

Molecular Docking of Interaction between E-Cadherin Protein and Conformational Structure of Cyclic Peptide ADTC3 (Ac-CADTPC-NH₂) Simulated on 20 ns

Atiatul Manna^a, Marlyn Dian Laksitorini^b, Dwi Hudiyanti^a, Parsaoran Siahaan^{a,*}

^a Physical Chemistry Laboratory, Chemistry Department, Faculty of Sciences and Mathematics, Diponegoro University, Jalan Prof. Soedarto, Tembalang, Semarang 50275

^b Faculty of Pharmacy, Gadjah Mada University, Yogyakarta

* Corresponding author: parsaoran_s@undip.ac.id

Article Info

Keywords:

ADTC3, E-cadherin domain EC1, Gromacs, docking

Kata kunci:

ADTC3, E-cadherin domain EC1, Gromacs, docking

Abstract

The treatment of diseases that attack the brain is very difficult, because the delivery of drug molecules to the brain is often hindered by the molecules of blood-brain barrier (BBB). Thus, it was developed the new method using synthetic peptide which derived from the amino acids sequence of cadherin and ADTC3 predicted able to modulate the intercellular junction peptide. The intermolecular interaction between ADTC3 and E-cadherin is hypothesized as the driving force of modulation. In this research have been calculated the interaction energy between ADTC3 and E-cadherin. The method used in this research is molecular dynamics (MD) and molecular docking. The results show that cyclic peptide ADTC3 (Ac-CADTPC-NH₂) simulated for 20 ns (20,000 ps) has considerable interaction with EC1 domain of E-cadherin which have the binding energies $-31.55 \text{ kJ.mol}^{-1}$ and inhibition constant K_i 2.96 μM at the 4487 conformation. This highly interaction energy was predicted as the driving force in modulating intercellular junctions. The binding site of E-cadherin reside on amino acid residues Asp1, Trp2, Val3, Ile4, Lys25, Met92 in the adhesion arm-acceptor pocket region.

Abstrak

Pengobatan penyakit yang menyerang otak sangat sulit dilakukan karena penghantaran molekul obat menuju otak terhalang oleh molekul-molekul *blood-brain barrier* (BBB). Untuk mengatasinya telah dikembangkan metode baru dengan memodulasi *junction* antar sel menggunakan peptida. Salah satu peptida yang diperkirakan mampu memodulasi adalah ADTC3, yang diturunkan dari susunan asam amino kadherin. Modulasi terjadi diduga karena interaksi antara ADTC3 dengan E-kadherin. Pada penelitian ini telah dihitung energi interaksi antara ADTC3 dengan E-kadherin. Metode yang digunakan adalah dinamika molekul (DM) dan *molecular docking*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa peptida siklik ADTC3 (Ac-CADTPC-NH₂) hasil simulasi 20 ns (20.000 ns) berinteraksi kuat dengan domain EC1 E-kadherin dengan *energy binding* sebesar $-31,55 \text{ kJ.mol}^{-1}$ dan tetapan inhibisi K_i sebesar 2,96 μM pada konformasi ke-4487. Interaksi yang kuat ini diperkirakan sebagai daya penggerak memodulasi *junction* antar sel. Interaksi antara ADTC3 dengan E-kadherin terjadi pada situs residu E-kadherin Asp1, Trp2, Val3, Ile4, Lys25, Met92 yang berada pada daerah *adhesion arm-acceptor pocket*.

1. Pendahuluan

Pengobatan penyakit yang menyerang otak merupakan penyakit yang sulit dilakukan karena penghantaran molekul obat menuju ke otak sangat sulit [1]. Hal ini disebabkan karena adanya penghalang biologis yaitu *blood-brain barrier* (BBB) [2]. Transpor obat melewati BBB dapat dicapai melalui jalur transelular dan paraselular [3]. Jalur transpor yang mungkin dilewati oleh senyawa makromolekul adalah jalur paraselular. Namun, pada jalur ini terdapat persimpangan ketat (*tight junction*) yang merupakan komponen paling apikal dan umumnya dianggap sebagai penghalang untuk permeabilitas paraselular [4]. Molekul yang dapat melewati jalur ini memiliki ukuran diameter kurang dari 11 Å atau dengan berat molekul kurang dari 500 Dalton [5]. Dengan demikian, kehadiran BBB menjadi tantangan tersendiri dalam proses penghantaran obat menuju sel target. Salah satu cara untuk meningkatkan sistem penghantaran obat adalah dengan meningkatkan porositas *tight junction* dengan menghambat interaksi kadherin-kadherin pada *adherens junction* [6].

