

# Potensi anti-kanker payudara tanaman songga (*Strychnos lucida* R.Br): Tinjauan interaksi molekuler terhadap reseptor estrogen- $\alpha$ *in silico*

Muhammad Andre Reynaldi<sup>1</sup>, Arif Setiawansyah<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup> Departemen Farmakokimia, Sekolah Farmasi, Institut Teknologi Bandung, Bandung, Indonesia.

<sup>2</sup> Departemen Biologi Farmasi, Sekolah Farmasi, Institut Teknologi Bandung, Bandung, Indonesia.

DOI: <https://doi.org/10.29303/sjp.v3i1.149>

## Article Info

Received : 2022-02-25

Revised : 2022-04-14

Accepted : 2022-04-25

**Abstract:** Songga (*Strychnos lucida* R.Br) is a plant that has potential to be developed as an anti-breast cancer. This study was conducted to predict the secondary metabolite derived from songga, which is potential as anti-breast cancer through inhibition of estrogen receptor- $\alpha$ . A molecular docking study was performed using Autodock Vina assisted by AutodockTool and Biovia Discovery Studio. The study used estrogen receptor- $\alpha$  as a protein and ten compounds from songga as ligands. The 3D structure of estrogen receptor- $\alpha$  and ten ligands were obtained from Protein Data Bank and the PubChem database. The result revealed that strychnine N-oxide is the compound that has the lowest free binding energy and inhibition constant with the value of 9.6 kcal/mol and 0.09  $\mu$ M, respectively. This indicated that strychnine N-oxide has an excellent affinity for estrogen receptor- $\alpha$ . Thus, this compound is predicted to inhibit the estrogen receptor- $\alpha$  and can be developed as anti-breast cancer. However, further investigations such as molecular dynamics simulation, *in vitro* and *in vivo* assays should be undertaken.

**Keywords:** Songga, *Strychnos lucida*, breast cancer, estrogen receptor- $\alpha$

**Citation:** Reynaldi, M. A., & Setiawansyah, A. (2022). Potensi anti-kanker payudara tanaman songga (*Strychnos lucida* R.Br): Tinjauan interaksi molekuler terhadap reseptor estrogen- $\alpha$  *in silico*. *Sasambo Journal of Pharmacy*, 3(1), 30-35. <https://doi.org/10.29303/sjp.v3i1.149>

## Pendahuluan

Kanker payudara merupakan salah satu tipe malignan yang menjadi penyebab utama kematian wanita di seluruh dunia (Jemal et al., 2011). Kanker payudara disebabkan oleh pertumbuhan sel yang tidak normal pada jaringan payudara. Sel kanker ini terus mengalami proliferasi akibat dari ketidakseimbangan hormon dalam tubuh (Matsuo et al., 2018). Salah satu hormon yang dianggap memainkan peran penting dalam mempromosikan proliferasi epitel payudara adalah estrogen (Russo & Russo, 2006). Sekresi yang tidak normal dan hiperaktivitas estrogen akan menyebabkan terjadinya perkembangan sel kanker payudara (Bai & Gust, 2009; Paterni et al., 2014). Hal ini

disebabkan oleh terjadinya aktivasi reseptor estrogen yang memicu aktifnya protein ko-aktivator SRC-3 sehingga terjadi peningkatan replikasi dan proliferasi sel kanker (Eroles et al., 2012).

Saat ini, penanganan kanker payudara umumnya dilakukan dengan kemoterapi, radioterapi, terapi hormon, dan pembedahan (Waks & Winer, 2019). Namun, penggunaan jenis-jenis terapi tersebut masih belum efektif untuk penanganan sebagian besar pasien kanker payudara stadium tinggi (Ko & Moon, 2015). Beberapa studi dilaporkan telah menemukan jalur pengobatan yang diperkirakan efektif pada penanganan kanker payudara, salah satunya adalah penargetan pada reseptor estrogen alfa (ER- $\alpha$ ) (Busonero et al., 2017; Cazzaniga & Bonanni, 2012).

