

Molecular Docking Study of Ferulic Acid Analog Compounds as Lung Antifibrotic At TGF- β 1 Receptors

Studi Penambatan Molekul Senyawa Analog Asam Ferulat Sebagai Antifibrotik Paru pada Reseptor TGF- β 1

Denayu Pebrianti¹⁾, Juni Ekowati^{1)*}, Dhea Ananda Ainunrizma¹⁾

¹Faculty of Pharmacy, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia

*Corresponding author

E-mail: juni-e@ff.unair.ac.id

Article History:

Received: May 14, 2023; Revised: November 19, 2023; Accepted: November 24, 2023; Online: November 28, 2023

ABSTRACT

Pulmonary fibrosis was one of the conditions that occurred in Post-COVID Syndrome patients. Development of specific treatment as an agent to treat pulmonary fibrosis was still ongoing. Ferulic acid was a compound that had a potential lung antifibrotic agent through the inhibition of TGF- β 1-mediated signaling. Molecular docking studies using the AutoDock Tools program version 1.5.7 were conducted on ferulic acid and its analogs to determine the activity of compounds as antifibrotic. Furthermore, the interaction of the compounds with the receptor was visualized using the Discovery Studio 2021 program. The results showed that ferulic acid and its analogs had lower free energy than Pirfenidone, which was a standard lung antifibrotic drug. 4-Benzoyloxy-3-methoxycinnamic acid was the compound that had the greatest activity. The group that contributed to the ligand-receptor interaction was the aromatic group with π interaction.

Keywords: Molecular Docking, AutoDock, Antifibrotic, TGF- β 1, Ferulic Acid

ABSTRAK

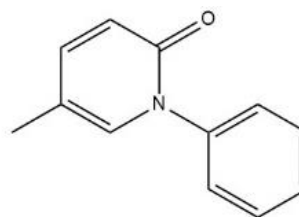
Fibrosis paru merupakan salah satu kondisi yang terjadi pada pasien *Post-COVID Syndrome*. Pengembangan pengobatan yang spesifik sebagai agen untuk mengatasi fibrosis paru masih terus dilakukan. Asam ferulat termasuk senyawa yang berpotensi sebagai agen antifibrotik paru melalui penghambatan pensinyalan yang dimediasi TGF- β 1. Studi penambatan molekul menggunakan program *AutoDock Tools* versi 1.5.7 dilakukan terhadap asam ferulat dan analognya untuk mengetahui aktivitasnya sebagai antifibrotik. Selanjutnya, interaksi senyawa dengan reseptor divisualisasikan menggunakan program *Discovery Studio 2021*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa asam ferulat dan analognya memiliki energi bebas lebih rendah dibandingkan pirfenidon yang merupakan obat standar antifibrotik paru. Aktivitas terbesar ditunjukkan oleh senyawa asam 4-benzoiloksi-3-metoksisinamat. Gugus yang berkontribusi dalam interaksi ligan-reseptor adalah inti aromatis dengan interaksi π .

Kata kunci: Penambatan Molekul, *AutoDock*, Antifibrotik, TGF- β 1, Asam Ferulat

PENDAHULUAN

Fibrosis paru merupakan pematatan matriks ekstraseluler pada jaringan paru sehingga terjadi pengerasan dan penurunan elastisitas (Thannickal *et al.*, 2014). Di negara-negara Asia-Pasifik, insidensi fibrosis paru idiopati mencapai 0,35 – 1,30 per 10.000 populasi dengan prevalensi 0,57 – 4,51 (Maher *et al.*, 2021). Meskipun tergolong jarang, penyakit ini menjadi salah satu penyakit kronis yang mematikan. Jika tidak segera ditangani, kelangsungan hidup rata-rata diperkirakan antara 2 sampai 3 tahun setelah diagnosis (Sharif, 2017). Kejadian fibrosis paru ini mulai banyak dijumpai pada pasien yang pernah menderita COVID-19 dan menjadi salah satu kondisi gejala *Post-COVID Syndrome*. Dalam sebuah penelitian terhadap 55 pasien terkonfirmasi

COVID-19 setelah 3 bulan, 35 (64%) memiliki gejala persisten dan 39 (71%) mengalami disfungsi paru seperti penebalan interstisial dan fibrosis (Zhao *et al.*, 2020). Studi lain juga mengungkapkan perkembangan fibrosis paru dialami oleh 44,9% orang yang sebelumnya terinfeksi SARS-CoV-2 (Amin *et al.*, 2022).