Kadherin merupakan protein transmembran yang terdiri dari 5 domain ekstraselular (EC1-EC5) dengan ion Ca^{2+} berinteraksi sebagai penghubung antar bagian dari E-Kadherin [7]. Kadherin banyak ditemukan pada *zonula adherens* [8]. *Zonula adherens* adalah salah satu bagian *junction* antar sel yang berada dalam *zonula occludens junction* (ketat) dan Demosom. Dalam pembentukan *junction* antar sel, molekul kadherin pada satu sel akan berinteraksi dengan molekul kadherin pada sel lain yang berada di dekatnya membentuk *zonula adherens* [9]. Porositas pada jalur paraselular dapat ditingkatkan dengan peptida yang sekuennya diturunkan dari molekul kadherin itu sendiri, seperti turunan peptida HAV dan ADT. Turunan peptida ADT seperti ADTC3 yang diturunkan dari kadherin dapat menempati situs ikatan (*binding site*) pada molekul kadherin dan menghalangi interaksi antar molekul *adherens junction* (kadherin) pada sel bersebelahan, sehingga keketatan *tight junction* antar sel dapat diatur atau dimodulasi. Modulasi dapat juga dilakukan dengan kitosan yang sekaligus dapat berfungsi sebagai pembawa obat atau enkapsulator pada sistem *drug delivery* dan *drug targeting* [10, 11].

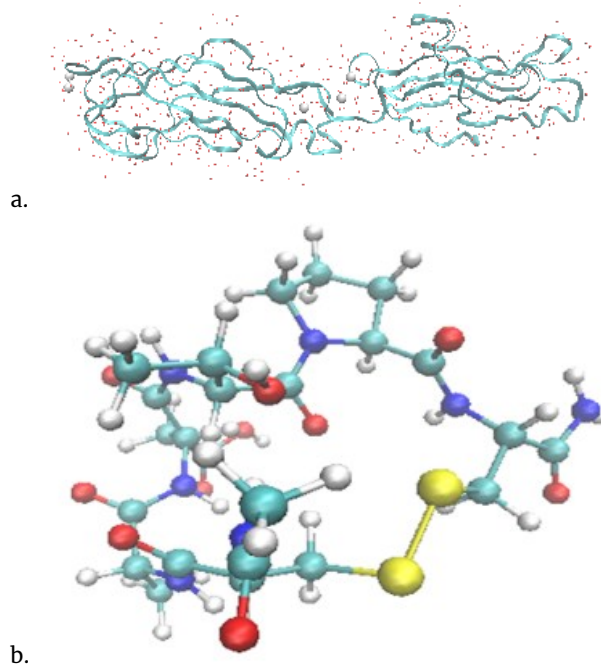
Laksitorini [12] telah mensintesis dan menggunakan turunan peptida kadherin ADT6 seperti ADTC1, ADTC5, dan ADTC6 untuk meningkatkan penghantaran molekul obat dari otak ke sistem saraf pusat. Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa peptida kadherin ADT6 memiliki kemampuan menginhibisi interaksi *junction* antar sel di dalam sel MDCK (*Madin-Darby Canine Kidney*) dan pembentukan peptida siklik dapat meningkatkan kemampuan peptida kadherin untuk memodulasi *junction* antar sel [12]. Alaofi dkk. [1] menginteraksikan peptida cHAVc3 dengan E-kadherin domain EC1 dan hasilnya menunjukkan bahwa peptida cHAVc3 mampu meningkatkan porositas *junction* antar sel [1]. Selain turunan peptida kadherin seperti peptida ADTC1, ADTC5, dan ADTC6, terdapat turunan ADT6 yang belum dilakukan penelitian secara eksperimen maupun komputasi yaitu peptida ADTC3. Sehingga pada

penelitian ini akan dilakukan studi interaksi antara peptida siklik ADTC3 dengan E-kadherin domain EC1-EC2 dengan *molecular docking*. *Molecular docking* merupakan pemodelan komputasi yang dilakukan untuk memprediksi interaksi dan situs ikatan. Pemodelan komputasi juga dapat menjelaskan daya penggerak yang menyebabkan terjadinya proses interaksi antara peptida ADTC3 dengan E-kadherin domain EC1-EC2.