Email: [arif12.setiawansyah@gmail.com](mailto:arif12.setiawansyah@gmail.com) (\*Corresponding Author)

Penanganan kanker payudara dengan menargetkan ER- $\alpha$  sebagai target terapi menjadi sangat penting, mengingat 70% pasien kanker payudara terdiagnosis ER- $\alpha$  positif (Leon-Ferre et al., 2018). Umumnya, penanganan pasien kanker payudara ER- $\alpha$  positif diberi terapi endokrin seperti tamoxifen dan fulvestrant. Namun, penggunaan kedua obat ini memiliki banyak efek samping terhadap berbagai organ dan sering mengakibatkan resistensi terapi dan kekambuhan tumor (Ciruelos et al., 2014). Sehingga, upaya pencarian agen anti-kanker payudara yang bekerja pada penghambatan ER- $\alpha$  yang lebih efektif dan aman perlu dilakukan.

Songga (*Strychnos lucida* R.Br) merupakan salah satu tanaman yang berpotensi untuk dikembangkan sebagai agen anti-kanker payudara. Potensi anti-kanker tanaman songga pertama kali dilaporkan oleh Sarmiento et al. (2015). Songga dapat menghambat sel kanker HepG2, HuCCA-1, A549 dan MOLT-3 (Sarmiento et al., 2015). Namun, aktivitas anti-kanker tanaman songga pada sel kanker lain, terutama pada kanker payudara, hingga saat ini belum diteliti.

Sebagai langkah awal, sangat penting untuk melakukan evaluasi potensi anti-kanker tanaman songga dan mengidentifikasi metabolit sekunder yang berperan sebagai anti-kanker payudara dengan bantuan penambatan molekuler pada ER- $\alpha$ . Hal ini dapat membantu dalam mengarahkan penemuan kandidat obat baru untuk penanganan kanker payudara. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengevaluasi dan memprediksi metabolit sekunder tanaman songga yang berpotensi sebagai agen anti-kanker payudara melalui inhibisi terhadap ER- $\alpha$  secara *in silico*.

## Metode

### Hardware dan software

Penelitian dilakukan menggunakan komputer dengan spesifikasi Windows 10 Pro 64-bit, prosesor Intel® Core™ i3-4030U 1.9 GHz CPU, RAM 10 GB dan 2 GB NVIDIA Gforce VGA. Adapun perangkat lunak yang digunakan adalah AutodockVina (v1.2.0) (AutoDock Vina (scripps.edu)), Biovia Discovery Studio (<https://discover.3ds.com>), MGL Tools (<https://ccsb.scripps.edu/mgltools>) dan Notepad++ (<https://notepad-plus-plus.org>).

### Preparasi dan analisis ligan

Ligan yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari studi literatur. Adapun ligan yang digunakan adalah *beta-colubrine*, *brucine*, *brucine N-oxide*, *chlorogenic acid*, *diaboline*, *loganin*, *phyllamycin A*, *secoxyloganin*, *strychnine*, dan *strychnine N-oxide* (Itoh et al., 2006; Manurung et al., 2019; Setiawan & Rostiwati, 2014). Semua ligan dianalisis berdasarkan aturan

Lipinski dengan menilai sifat kimia dari ligan seperti H donor, H aseptor, dan log P (Lipinski, 2004). Struktur 3D ligan diperoleh dari database PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>)

### Preparasi protein

Protein target yang digunakan pada penelitian ini adalah protein reseptor estrogen (PDB ID: 3ERT) yang diperoleh dari Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org>). Pemilihan protein dilakukan dengan kriteria pemilihan yaitu resolusi <2.5 Å *X-ray diffraction* dengan nilai mutasi nol. Protein yang diperoleh kemudian dipreparasi menggunakan perangkat lunak BIOVA Discovery Studio untuk menghilangkan komponen-komponen tidak diinginkan seperti air, ligan, dan heteroatom hingga diperoleh struktur polos dari protein.

