesuaian Nomor Asam Amino		
	<i>Backbone</i>		<i>Non backbone</i>	<i>Backbone</i>		<i>Non Backbone</i>
	Karbonil	Nitrogen		Karbonil	Nitrogen	
2XIR		A, B	D		A, B	D
4AG8		A	D		A	D
4AGC		A	D		A	D
4AGD	C*	B		C	B	
4ASE		A,B	D		A,B	D
4ASD	C**	A,B	D	C**	A,B	D
2OH4	C*	B*	D*	C	B	D
3CJF	C*	B*		C	B	
3CJG	C*	B*	D*	C	B	D
3DTW		A, B	E		A, B	E
3EFL		A, B	D		A, B	D
3EWH	C**	A, B	D	C**	A, B	D
3VID	C**			C**		
1Y6A	C*	B*		C	B	
1Y6B	C*	B*	H	C	B	H
1YWN	C	A*, B*	D*	C	A, B	D
2P2H	C**	B		C**	B	
2P2I		A, B	D		A, B	D
2QU5	C**	B	D	C**	B	D
2QU6	C**	A, B	D	C**	A, B	D
2RL5		A, B	D		A, B	D
3B8Q		A, B	D		A, B	D
3B8R		A, B	D		A, B	D
3BE2		A, B	D		A, B	D
3C7Q	C**	B, B**	F, G	C**	B, B**	F, G
3CP9	C**	A, B		C**	A, B	
3CPB	C**	A, B	D	C**	A, B	D
3CPC	C**	A, B		C**	A, B	
3VHE		A, B			A, B	
3U6J		A, B	G		A, B	G
3VNT	C**	A, B	D	C**	A, B	D

Keterangan:

<i>Backbone Nitrogen:</i>	<i>Backbone Karbonil:</i>	<i>Non Backbone:</i>
Asp 1046 & Cys 1045 = A	Glu 915 & Phe 916 = C	Glu 885 = D
Asp 1044 & Cys 1043 = A*	Glu 917 & Phe 918 = C*	Glu 883 = D*
Phe 918 & Cys 919 = B	Cys 919 & Lys 920 = C**	Thr 916 = E
Phe 916 & Cys 917 = B*		Glu 850 = F
Glu 917 & Phe 918 = B**		Lys 868 = G
		Asn 921 = H

Pengamatan dilanjutkan dengan melihat jenis interaksi langsung *backbone* nitrogen dimana presentase interaksinya terbesar yaitu sekitar 96% dari 31 struktur kristal VEGFR2. Setelah penyesuaian nomor asam amino terdapat 3 jenis interaksi yang ada dalam interaksi langsung *backbone* nitrogen yaitu antara Asp 1046 dan Cys 1045 (interaksi A); antara Phe 918 dan Cys 919 (interaksi B); antara Glu 917 dan Phe 918 (interaksi B**). Interaksi yang ada didominasi oleh interaksi A dan interaksi B, dimana interaksi A sekitar 67% dan interaksi B sekitar 87%

Situs nitrogen ini dalam artikel ini dinamakan situs FS918 terkait letaknya yang diapit oleh asam amino fenilalanin dan sistein dengan nomor urut asam amino 918 (diambil nomor yang kecil). Dari 31 kristal struktur VEGFR2 terlihat bahwa 87% memiliki interaksi terhadap nitrogen pada situs FS918 ini, sehingga dapat dikatakan bahwa interaksi dengan nitrogen *backbone* pada situs FS918 merupakan interaksi penting bagi ligan penghambat VEGFR2.

Kesimpulan

Interaksi dengan *backbone* nitrogen pada situs FS918 merupakan interaksi penting bagi ligan VEGFR2. Interaksi ini ada sekitar 87% dari 31 kristal struktur VEGFR2 dan ligan penghambatnya yang dianalisis.

Ucapan Terima Kasih

Penulis berterima kasih kepada Enade P. Istyastono, Ph.D., Apt. (Kepala *Molecular Modeling Center* "MOLMOD.ORG" (www.molmod.org) Yogyakarta, Indonesia) untuk diskusi dan saran-saran yang diberikan selama penelitian berlangsung.

Daftar Pustaka

Folkman, J., Shing, Y., et al., 1992, *J.Biol.Chem*, 267(16):10931-4
 Cross, M.J., et al., 2003, *Trends.Biochem.Sci*, 28(9): 488-94

Ellis, L.M., Hicklin, D.J., et al., 2008, *Nat.Rev.Cancer*, 8(8): 579-91
 Kane, R.C., et al., 2009, *Oncologist*, 14(1): 95-100
 Goodman, V.L., et al., 2007, *Clin.Cancer.Res.* 13(5): 1367-73
 Morabito, A., et al., 2006, *Oncologist*, 11(7): 753-64
 Mctigue, M., Wickersham, J., Marrone, T., 2011, <http://www.pdb.org/>
 Mctigue, M., Murray, B.W., et al., 2012, *Proc.Natl.Acad.Sci.USA*, <http://www.pdb.org/>
 Hasegawa, M., Nishigaki, et al., 2007, *J.Med.Chem*, 50(8):4453-4470
 Harris, P.A., Boloor, A., et al., 2008, *J.Med.Chem*, 51(15):4632-4640
 Kunz, R.K., Rumfelt, S., et al., 2008, *J.Med.Chem*, 18(18):5115-5117
 Tasker, A.S., Patel, V.F., 2009, John Wiley & Sons.Inc, 113-130, <http://www.pdb.org/>
 Cee, V.J., Cheng, A.C., et al., 2009, *Bioorg.Med.Chem.Lett*, 19(2):424-427
 Iwata, H, Oki, H., et al., 2012, *Acs.Med.Chem.Lett*, 3:342-346
 Harris, P.A., Cheung, M., et al., 2005, *J.Med.Chem*, 48(5):1610-1619
 Miyazaki, Y., Matsunaga, S., et al., 2005, *Bioorg.Med.Chem.Lett*, 15(9):2203-2207
 Hodus, B.L., Geuns-Meyer, S.D., et al., 2007, *J.Med.Chem*, 50(4):611-626
 Potashman, M.H., Bready, J., et al., 2007, *J.Med.Chem*, 50(18):4351-4373
 La, D.S., Belzile, J., et al., 2008, *J.Med.Chem*, 51(6):1695-1705
 Harmange, J.C., Weiss, M.M., et al., 2008, *J.Med.Chem*, 51(6):1649-1667
 Weiss, M.M., Harmange, J.C., et al., 2008, *J.Med.Chem*, 51(6): 1668-1680

- Hiberg, F., Roth, G.J., et al., 2008, *Cancer Res*, 68(12):4774-4782
- Hu, E., Tasker, A., et al., 2008, *J.Med.Chem*, 51(11):3065-3068
- Oguro, Y., Miyamoto, N., et al., 2010, *Bioorg.Med.Chem*, 18(20):7260-7273
- Norman, M.H., Liu, L., et al., 2012, *Bioorg.Med.Chem*, 55(5):1858-1867
- Okinawa, M., Hirose, M., et al., 2012, *J.Med.Chem*, 55(7):3452-78
- DeLano, W.L., 2002, *The PyMOL User's Manual*, DeLano Scientific, Palo Alto, CA, USA