2. Metode Penelitian

Preparasi Protein dan peptida siklik ADTC3

Pada penelitian ini model molekul yang digunakan yaitu struktur kristal E-kadherin domain EC1-EC2 (kode 2O72) sebagai *host* dan peptida siklik ADTC3 sebagai *guest* yang diperlihatkan pada Gambar 1. Peptida linier ADTC3 dibuat dengan menggunakan *software* program PyMol [13]. Kemudian dilakukan pembentukan siklik peptida ADTC3 (siklik(1,6)Ac-CADTPC-NH₂) dengan membentuk ikatan disulfida pada gugus thiol residu sistein dengan menggunakan *software* program avogadro.



Gambar 1. (a) Struktur kristal E-kadherin domain EC1-EC2 (kode 2O72), (www.rcsb.org/pdb). (b) Struktur peptida siklik ADTC3.

Simulasi Dinamika Molekular (DM)

Simulasi dinamika molekular dilakukan menggunakan *software* program GROMACS v.4.6.5 [14]. Simulasi DM dilakukan untuk mengetahui dinamika dan optimasi peptida siklik ADTC3 sehingga didapatkan konformasi dan energi terendah pada pelarut air dan setelah ditambahkan ion. Pada persiapan sistem dilakukan pemberian medan gaya (*force field*) *charmm27* serta ditambahkan pelarut air *tip3p* pada ruang kubus berukuran 1 nm [15]. Setelah itu, pada sistem ditambahkan ion 4Na^+ dan 4Cl^- sehingga diperoleh konsentrasi fisiologis sebesar 0,15 M. Minimasi energi pada sistem dilakukan untuk merelaksasi gaya berlebih

pada sistem. Simulasi DM dilakukan selama 20 ns untuk memperoleh 20.000 konformasi dengan peptida pada posisi tidak dan tertahan/*restraint*. Kemudian kesetimbangan sistem antara konformasi peptida dengan pelarut/ion menjadi representasi yang diharapkan pada temperatur 300 K dan tekanan 1 atm dengan dilakukan simulasi DM selama 100 ps. Setelah sistem setimbang, dilakukan proses menghasilkan trayektori dengan parameter berubah dengan melakukan simulasi DM selama 20 ns (20.000 ps) pada temperatur konstan 300 K dan volume konstan. Trayektori kemudian dianalisis dengan metode RMSD (*root-mean-square-deviation*) $C\alpha$ terhadap struktur awal. Analisis energi total hasil simulasi DM memilih 20 struktur konformasi yang memiliki energi terendah.