Gambar 1. Struktur Senyawa Pirfenidon

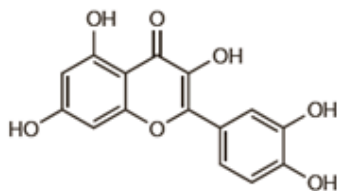
Cite this Pebrianti, D., Ekowati, J. and Ainunrizma, D.A. (2023) 'Molecular Docking Study of Ferulic Acid Analog Compounds as Lung Antifibrotic At TGF- β 1 Receptors', *Berkala Ilmiah Kimia Farmasi*, 10(1), pp. 7 - 11. DOI: 10.20473/bikfar.v10i1.45430.



Copyright: ©2023 by the authors. Submitted for possible open-access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International (CC BY-SA) license

Saat ini, terapi yang digunakan untuk mencegah fibrosis paru yaitu penggunaan kortikosteroid. Kemampuan kortikosteroid sebagai antiinflamasi dapat mengurangi kejadian *Acute Respiratory Distress Syndrome* (ARDS) yang menjadi pemicu fibrosis paru (Chaudhuri *et al.*, 2021). Terapi khusus untuk mencegah fibrosis paru sendiri masih terbatas dan terus dikembangkan (Nalbandian *et al.*, 2021). Obat yang spesifik sebagai antifibrotik paru diantaranya Pirfenidone ([Gambar 1](#)) yang hingga tahun 2020 masih menjalani uji klinis fase 3 (Hoffmann-La Roche, 2020). Meskipun demikian, obat ini menunjukkan banyak efek samping yang membatasi kegunaannya, antara lain ruam kulit, mual, hingga fotosensitivitas sehingga perlu adanya pilihan terapi lain yang lebih baru dan lebih aman (Vietri *et al.*, 2020).

Salah satu mekanisme antifibrotik dari obat Pirfenidone adalah dengan menghambat ekspresi *Transforming growth factor beta* (TGF- β) yang merupakan stimulator sintesis protein matriks ekstraseluler di sebagian besar fibroblas, yang disintesis dan disekresikan oleh sel-sel inflamasi (Burnham *et al.*, 2014). Pada paru-paru mamalia, TGF- β terdiri atas tiga isoform yaitu TGF- β 1, TGF- β 2, dan TGF- β 3. Namun, isoform TGF- β 1 memainkan peran sebagai agen profibrotik yang lebih progresif untuk mendorong diferensiasi fibroblas menjadi miofibroblas (Wei *et al.*, 2019).



