



## Pengujian Pakis Kinca (*Nephrolepis Cordifolia* (L) C. Presl) Sebagai Inhibitor enzim sitokrom sub time 2E1 Dengan Metode Doking

Rizka Aulia Ramadani<sup>1</sup>, Elvina Astria Agustin<sup>2</sup> dan Samsul Hadi<sup>3</sup>

<sup>1,2,3</sup>Prodi Farmasi, FMIPA, Universitas Lambung Mangkurat

e-mail: <sup>1</sup>[rizkauliar25@gmail.com](mailto:rizkauliar25@gmail.com), <sup>2</sup>[elvinaastria18@gmail.com](mailto:elvinaastria18@gmail.com), <sup>3</sup>[samsul.hadi@ulm.ac.id](mailto:samsul.hadi@ulm.ac.id)  
(\* e-mail: [samsul.hadi@ulm.ac.id](mailto:samsul.hadi@ulm.ac.id) )

### Abstrak

CYP450 adalah enzim yang terlibat dalam monooksigenasi beragam senyawa asing dan endogen. Dari 57 enzim manusia, mungkin sepertiga bertanggung jawab metabolisme xenobiotik, termasuk obat-obatan. Penelitian ini menggunakan metode docking untuk melihat potensi senyawa yang terkandung dari *Nephrolepis Cordifolia* sebagai inhibitor CYP2E1. Doking yang dilakukan menggunakan senyawa yang terkandung dari *Nephrolepis Cordifolia*. Metode yang digunakan dalam docking adalah rigid docking menggunakan software autodock4. Analisis data yang digunakan adalah adanya ikatan hidrogen dan energi Gibbs. Hasil dari penelitian ini yaitu energi terendah adalah  $\beta$ -sitosterol dengan energi Gibbs -8.233 kcal/mol. Ikatan yang terbentuk adalah ikatan hidrofob. benzyl butyl phthalate,  $\beta$ -ionone, oleanolic acid terjadinya ikatan hidrofob. Myristic acid membentuk ikatan hidrogen dengan HIS 109. Eugenol membentuk ikatan hidrogen dengan THR303. Kesimpulan senyawa yang berpotensi sebagai inhibitor CYP2E1 adalah Myristic acid dan Eugenol.

**Kata kunci:** sitokrom P450, docking, eugenol

### Abstract

CYP450 is an enzyme involved in the monooxygenation of various foreign and endogenous compounds. Of the 57 human enzymes, perhaps one third are responsible for the metabolism of xenobiotics, including drugs. This research uses a docking method to see the potential of compounds contained in *Nephrolepis Cordifolia* as CYP2E1 inhibitors. Docking is carried out using compounds contained in *Nephrolepis Cordifolia*. The method used in docking is rigid docking using Autodock4 software. The data analysis used is the presence of hydrogen bonds and Gibbs energy. The results of this research are that the lowest energy is  $\beta$ -sitosterol with a Gibbs energy of -8,233 kcal/mol. The bonds formed are hydrophobic bonds. benzyl butyl phthalate,  $\beta$ -ionone, oleanolic acid hydrophobic bonds occur. Myristic acid forms hydrogen bonds with HIS 109. Eugenol forms hydrogen bonds with THR303. In conclusion, compounds that have the potential to act as CYP2E1 inhibitors are Myristic acid and Eugenol.

**Keywords:** cytochrome P450, docking, eugenol.

## 1. Pendahuluan

Enzim dalam superfamili sitokrom P450 (CYP) adalah enzim yang terlibat dalam monooksigenasi beragam senyawa asing dan endogen. Dari 57 enzim manusia di keluarga ini, mungkin sepertiga bertanggung jawab metabolisme xenobiotik, termasuk obat-obatan. Namun, beberapa enzim ini juga mempunyai peran metabolisme senyawa penting senyawa endogen. Sitokrom P450 2E1(CYP2E1) termasuk dalam kelas ini [1]. CYP2E1 mungkin paling dikenal karena kemampuannya untuk mengoksidasi senyawa xenobiotik seperti etanol, pengobatan alkoholisme disulfiram (Antabuse), dan analgesik asetaminofen. Faktanya, kerja CYP2E1 pada asetaminofen menciptakan metabolit yang bertanggung jawab atas hepatotoksitas dan kematian pada kasus overdosis asetaminofen. Namun, CYP2E1 juga diketahui mengoksidasi asam lemak endogen, termasuk lipid yang terkait dengan mekanisme pensinyalan seperti asam arakidonat dan asam epoksieicosatrienoic [2]. Khususnya, investigasi biokimia telah mengungkapkan bahwa CYP2E1 dapat mengikat sejumlah lemak berukuran sedang asam dan mengkatalisis hidroksilasi asam lemak jenuh dan epoksidasi alkena asam lemak tak jenuh. Metabolisme asam lemak oleh CYP juga dapat terjadi penting dalam menjaga homeostatis kadar asam lemak [3].