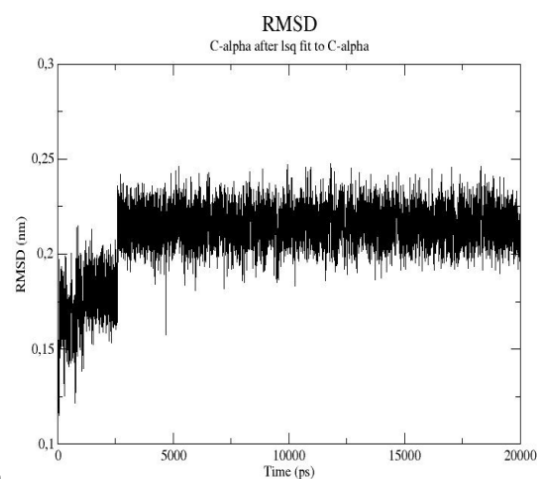
Molecular docking

Molecular docking dilakukan dengan menggunakan software program AutoDock 4.2 pada bagian EC1 dari domain EC1-EC2 [16]. Pada *molecular docking* dilakukan Autogrid dan Autodock. Tahapan Autogrid meliputi pra-evaluasi *energy binding* secara cepat antara tipe atom pada ligan ADTC3 siklik (C, HD, N, OA, SA), elektrostatik, dan desolvasi dengan protein E-kadherin. Tahapan Autogrid berikutnya adalah evaluasi menggunakan *gridbox* dengan *grid spacing* 0,375 Å pada situs ikatan protein. Selanjutnya proses Autodock yaitu proses docking dimulai dari E-kadherin sebagai molekul rigid dan memilih peptida siklik ADTC3 sebagai ligan. Pencarian konformasi menggunakan algoritma *Lamarckian-Genetic* dengan penentuan *energy binding* menggunakan pendekatan medan gaya energi bebas semi-empirik [17]. Jumlah algoritma yang dijalankan dan jumlah proses evaluasi masing-masing di-*set* sebesar 150 dan 10.000.000.

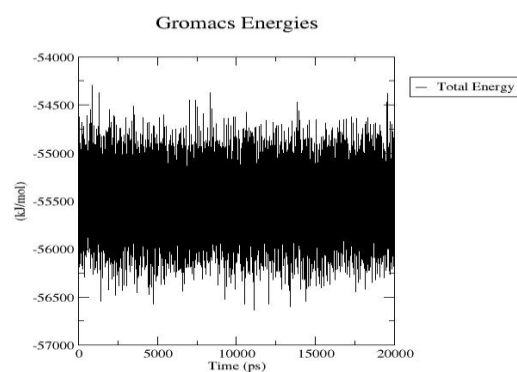
3. Hasil dan Pembahasan

Simulasi Dinamika Molekular (DM)

Hasil simulasi DM peptida siklik ADTC3 menggunakan GROMACS dapat diperlihatkan pada Gambar 2. Pada simulasi DM peptida siklik ADTC3 dilakukan analisis RMSD yang bertujuan untuk mengetahui pergerakan peptida yang terlarut di dalam air dan ion dengan membandingkan rantai peptida pada struktur *native* pada $C\alpha$ yang mempunyai jumlah residu (N) sama dengan struktur *alternative* selama 20 ns. Berdasarkan analisis RMSD pada simulasi DM 20 ns diperoleh jarak fluktuasi sebesar 1,13–2,47 Å. Pergerakan molekul peptida dikatakan stabil jika RMSD tidak melebihi 3 Å. Jumlah struktur konformasi yang lebih banyak dapat diperoleh dengan mempebesar waktu simulasi menjadi 120 ns seperti yang dilakukan pada penelitian sebelumnya [18].



a.



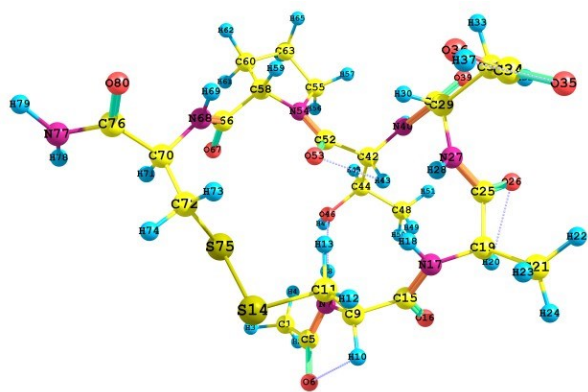
b.

Gambar 2. (a) Grafik RMSD $C\alpha$ dan (b) Grafik energi total

Hasil analisa RMSD, Gambar 2a, menunjukkan bahwa pergerakan molekul peptida siklik ADTC3 cenderung stabil dan konvergen. Selain itu, dapat dibuktikan dengan perubahan jarak antara $S_{14...S_{78}}$ (Gambar 3) pada *start* dan *end* terminus asam amino sistein yang cenderung stabil ditunjukkan pada Tabel 1. Selanjutnya, dilakukan analisis energi total bertujuan untuk mencari struktur peptida yang paling stabil sesuai dengan kondisi mendekati yang sebenarnya. Perubahan konformasi peptida siklik ADTC3 mengalami *folding/unfolding*. Peptida yang mengalami *folding* strukturnya lebih stabil karena memiliki energi lebih rendah [19]. Pada analisis ini dilakukan pemilihan 20 konformasi pada energi terendah untuk dilakukan *molecular docking* dapat dilihat pada Tabel 2. Karena tidak semua molekul yang memiliki energi terendah dapat berinteraksi baik dengan reseptornya.