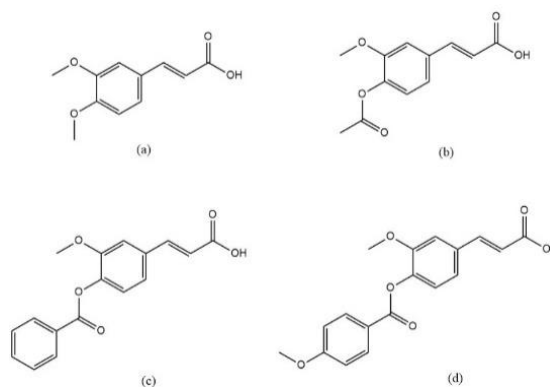
Gambar 2. Struktur Asam Ferulat

Asam ferulat ([Gambar 2](#)) menjadi salah satu agen yang berpotensi digunakan sebagai antifibrotik. Pengujian *in vivo* pada tikus menunjukkan bahwa asam ferulat (100 mg/kg, 300 mg/kg) mengurangi perkembangan fibrosis paru dengan hasil uji histopatologi yaitu penurunan kadar TGF- β yang signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol (Ali *et al.*, 2021). Dengan demikian, temuan tersebut menunjukkan kemungkinan peran asam ferulat dalam memperbaiki fibrosis paru yaitu dengan menghambat pensinyalan yang dimediasi TGF- β . Namun, masalah utama yang membatasi penggunaan klinis asam ferulat adalah bioavailabilitasnya yang rendah. Asam ferulat bentuk bebas hanya ditemukan sebanyak 20% pada plasma darah manusia setelah penggunaan *peroral* (Mancuso & Santangelo, 2014).

Strategi yang dapat digunakan untuk meningkatkan bioavailabilitas adalah dengan modifikasi struktur agar lebih lipofilik. Semakin besar lipofilisitas suatu senyawa maka semakin mudah menembus membran sel secara difusi sehingga persentase obat yang diabsorpsi lebih besar (Siswandono, 2016). Selain itu, modifikasi struktur suatu senyawa juga dapat meningkatkan interaksinya dengan reseptor target. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Ekowati *et al* (2018), modifikasi asam ferulat dilakukan pada gugus OH-fenolik dengan

penambahan gugus-gugus tertentu, di antaranya karbonil ester hingga inti aromatis.

Prediksi aktivitas biologis suatu senyawa dapat dilakukan secara *in silico* melalui penambatan molekul senyawa obat (ligan) dengan protein target (Dar & Mir, 2017). Hasil yang akan diperoleh yaitu energi bebas ikatan yang berbanding terbalik dengan aktivitas suatu senyawa. Semakin rendah nilai energi bebas ikatan antara senyawa uji dan protein target maka diprediksi senyawa ini memiliki aktivitas biologis yang lebih besar (Ekowati *et al.*, 2018). Pada penelitian ini, akan dilakukan uji penambatan molekul terhadap empat analog asam ferulat pada reseptor TGF- β 1 (PDB ID: 5QIM) ([Gambar 3](#)).

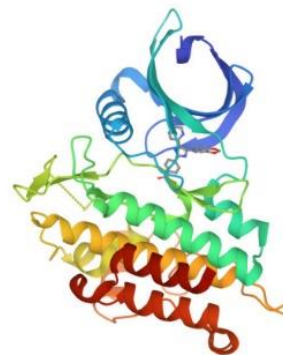


Gambar 3. Struktur Senyawa (a) Turunan 1 (b) Turunan 2 (c) Turunan 3 (d) Turunan 4

METODOLOGI PENELITIAN

Reseptor

Reseptor yang digunakan adalah TGF- β 1 dengan PDB ID : 3TZM ([Gambar 4](#)) dan *native ligand* 4-[5-(1,3-benzodioxol-5-yl)-4-(pyridin-2-yl)-1H-imidazol-2-yl] benzamide kode 085. Struktur molekul reseptor dapat diunduh melalui *website Protein Data Bank* (<https://www.rcsb.org/>).



Gambar 4. Reseptor TGF- β 1 (PDB ID: 3TZM)

Ligan

Ligan yang digunakan adalah pirfenidon, asam ferulat, dan 4 analog asam ferulat ([Gambar 3](#)). Struktur ligan digambar dengan program *ChemDraw* versi 19.1 kemudian disalin pada *Chem3D* versi 19.1 untuk membuat struktur 3D dan mengukur energi minimum

menggunakan MMF94. Selanjutnya, struktur ligan disimpan dengan format mol2 {SYBYL2 (*.Mol2)}.

Validasi Penambatan Molekul

Validasi studi penambatan molekul dilakukan dengan *redocking* reseptor dengan *native ligand* dan direplikasi sebanyak 3 kali. Prosedur penambatan molekul dinyatakan valid apabila nilai *root mean square deviation* (RMSD) < 2.0 Å.