### Penambatan molekuler

Studi penambatan molekuler dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak AutoDock Vina dibantu dengan AutoDockTools (Trott & Olson, 2010). Sisi aktif protein ditentukan dengan mengikuti lokasi ikatan dari ligan alami protein target. Pada struktur 3D protein target, dilakukan penambahan atom hidrogen (*polar only*). Sedangkan pada struktur 3D ligan, nodus tengah dan *rotatable bonds* dipilih dan disimpan dalam bentuk PDBQT. Pada preparasi gridbox, sisi aktif dipilih mengikuti sisi aktif ligan natif dari protein dengan penyesuaian dimensi gridbox x, y dan z 40 x 40 x 40 dengan spasi 0.375Å. Proses docking menggunakan Lamarckian Genetic Algorithm (LGA) dan parameter Genetic Algorithm (GA) diset pada 100 run dengan ukuran populasi 150; *number of evaluations* 2.500.000; *number of generations* 27.000 dengan *rate* mutasi dan *crossover default*.

## Hasil dan Pembahasan

### Analisis ligan

Seperti yang ditunjukkan pada **Tabel 1**, semua senyawa uji memenuhi kriteria dari aturan Lipinski yaitu memiliki berat molekul <500, H donor <5, H aseptor <10 dan log P <5. Hal ini menunjukkan bahwa semua senyawa uji diprediksi memiliki sifat *drug-likeness*. Sifat ini mengacu pada kesamaan suatu senyawa terhadap sifat-sifat yang dimiliki obat oral (Lipinski, 2004). Dengan demikian, sifat-sifat seperti adsorpsi, distribusi, dan permeabilitas dari semua senyawa uji mirip dengan obat oral.

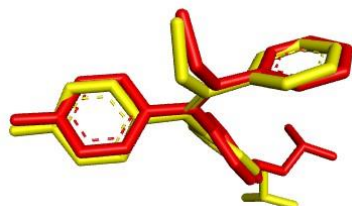
### Validasi metode penambatan molekuler

Tahap awal pada penambatan molekuler adalah dengan melakukan validasi metode penambatan molekuler. Proses validasi ini dilakukan dengan *re-*

*docking* ligan natif terhadap protein target, reseptor estrogen- $\alpha$  (3ERT). Metode dikatakan valid apabila nilai RMSD dari hasil *re-docking*  $<2 \text{ \AA}$  (Morris et al., 2009). Nilai RMSD yang diperoleh dari *re-docking* yaitu  $1.2 \text{ \AA}$ . Hal ini menunjukkan bahwa metode penambatan molekuler dikatakan valid. Adapun konformasi struktur hasil *re-docking* ligan natif dapat dilihat pada **Gambar 1**.

**Tabel 1.** Hasil skrining aturan Lipinski metabolit sekunder tanaman songga

Ligan	BM	H donor	H aseptor	Log P
Loganin	390.4	5	10	-1.4
Phyllamycin A	394.4	0	7	4
Strychnine N-oxide	350.4	0	3	1.4
Strychnine	334.4	0	3	1.9
Secoxyloganin	404.4	5	11	-1.6
Diaboline	352.4	1	4	0.7
Cholorogenic acid	354.31	6	9	-0.4
Brucine	394.5	0	5	1
Brucine N-oxide	410.5	0	5	0.4
Beta colubrine	365.4	0	4	1.9



**Gambar 1.** Visualisasi hasil validasi metode penambatan molekuler; *re-docking* ligan natif 3ERT (catatan: warna kuning adalah ligan natif awal, merah ligan natif hasil *re-docking*)

Setelah metode penambatan molekuler tervalidasi, dilakukan evaluasi ligan uji terhadap protein reseptor estrogen- $\alpha$ . Proses penambatan molekul ligan uji dilakukan dengan mengikuti parameter yang telah valid dari *re-docking* ligan natif. Untuk memperoleh ligan terbaik, hasil skrining yang diperoleh dari penambatan molekuler dianalisis lebih lanjut dengan menilai energi bebas ikatan dari masing-masing ligan. Ligan uji yang memiliki energi bebas ikatan lebih kecil dari ligan natif mengindikasikan bahwa ligan tersebut memiliki afinitas yang lebih baik terhadap reseptor dibandingkan dengan ligan natif (Muttaqin et al., 2020). Selain itu, analisis juga dilakukan dengan mengamati interaksi molekuler yang terjadi antara ligan uji dan residu asam amino pada reseptor. Hasil penambatan molekuler dapat dilihat pada **Tabel 2**.