Tabel 1. Pergerakan peptida siklik ADTC3 selama DM 20 ns

Waktu (ns)	Energi Total (kJ/mol)	$RS_{14...S_{75}}$ (Å)
0	-55025,59	2,02864
1	-55446,05	2,02864
5	-56268,04	2,02870
10	-55924,36	2,02894
15	-55202,27	2,02889
20	-56017,95	2,02876



Gambar 3. Perubahan jarak jarak antara S₁₄...S₇₈ pada struktur ADTC₃

Tabel 2. Energi 20 struktur konformasi energi terendah hasil simulasi DM 20.000 struktur konformasi

Kode	Energi Total (kJ/mol)	Waktu Simulasi (ps)	RMSD (Å)
A1	-56636,85	11139	2,26
A2	-56596,10	13426	2,15
A3	-56572,05	10534	2,12
A4	-56571,27	12027	2,16
A5	-56569,43	4736	2,11
A6	-56542,19	14388	1,95
A7	-56478,18	2334	1,53
A8	-56474,81	4487	2,04
A9	-56452,94	3732	2,11
A10	-56444,52	17571	2,09
A11	-56436,55	6577	2,31
A12	-56429,74	13382	2,13
A13	-56424,76	1939	2,04
A14	-56418,74	12879	2,16
A15	-56414,23	18139	2,22
A16	-56413,98	9943	2,25
A17	-56407,62	14443	2,15
A18	-56401,52	15364	2,15
A19	-56399,59	4401	2,13
A20	-56390,93	2358	1,90

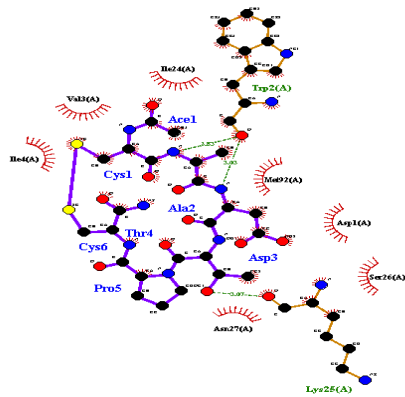
Molecular docking

Molecular docking merupakan salah satu metode yang paling sering digunakan untuk mendesain molekul obat atau sering disebut *structure-based drug design* (SBDD) karena kemampuannya memprediksi dengan tingkat akurasi yang tinggi [20]. Pada penelitian ini, *molecular docking* dilakukan untuk mengetahui konformasi dan *energy binding* antara peptida siklik ADTC₃ dengan E-kadherin domain EC1-EC2. Peptida siklik ADTC₃ memiliki muatan *gasteigen* sebanyak 28 hidrogen non-polar, 9 *rotable bonds*, dan derajat bebas torsi sebanyak 7 dari 32. Docking dilakukan dalam 2 tahap yaitu Autogrid dan Autodock. Tahap Autogrid penentuan posisi *gridbox* dilakukan secara *blind docking* dengan

ukuran *gridbox* 62x62x62. Metode ini dilakukan karena belum diketahui sisi aktif pada E-kadherin domain EC1-EC2 dengan peptida siklik ADTC₃. Tahap AutoDock menggunakan parameter *Genetic Algorithm* atau GA sebesar 150 dan populasi sebanyak 150 serta *number of eval* sebesar 10.000.000. Hasil *blind docking* (*docking* secara acak) yang dilakukan pada 20 struktur konformasi peptida siklik ADTC₃, energi paling stabil dan populasi tertinggi terdapat pada Tabel 3. *Energy binding* terendah pada konformasi A8, Gambar 4, dengan energi sebesar -28,16 kJ/mol. Hal ini diperkuat dengan adanya ikatan hidrogen antara E-kadherin dengan ADTC₃ melalui residu Trp2...Asp3, Lys25...Thr4, Trp2...Ala2. Jenis ikatan hidrogen berturut-turut yaitu O...NH, O...HG1, O...NH dengan jarak masing-masing yaitu 2,047; 2,184; 2,027 Å. Situs ikatan antara E-kadherin dengan ADTC₃ adalah pada residu Asp1, Trp2, Val3, Ile4, Lys25, Met92 dari E-kadherin dengan jumlah residu adalah 6 yang berada pada daerah *adhesion arm-acceptor pocket*. Dalam penelitian Parisini [21] menunjukkan bahwa residu yang berperan pada daerah *adhesion arm* yaitu D1, W2, E89, D90, M92 dan W2,V3, P5Q23, K25 [21].