Peran CYP2E1 dalam metabolisme molekul-molekul ini mungkin terkait kait dengan regulasinya oleh kondisi penyakit seperti obesitas dan diabetes pada model tikus. Ada banyak informasi biokimia tentang metabolisme asam lemak oleh enzim CYP mamalia tetapi tidak informasi struktural hingga saat ini. Informasi struktur terdekat yang ada saat ini adalah domain P450 dari asam lemak hidroksilase *Bacillus megaterium* (BM3) terikat pada asam palm-mitoleat, N-palmitoylglycine, atau N-(10-imidazolyl-dodecanoyl)-L-leucine [4]. Dalam ketiga kasus tersebut, hidrokarbon rantai memanjang keluar dari situs aktif dalam sebagian besar hidrofobik saluran menuju loop antara heliks F dan G. Baru baru ini telah berhasil dikristalkan struktur pertama CYP2E1, dengan indazol atau dengan 4-metilpirazol. struktur ini menunjukkan situs aktif kecil yang tidak cukup untuk mengikat lemak senyawa asam. Namun, dua rongga yang berdekatan teramati, kekosongan tertutup kecil dan saluran berliku-liku yang memanjang ke permukaan, mirip dengan yang diamati untuk BM3 [5].

Asam oleanolic dari *Nephrolepis Cordifolia* merupakan terpenoid pentasiklik yang ditemukan pada tumbuhan dalam bentuk asam bebas dan glikosida saponin triterpenoid. Banyak penelitian pada hewan menunjukkan bahwa asam oleanolic memainkan peran penting dalam melindungi terhadap kerusakan hati yang disebabkan oleh CCl<sub>4</sub>, phalloidin, asetaminofen, dan obat lain dengan menurunkan kadar transaminase darah, sehingga mencegah nekrosis sel hati [6]. Kerusakan hati akut pada hati adalah penyakit yang berpotensi fatal yang ditandai dengan kaugolopati. Hal ini dapat disebabkan oleh berbagai macam penyebab seperti virus, alkohol, dan bahan kimia. Gal N (d-Galactosamine) adalah obat hepatotoksik yang mengkonsumsi UTP (uridine triphosphate) konsentrasi tinggi untuk memblokir sintesis rna dan protein terkait di hati, menyebabkan peradangan dan nekrosis hati. Lps (lipopolisakarida) merangsang sel-sel kekebalan tubuh, yang melepaskan berbagai zat inflamasi, menyebabkan apoptosis dan nekrosis sel-sel hati di hati. Dalam sebuah penelitian, ditunjukkan bahwa turunan beta-sitosterol, bila diberikan dalam konsentrasi berbeda (12,5mg/kg) dan (50mg/kg), membantu terapi dan mampu mengurangi nekrosis sel hati yang disebabkan oleh lipopolisakarida dan d-Galaktosamin [7]. Berdasarkan urian diatas maka *Nephrolepis Cordifolia* berpotensi sebagai inhibitor CYP2E2.

## 2. Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode docking untuk melihat potensi senyawa yang terkandung dari *Nephrolepis Cordifolia* sebagai inhibitor CYP2E1. Docking yang dilakukan menggunakan senyawa yang terkandung dari *Nephrolepis Cordifolia*. Metode yang digunakan

dalam docking adalah rigid docking menggunakan software autodock4. Analisis data yang digunakan adalah adanya ikatan hidrogen dan enrgy Gibbs.