Penambatan Molekul

Penambatan molekul menggunakan perangkat laptop Lenovo 21CS04900, sistem operasi Windows 11, 64 bit, 11th Intel(R) Core (TM) i3-1115G4, CPU @3.00GHz, dan RAM 8.00 GB. Program yang digunakan untuk studi penambatan molekul adalah *AutodockTools* 1.5.7. Hasil yang akan diperoleh yaitu energi bebas (*estimated free energy binding*) yang berbanding terbalik dengan aktivitas suatu senyawa. Selanjutnya, interaksi reseptor dan ligan hasil penambatan divisualisasi menggunakan program *Discovery Studio* 2021.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Validasi Penambatan Molekul

Validasi dilakukan untuk membuktikan bahwa metode yang digunakan memberikan hasil yang tepat sesuai nilai yang sebenarnya. Hasil penambatan molekul dilihat dari nilai *root mean square deviation* (RMSD) yang merupakan penyimpangan antara koordinat prediksi penambatan kembali *native ligand* dibandingkan dengan konformasi awal (Prieto-Martínez *et al.*, 2018). Pada studi penambatan molekul antara *native ligand* dengan reseptor TGF-β1 (PDB ID: 3TZM) diperoleh nilai RMSD sebagai berikut (Tabel 1).

Tabel 1. Hasil Validasi

Replikasi	RMSD (Å)	Rerata (Å)
I	0,842	
II	0,839	0,834 ± 0,0014
III	0,821	

Dari proses validasi penambatan molekul, diperoleh nilai RMSD kurang dari 2.0 (Å). Hal ini menunjukkan bahwa metode penambatan molekul yang digunakan telah valid sehingga dapat digunakan untuk penambatan molekul antara reseptor dengan ligan yang lain.

Hasil Penambatan Molekul

Penilaian hasil penambatan molekul dapat dilakukan salah satunya berdasarkan besar kecilnya energi bebas ikatan. Semakin kecil energi bebas ikatan maka semakin rendah energi yang dibutuhkan dalam pembentukan kompleks ligan dengan protein target. Hal ini

menunjukkan bahwa ikatan ligan-protein target semakin stabil sehingga diprediksi memiliki aktivitas biologis yang lebih besar (Ekowati *et al.*, 2018).

Pada *AutoDock Tools*, energi ikatan dinyatakan sebagai energi ikatan bebas (ΔG_{ikatan}) yang merupakan akumulasi energi bebas dari energi antarmolekul ($\Delta G_{antarmolekul}$) dan energi bebas dari torsi (ΔG_{torsi}) (Huey *et al.*, 2007). Energi antarmolekul meliputi interaksi *van der Waals*, ikatan hidrogen, energi desolvasi, dan energi elektrostatis. Energi torsi merupakan perkalian antara berat (W_{torsi}) dan jumlah torsi (N_{torsi}) pada ligan (Sriramulu *et al.*, 2020).