Berdasarkan **Tabel 2**, terlihat bahwa tiap ligan memiliki energi bebas ikatan dan konstanta inhibisi yang berbeda terhadap reseptor estrogen- $\alpha$ . Hal ini menandakan bahwa tiap ligan memiliki afinitas yang berbeda-beda. *Strychnine* dan *strychnine N-oxide* merupakan dua senyawa yang memiliki energi bebas ikatan paling kecil di antara senyawa lain serta paling mendekati energi bebas ikatan dari ligan natif, *4-hydroxytamoxifen*. Hal ini mengindikasikan bahwa kedua senyawa ini memiliki afinitas yang hampir sama dengan afinitas ligan natif terhadap reseptor estrogen- $\alpha$ .

**Tabel 2.** Hasil penambatan molekuler metabolit sekunder tanaman songga terhadap reseptor estrogen- $\alpha$

Ligan	Energi bebas ikatan (kkal/mol)	Konstanta inhibisi ( $\mu\text{M}$ )	Jumlah residu asam amino
Loganin	-7,2	5,21	18
Phyllamycin A	-6,7	12,12	12
Strychnine n-oxide	-9,6	0,09	18
Strychnine	-9,4	0,13	17
Secoxyloganin	-7,0	7,30	21
Diaboline	-8,7	0,41	11
Cholorogenic acid	-7,3	4,40	20
Brucine	-7,5	3,14	12
Brucine N-oxide	-7,7	2,24	13
Beta colubrine	-8,3	0,81	11
4-hydroxytamoxifen	-9,9	0,05	22

Potensi dari suatu senyawa dalam berikatan dengan suatu protein juga dipengaruhi oleh interaksi yang terjadi antara senyawa uji dengan residu asam amino. Pada **Gambar 2**, terlihat bahwa *strychnine* dan *strychnine N-oxide* dapat berikatan pada sisi aktif ligan natif *4-hydroxytamoxifen* pada reseptor estrogen- $\alpha$  dan berinteraksi dengan asam amino-asam amino penting pada reseptor tersebut. Namun, terdapat sedikit perbedaan interaksi langsung dari *strychnine* dan *strychnine N-oxide* dengan residu asam amino pada sisi aktif reseptor. *Strychnine N-oxide* hanya berinteraksi dengan LEU391, LEU387, ALA350 dan THR317. Sedangkan *strychnine* berinteraksi dengan LEU391, LEU387, LEU525, LEU346, ALA350 dan MET421. Hal inilah yang menyebabkan adanya perbedaan afinitas antara kedua senyawa dengan reseptor estrogen- $\alpha$ . Ikatan-ikatan ini terjadi dengan melibatkan beberapa jenis ikatan seperti hidrogen, Van der Waals, dan alkil. Afriza et al. (2018) melaporkan bahwa interaksi-interaksi tersebut memainkan peran penting terhadap stabilitas ikatan antara ligan dengan protein.

Selain itu, konstanta inhibisi juga menjadi salah satu parameter dalam menilai afinitas ikatan antara