### 3. Hasil dan Pembahasan

Senyawa turunan asam lemak mempunyai afinitas tinggi dan memberikan karakteristik pergeseran spektral yang menunjukkan ikatan nitrogen langsung dengan besi heme CYP4A1. Meskipun CYP2E1 mengoksidasi asam lemak dengan panjang rantai dari C9 hingga C20, asam lemak yang paling cepat teroksidasi untuk CYP4A1 dan CYP2E1 adalah asam laurat [8]. Hal ini menunjukkan bahwa ligand yang dirancang untuk secara fungsional menyelidiki situs aktif CYP4A1 mungkin juga berikatan dengan CYP2E1, sehingga memberikan spektral untuk mode pengikatan senyawa asam lemak dalam enzim manusia ini, menstabilkan interaksi CYP2E1-asam lemak, dan meningkatkan kelarutan senyawa asam lemak kokristalisasi [9].

Analog asam lemak dengan rantai hidrokarbon memanjang berturut-turut disintesis, afinitas pengikatannya ditentukan, dan struktur diselesaikan dengan tiga senyawa di situs aktif CYP2E1. Struktur yang dihasilkan mengidentifikasi mode pengikatan asam lemak karboksilat yang berbeda dari yang disarankan oleh struktur BM3 [10]. Perbandingan struktur CYP2E1 baru ini dengan struktur yang memiliki molekul kecil di situs aktif menunjukkan akomodasi struktural yang diperlukan untuk memfasilitasi pengikatan CYP2E1 dari dua kelas senyawa yang berbeda [11].

**Tabel 1. Skor docking**

Senyawa	Skor docking
$\beta$ -sitosterol	-8.233
fern-9(11)-ene	-1.372
$\beta$ -ionone	-6.593
benzyl butyl phthalate	-7.517
oleanolic acid	-1.668
Myristic acid	-6.575
Eugenol	-5.377
native	-6.251

Berdasarkan Tabel 1, 2 dan Gamabr 1 diperoleh energi terendah adalah  $\beta$ -sitosterol dengan energi Gibbs -8.233 kcal/mol. Ikatan yang terbentuk adalah ikatan hidrofob. benzyl butyl phthalate,  $\beta$ -ionone, oleanolic acid terjadiny ikatan hidrofob. Myristic acid membentuk ikatan hidrogen dengan HIS 109. Eugenol membentuk ikatan hidrogen dengan THR303.

Pengikatan asam lemak dalam enzim sitokrom P450 terbatas pada enzim bakteri terlarut BM3 (CYP102A1), P450 BioI (CYP107H), dan P450BS (CYP152A1). Asam lemak dan analognya telah dikokristalisasi dengan BM3 dan menempati saluran yang memanjang dari situs aktif ke permukaan protein yang berdekatan dengan heliks B dan heliks A [12]. Asam lemak telah dihipotesiskan berikatan dengan CYP2E1 dalam mode pengikatan yang sama, dan struktur pertama CYP2E1 mengungkapkan saluran yang dipisahkan dari situs aktif CYP2E1 kecil oleh satu rantai samping Phe yang pada dasarnya mungkin fleksibel. Terletak di saluran pada jarak yang tepat dari besi adalah potongan residu 216QXXNN220 yang dilestarikan yang bertindak sebagai donor ikatan hidrogen ke karboksilat substrat asam lemak untuk mengarahkannya dengan (-1)-karbon di situs aktif untuk metabolisme [13].