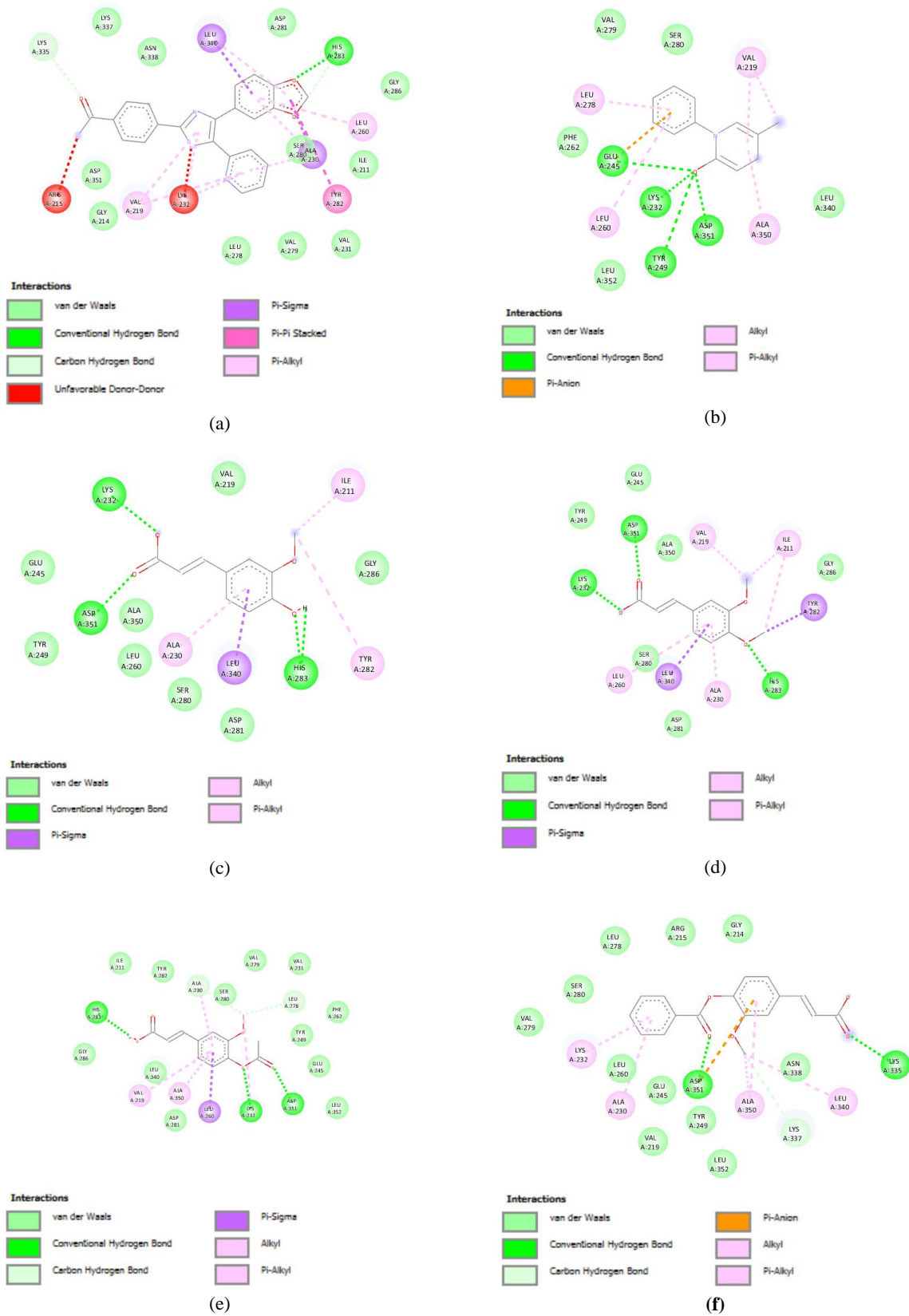
Asam ferulat dan analognya memiliki nilai energi bebas yang lebih rendah dibandingkan obat standar yaitu Pirfenidone (Tabel 2). Hal ini menunjukkan bahwa ikatan asam ferulat dan analognya lebih stabil sehingga memiliki aktivitas antifibrotik yang lebih besar. Selain itu, 4 analog asam ferulat sendiri memiliki energi bebas yang lebih rendah dari senyawa asam ferulat. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat pengaruh penambahan gugus terhadap stabilitas ikatan reseptor dan ligan. Penambahan gugus karbonil dan inti aromatis dapat menurunkan energi ikatan yang ditunjukkan oleh hasil energi bebas dari senyawa asam 4-benzoiloksi-3-metoksisinamat (-9,69 kkal/mol) yang lebih rendah dibanding analog asam ferulat lainnya. Perbandingan nilai energi bebas dapat diamati pada Tabel 2.