- Cazzaniga, M., & Bonanni, B. (2012). Breast cancer chemoprevention: old and new approaches. *Journal of Biomedicine & Biotechnology*, 2012, 985620. <https://doi.org/10.1155/2012/985620>
- Ciruelos, E., Pascual, T., Arroyo Vozmediano, M. L., Blanco, M., Manso, L., Parrilla, L., Muñoz, C., Vega, E., Calderón, M. J., Sancho, B., & Cortes-Funes, H. (2014). The therapeutic role of fulvestrant in the management of patients with hormone receptor-positive breast cancer. *Breast (Edinburgh, Scotland)*, 23(3), 201-208. <https://doi.org/10.1016/j.breast.2014.01.016>
- Eroles, P., Bosch, A., Pérez-Fidalgo, J. A., & Lluch, A. (2012). Molecular biology in breast cancer: intrinsic subtypes and signaling pathways. *Cancer Treatment Reviews*, 38(6), 698-707. <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2011.11.005>
- Itoh, A., Tanaka, A. Y., & Nagakura, A. N. (2006). A quinic acid ester from *Strychnos lucida*. 146-148. <https://doi.org/10.1007/s11418-005-0021-3>
- Jemal, A., Bray, F., & Ferlay, J. (2011). Global Cancer Statistics: 2011. *CA Cancer J Clin*, 49(2), 1,33-64. <https://doi.org/10.3322/caac.20107>. Available
- Ko, E.-Y., & Moon, A. (2015). Natural Products for Chemoprevention of Breast Cancer. *Journal of Cancer Prevention*, 20(4), 223-231. <https://doi.org/10.15430/JCP.2015.20.4.223>
- Leon-Ferre, R. A., Polley, M.-Y., Liu, H., Gilbert, J. A., Cafourek, V., Hillman, D. W., Elkhanany, A., Akinhanmi, M., Lilyquist, J., Thomas, A., Negron, V., Boughey, J. C., Liu, M. C., Ingle, J. N., Kalari, K. R., Couch, F. J., Visscher, D. W., & Goetz, M. P. (2018). Impact of histopathology, tumor-infiltrating lymphocytes, and adjuvant chemotherapy on prognosis of triple-negative breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment*, 167(1), 89-99. <https://doi.org/10.1007/s10549-017-4499-7>
- Lipinski, C. A. (2004). Lead- and drug-like compounds: the rule-of-five revolution. *Drug Discovery Today: Technologies*, 1(4), 337-341. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ddtec.2004.11.007>
- Manurung, H., Sari, R. K., Syafii, W., Cahyaningsih, U., & Ekasari, W. (2019). Antimalarial activity and phytochemical profile of ethanolic and aqueous extracts of bidara laut (*Strychnos ligustrina* Blum) wood. *Journal of the Korean Wood Science and Technology*, 47(5), 587-596. <https://doi.org/10.5658/WOOD.2019.47.5.587>
- Matsuo, K., Shimada, M., Yamaguchi, S., Kanao, H., Nakanishi, T., Saito, T., Kamiura, S., Iwata, T., Mikami, M., & Sugiyama, T. (2018). Identifying a candidate population for ovarian conservation in young women with clinical stage IB-IIB cervical cancer. *International Journal of Cancer*, 142(5), 1022-1032. <https://doi.org/10.1002/ijc.31084>
- Morris, G. M., Huey, R., Lindstrom, W., Sanner, M. F., Belew, R. K., Goodsell, D. S., & Olson, A. J. (2009). AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *Journal of Computational Chemistry*, 30(16), 2785-2791. <https://doi.org/10.1002/jcc.21256>
- Muttaqin, F. Z., Kharisma, D., Asnawi, A., & Kurniawan, F. (2020). Pharmacophore and Molecular Docking-Based Virtual Screening of B-Cell Lymphoma 2 (BCL 2) Inhibitor from Zinc Natural Database as Anti-Small Cell Lung Cancer. 10(2), 143-147.
- Paterni, I., Granchi, C., Katzenellenbogen, J. A., & Minutolo, F. (2014). Estrogen receptors alpha (ER $\alpha$ ) and beta (ER $\beta$ ): subtype-selective ligands and clinical potential. *Steroids*, 90, 13-29. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2014.06.012>
- Russo, J., & Russo, I. H. (2006). The role of estrogen in the initiation of breast cancer. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 102(1-5 SPEC. ISS.), 89-96. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2006.09.004>
- Sarmiento, N. da C., Worachartcheewan, A., Pingaew, R., Prachayasittikul, S., Ruchirawat, S., & Prachayasittikul, V. (2015). Antimicrobial, antioxidant and anticancer activities of *Strychnos lucida* R. Br. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 12(4), 122-127. <https://doi.org/10.4314/ajtcam.v12i4.18>
- Setiawan, O., & Rostiwati, T. (2014). Bidara Laut (*Strychnos ligustrina* Blume. syn. *S. lucida* R. Br): HHBK Potensial di NTB dan Bali. In *Bogor: Forda Press*.
- Trott, O. & Olson, A.J. (2010). AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading, *Journal of Computational Chemistry* 31, 455-461.

Waks, A. G., & Winer, E. P. (2019). Breast Cancer Treatment: A Review. *JAMA*, 321(3), 288-300.  
<https://doi.org/10.1001/jama.2018.19323>