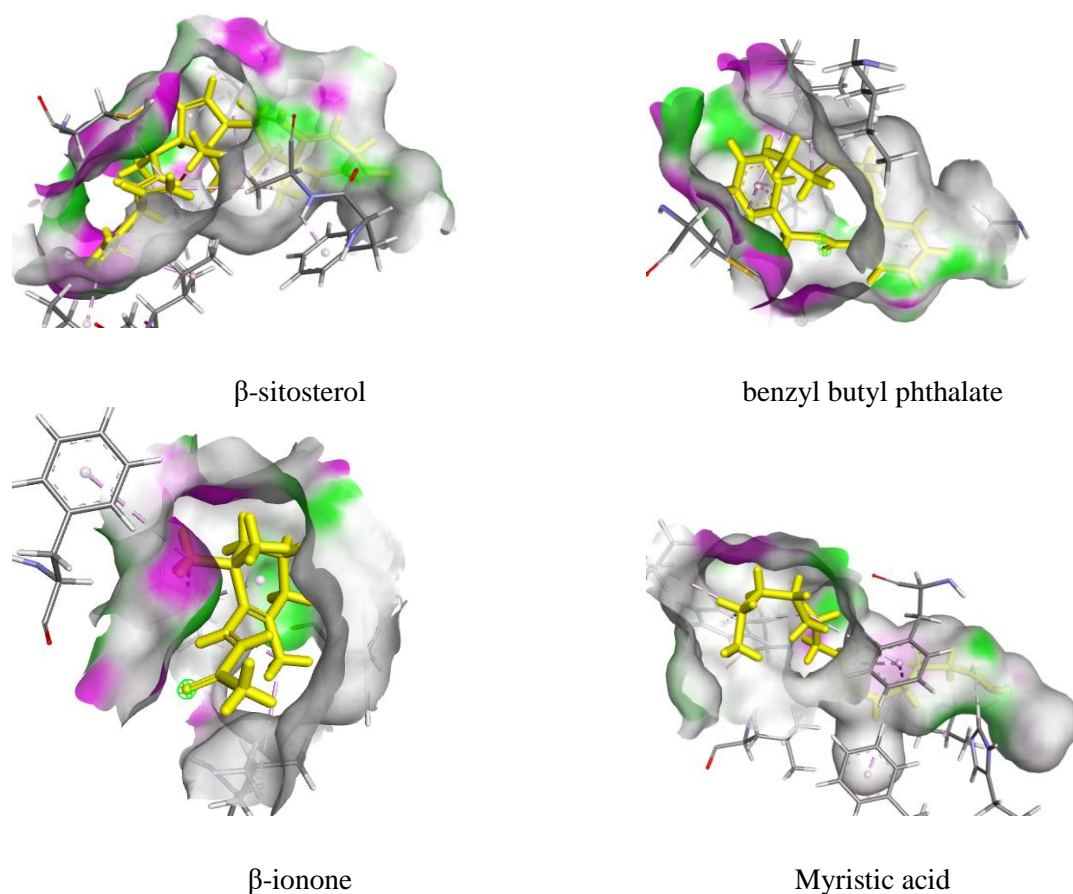
Namun, dalam struktur saat ini tidak ada kerapatan elektron yang mendukung pengikatan analog asam lemak di saluran ini. Sebaliknya analog ini diorientasikan dengan cara yang sangat berbeda. Perbandingan struktur BM3 dan struktur dodekanoik CYP2E1 saat ini menggambarkan perbedaan dalam mode pengikatan. Kedua protein tersebut mengikat analog asam lemak dalam orientasi yang sangat berbeda [14]. Ligan-ligan ini berorientasi pada arah yang berlawanan satu sama lain di situs aktif enzim. Kedua enzim mengkatalisis hidroksilasi subterminal asam lemak (CYP2E1 terutama -1 dan BM3 terutama -2 tetapi juga -1 dan -3). Jadi, meskipun fungsi protein-protein ini sangat mirip, solusi struktural untuk pengikatan asam lemak dan metabolismenya berbeda. Enzim CYP4A adalah asam lemak penting dan -1 hidroksilase, dan tidak diketahui mode pengikatan mana yang dapat diterapkan untuk enzim ini [15].

Struktur kompleks asam lemak juga dikenal dengan P450BioI, protein yang terlibat dalam sintesis biotin yang secara berurutan menghidroksilasi atom C7 dan C8 rantai tengah untuk melakukan pembelahan oksidatif. Struktur menunjukkan bahwa ligan asam lemak dengan berbagai panjang yang terikat pada protein pembawa asil mengadopsi bentuk U untuk memposisikan atom C7 dan C8 di atas heme. Perbandingan struktur ini dengan struktur 2E1 saat ini mengungkapkan bahwa kelompok kepala ligan P450BioI memanjang dari ligan aktif situs dalam arah umum saluran asli di 2E1 dan mirip dengan ligan asam lemak di BM3. Pada P450BioI ujung rantai alkil memanjang agak ke arah analog asam lemak pada 2E1 [16]. Terakhir, struktur juga tersedia untuk P450BS, suatu peroksidase asam lemak rantai panjang yang menghidroksilasi atom dan pada ujung karboksilat asam lemak. Konsisten struktur dengan asam palmitat menunjukkan atom ligan C dan C yang terletak 5–6 Å dari besi heme dengan rantai alkil memanjang dari situs aktif yang kira-kira merupakan saluran di CYP2E1. Jadi mode pengikatan yang diamati untuk CYP2E1, dengan karboksilat yang terletak di antara heliks G, I, dan B, merupakan mode pengikatan yang berbeda dibandingkan yang diamati sejauh ini untuk enzim sitokrom P450 yang memetabolisme asam lemak [17].