Hasil visualisasi (Gambar 5) menunjukkan bahwa terdapat beragam jenis interaksi antara ligan dengan reseptor. Interaksi tersebut diantaranya interaksi *van der Waals*, ikatan hidrogen, π - π , π - σ , dan π -alkil. Terdapat pula interaksi khas pada *native ligand* yaitu *unfavorable* donor-donor yang menunjukkan terjadinya tolakan antara dua atom pada ligan dan reseptor. Selain itu, pada pirfenidone dan asam 4-benzoiloksi-3-metoksisinamat juga memiliki interaksi π -anion. Inti aromatis menjadi gugus yang paling berkontribusi dalam interaksi antara ligan dengan reseptor karena di setiap senyawa yang diuji selalu memiliki interaksi yang melibatkan gugus tersebut.

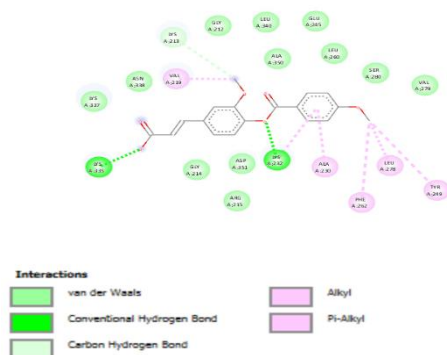
Peningkatan jumlah gugus yang berinteraksi dengan reseptor dapat menurunkan energi ikatan sehingga aktivitasnya meningkat (Ekowati *et al.*, 2018). Oleh karena itu, secara teori senyawa asam 4-(4-metoksi)benzoiloksi-3-metoksisinamat memiliki energi ikatan yang lebih rendah dibandingkan senyawa asam 4-benzoiloksi-3-metoksisinamat karena penambahan gugus metoksi pada posisi *para* yang dapat membentuk ikatan hidrogen dan interaksi lipofilik dengan reseptor. Hal yang terjadi justru sebaliknya. Senyawa asam 4-benzoiloksi-3-metoksisinamat memiliki interaksi π -anion yang berkontribusi besar meningkatkan stabilitas ikatan reseptor-ligan sehingga energi ikatannya lebih rendah dibanding senyawa 4-(4-metoksi)benzoiloksi-3-metoksisinamat.

Tabel 2. Nilai Energi Ikatan Bebas

Nama Senyawa	Energi Ikatan (kkal/mol)
4-[5-(1,3-benzodioxol-5-yl)-4-(pyridin-2-yl)-1H-imidazol-2-yl] benzamide	-10.91
Pirfenidone	-5.82
Asam ferulat	-6.51
Asam 3,4-dimetoksisinamat	-6.72
Asam 4-asetoksi-3-metoksisinamat	-7.23
Asam 4-benzoiloksi-3-metoksisinamat	-9.69
Asam 4-(4-metoksi)benzoiloksi-3-metoksisinamat	-9.04



Gambar 5. Visualisasi Interaksi Ligan-Reseptor (a) Native ligand (b) Pirfenidon (c) Asam Ferulat (d) Turunan 1 (e) Turunan 2 (f) Turunan 3 (g) Turunan 4



(g)
Gambar 5. Visualisasi Interaksi Ligan-Reseptor
(a) Native ligand (b) Pirfenidon (c) Asam Ferulat
(d) Turunan 1 (e) Turunan 2 (f) Turunan 3 (g) Turunan 4

KESIMPULAN

Asam ferulat dan analognya berpotensi untuk digunakan sebagai agen antifibrotik paru dengan mekanisme penghambatan persinyalan yang dimediasi oleh reseptor TGF- β 1. Aktivitas paling besar ditunjukkan oleh senyawa asam 4-benzoiloksi-3-metoksisinamat dibandingkan analog asam ferulat lainnya. Namun, perlu pengujian lanjutan sebelum dapat digunakan secara klinis sebagai agen antifibrotik paru.

DAFTAR PUSTAKA

- Ali, S.A., Saifi, M.A., Pulivendala, G., Godugu, C. and Talla, V. (2021) 'Ferulic acid ameliorates the progression of pulmonary fibrosis via inhibition of TGF- β /smad signalling', *Food and Chemical Toxicology*, 149, p. 111980.
- Burnham, E.L., Janssen, W.J., Riches, D.W.H., Moss, M. and Downey, G.P. (2014) 'The fibroproliferative response in acute respiratory distress syndrome: mechanisms and clinical significance', *European Respiratory Journal*, 43(1), pp. 276–285.
- Chaudhuri, D. *et al.* (2021) 'Corticosteroids in COVID-19 and non-COVID-19 ARDS: a systematic review and meta-analysis', *Intensive Care Medicine*, 47(5), pp. 521–537.
- Dar, A.M. and Mir, S. (2017) 'Molecular Docking: Approaches, Types, Applications and Basic Challenges', *Journal of Analytical & Bioanalytical Techniques*, 08(02).
- Ekowati, J. *et al.* (2018) 'Molecular Docking of Ferulic Acid Derivatives on P2Y12 Receptor and their ADMET Prediction', *Journal of Mathematical and Fundamental Sciences*, 50(2), pp. 203–219.
- Hoffmann-La Roche (2020) 'Multicenter, International, Double-blind, Two-Arm, Randomized, Placebo-controlled Phase II Trial of Pirfenidone in Patients With Unclassifiable Progressive Fibrosing ILD', *Clinical trial registration NCT03099187*. clinicaltrials.gov. (Accessed: 27 December 2022).
- Hama Amin, B.J. *et al.* (2022) 'Post COVID-19 pulmonary fibrosis; a meta-analysis study', *Annals of Medicine and Surgery*, 77, p. 103590.
- Huey, R. *et al.* (2007) 'A semiempirical free energy force field with charge-based desolvation', *Journal of Computational Chemistry*, 28(6), pp. 1145–1152.
- Maher, T.M. *et al.* (2021) 'Global incidence and prevalence of idiopathic pulmonary fibrosis', *Respiratory Research*, 22, p. 197.
- Mancuso, C. and Santangelo, R. (2014) 'Ferulic acid: Pharmacological and toxicological aspects', *Food and Chemical Toxicology*, 65, pp. 185–195.
- Nalbandian, A. *et al.* (2021) 'Post-acute COVID-19 syndrome', *Nature Medicine*, 27(4), pp. 601–615.
- Prieto-Martínez, F.D., Arciniega, M. and Medina-Franco, J.L. (2018) 'Molecular docking: current advances and challenges', *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 21. doi: 10.22201/fesz.23958723e.2018.0.143.
- Sharif, R. (2017) 'Overview of idiopathic pulmonary fibrosis (IPF) and evidence-based guidelines', *American Journal of Managed Care*, 23(11 Suppl), pp. S176–S182.
- Siswandono, E. (2016) *Kimia Medisinal 1 Edisi 2*. Airlangga University Press.
- Sriramulu, D.K., Wu, S. and Sun-Gu, L. (2020) 'Effect of ligand torsion number on the AutoDock mediated prediction of protein-ligand binding affinity', *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 83, pp. 359–365.
- Thannickal, V.J. *et al.* (2014) 'Matrix Biology of Idiopathic Pulmonary Fibrosis: A Workshop Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute', *The American Journal of Pathology*, 184(6), pp. 1643–1651.
- Vietri, L. *et al.* (2020) 'Pirfenidone in idiopathic pulmonary fibrosis: real-life experience in the referral centre of Siena', *Therapeutic Advances in Respiratory Disease*, 14.
- Wei, P. *et al.* (2019) 'Transforming growth factor (TGF)- β 1-induced miR-133a inhibits myofibroblast differentiation and pulmonary fibrosis', *Cell Death & Disease*, 10(9), pp. 1–17.
- Zhao, Y. *et al.* (2020) 'Follow-up study of the pulmonary function and related physiological characteristics of COVID-19 survivors three months after recovery', *EClinicalMedicine*, 25, p. 100463.