**Tabel 2. Residu yang terlibat dalam interaksi**

Senyawa	Skor docking
$\beta$ -sitosterol	A ARG 100 A PHE 106 A ILE 114 A ILE 115 A TRP 122 A PHE 203 A PHE 207 A LEU 210 A LEU 296 A PHE 298 A ALA 299 A GLU 302 A THR 303 A VAL 364 A ASN 367 A LEU 368 A PRO 429 A PHE 430 A SER 431 A ARG 435 A VAL 436 A CYS 437 A ALA 438 A GLY 439 A PHE 478
fern-9(11)-ene	A ILE 114 A ILE 115 A PHE 116 A PHE 207 A ASP 295 A LEU 296 A PHE 298 A ALA 299 A GLY 300 A THR 303 A LEU 363 A VAL 364 A PRO 365 A LEU 368 A PHE 430 A VAL 436 A CYS 437 A ALA 438 A GLY 439 A PHE 478 A GLY 479
$\beta$ -ionone	A ILE 115 A PHE 207 A ALA 299 A THR 303 A LEU 363 A VAL 364 A LEU 368 A PRO 429 A PHE 430 A CYS 437 A PHE 478
benzyl butyl phthalate	A ILE 115 A PHE 116 A PHE 207 A PHE 298 A ALA 299 A GLU 302 A THR 303 A THR 306 A LEU 363 A VAL 364 A ASN 367 A LEU 368 A PRO 429 A PHE 430 A SER 431 A VAL 436 A CYS 437 A PHE 478
oleanolic acid	A ILE 115 A LEU 133 A ILE 180 A PHE 207 A ASP 295 A LEU 296 A PHE 298 A ALA 299 A GLY 300 A THR 303 A VAL 364 A ASN 367 A LEU 368 A LEU 393 A PRO 429 A

Myristic acid	PHE 430 A SER 431 A CYS 437 A ALA 438 A GLY 439 A GLU 440 A LEU 442 A ALA 443 A PHE 478 A PHE 106 A HIS 109 A PHE 203 A ASN 206 A PHE 207 A LEU 210 A VAL 235 A ASN 238 A VAL 239 A VAL 242 A LYS 243 A ALA 294 A PHE 298 A ALA 299 A GLU 302 A THR 303 A LEU 363 A VAL 364 A PHE 478
Eugenol	A ILE 115 A PHE 116 A PHE 207 A PHE 298 A ALA 299 A THR 303 A LEU 363 A VAL 364 A LEU 368 A PHE 430 A CYS 437 A PHE 478
native	A PHE 106 A HIS 109 A PHE 203 A ASN 206 A PHE 207 A LEU 210 A VAL 235 A VAL 239 A VAL 242 A LYS 243 A ALA 294 A PHE 298 A ALA 299 A GLU 302 A THR 303 A LEU 363 A VAL 364 A PHE 478



**Gambar 1. Struktur 3 dimensi antara ligand dan protein sitokrom 2 E1**

#### 4. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian senyawa yang terkandung dari *Nephrolepis Cordifolia*, senyawa yang berpotensi sebagai inhibitor CYP2E1 adalah Myristic acid dan Eugenol

**Daftar Pustaka**

- [1] O. Sari, "ANALISIS POLIMORFISME CYP2D6\*4 DAN CYP2D6\*10 SEBAGAI METABOLIZER PRIMAKUIN DI RSUD JAYAPURA PAPUA INDONESIA," *Med. Kartika J. Kedokt. dan Kesehat.*, pp. 168–181, Mar. 2021, doi: 10.35990/mk.v4n2.p168-181.
- [2] G.-H. Lee *et al.*, "Catalytic enhancements in cytochrome P450 2C19 by cytochrome b5," *Toxicol. Res.*, vol. 40, Jan. 2024, doi: 10.1007/s43188-023-00219-8.
- [3] P. Koroleva and V. Shumyantseva, "Comparative Analysis of Bioelectrocatalytic Cytochrome P450 3A4 Systems," *Biomed. Chem. Res. Methods*, vol. 7, p. e00210, Feb. 2024, doi: 10.18097/BMCRM00210.
- [4] S. Burris-Hiday and E. Scott, "Allosteric Modulation of Cytochrome P450 Enzymes by the NADPH Cytochrome P450 Reductase FMN-containing domain," *J. Biol. Chem.*, vol. 299, p. 105112, Jul. 2023, doi: 10.1016/j.jbc.2023.105112.
- [5] M. Ishida *et al.*, "Mechanism Underlying Conflicting Drug-Drug Interaction Between Aprepitant and Voriconazole via Cytochrome P450 3A4-Mediated Metabolism," *Yonago Acta Med.*, vol. 67, Jan. 2024, doi: 10.33160/yam.2024.02.004.
- [6] Y. Tateishi *et al.*, "Proteomics, modeling, and fluorescence assays delineate cytochrome b5 residues involved in binding and stimulation of cytochrome P450 17A1 17,20-lyase," *J. Biol. Chem.*, vol. 300, p. 105688, Jan. 2024, doi: 10.1016/j.jbc.2024.105688.
- [7] E. Zaroug, T. Ahmed Albashir, A. Arbab, and M. Eltahir, "Updates on the Interactions of Herbs Constituents with Cytochrome P450 Drug Metabolizing Enzymes," *Curr. Enzym. Inhib.*, vol. 19, Jun. 2023, doi: 10.2174/1573408019666230601121657.
- [8] J. Jastrzębska and W. Daniel, "Cocaine-Induced Time-Dependent Alterations in Cytochrome P450 and Liver Function," *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 24, p. 1632, Jan. 2023, doi: 10.3390/ijms24021632.
- [9] O. Pashanova, E. Zubko, R. Aringazina, and A. Yumashev, "The effects of vitamins C and E on the redox parameters of cytochrome P450 3A4," *Zeitschrift für Phys. Chemie*, vol. 237, Oct. 2023, doi: 10.1515/zpch-2023-0303.
- [10] J. W. Guo and Y.-P. Cheng, "A Promising Approach to Treat Psoriasis: Inhibiting Cytochrome P450 3A4 Metabolism to Enhance Desoximetasone Therapy," *Pharmaceutics*, vol. 15, p. 2016, Jul. 2023, doi: 10.3390/pharmaceutics15082016.
- [11] V. Shumyantseva, P. Koroleva, T. Bulko, T. Shkel, A. Gilep, and A. Veselovsky, "Approaches for increasing the electrocatalytic efficiency of cytochrome P450 3A4," *Bioelectrochemistry*, vol. 149, p. 108277, Sep. 2022, doi: 10.1016/j.bioelechem.2022.108277.
- [12] F. Frati, G. Torello, and G. Cara, "Cytochrome p450 and innovative nutraceutical products," *J. Biol. Res. - Boll. della Soc. Ital. di Biol. Sper.*, Mar. 2024, doi: 10.4081/jbr.2024.11721.
- [13] J. Cheng *et al.*, "Cloning and Functional Characterization of NADPH-Cytochrome P450 Reductases in *Aconitum vilmorinianum*," *Molecules*, vol. 28, p. 7409, Nov. 2023, doi: 10.3390/molecules28217409.
- [14] S. Kaito *et al.*, "Utility of human cytochrome P450 inhibition data in the assessment of drug-induced liver injury," *Xenobiotica*, pp. 1–30, Feb. 2024, doi: 10.1080/00498254.2024.2312505.
- [15] F. Rwere, "The FMN '140s Loop' of Cytochrome P450 Reductase Controls Electron Transfer to Cytochrome P450," *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 22, Sep. 2021, doi: 10.3390/ijms221910625.
- [16] D.-R. Kim, S. Lee, and Y.-S. Kwak, "Unraveling the Role of Cytochrome P450 as a Key Regulator Lantipeptide Production in *Streptomyces globisporus*," *plant Pathol. J.*, vol. 39, pp. 566–574, Dec. 2023, doi: 10.5423/PPJ.OA.08.2023.0119.
- [17] S. Takeji *et al.*, "Metabolism of testosterone and progesterone by cytochrome P450 2C19 allelic variants," *Biopharm. Drug Dispos.*, vol. 44, Oct. 2023, doi: 10.1002/bdd.2378.