Tabel 3. *Energy binding*, *K_i*, populasi, dan pose hasil *blind docking*

Kode	Pose	ΔG (kJ/mol)	<i>K_i</i>	Populasi
A1	12	-15,77	1,73 mM	14
A2	78	-15,61	1,85 mM	19
A3	34	-25,44	35,19 μM	36
A4	111	-24,35	54,50 μM	27
A5	102	-23,22	85,87 μM	66
A6	66	-23,60	73,40 μM	32
A7	132	-25,10	39,67 μM	51
A8	148	-28,16	11,58 μM	44
A9	17	-23,85	66,41 μM	54
A10	97	-21,05	207,18 μM	39
A11	41	-20,79	228,71 μM	41
A12	143	-21,05	204,90 μM	24
A13	21	-24,31	55,08 μM	40
A14	129	-23,14	87,79 μM	27
A15	33	-20,96	214,38 μM	30
A16	83	-22,68	105,64 μM	36
A17	54	-22,97	94,22 μM	42
A18	27	-20,63	244,08 μM	36
A19	51	-24,89	43,84 μM	33
A20	87	-25,23	38,09 μM	72

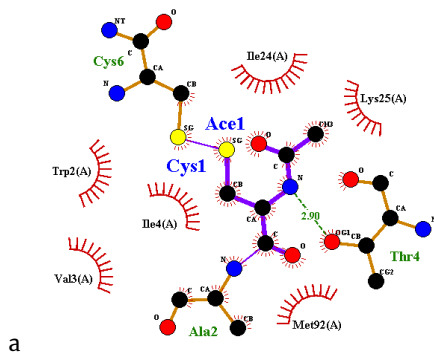


Gambar 4. Struktur *molecular docking* dari E-kadherin domain EC1-EC2 dengan peptida siklik ADTC3 menggunakan program ligplus.

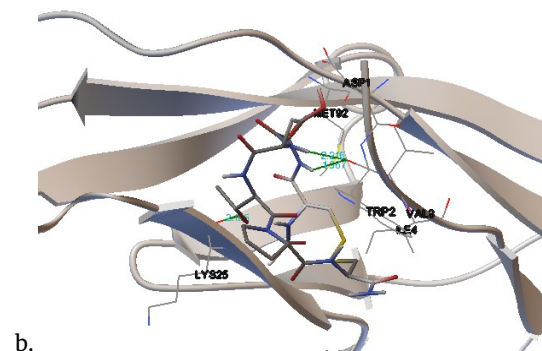
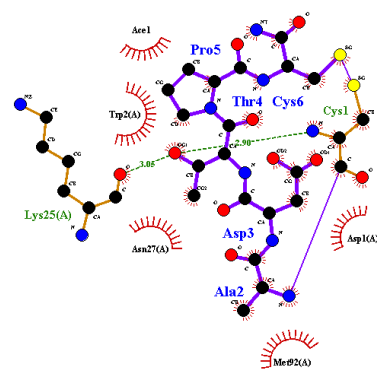
Berdasarkan hasil analisa docking terdapat beberapa *cluster* untuk tiap struktur, pemilihannya dimulai dari struktur dengan energi ikatnya paling minimum. Jika dihasilkan dua struktur atau lebih dengan energi paling minimum, maka dipilih struktur dengan frekuensi terbanyak. Dan hasil tersebut yang akan dilakukan validasi docking.

Validasi docking dengan dilakukan *Re-docking*

Setelah dilakukan *blind docking* dapat diketahui *binding site* antara peptida siklik ADTC3 dengan E-kadherin domain EC1-EC2. Kemudian dilakukan *re-docking* untuk memvalidasi hasil docking dan RMSD harus < 2 Å [22]. *Re-docking* dilakukan pada situs ikatan protein dengan parameter yang sama. Masing-masing konformasi memiliki situs ikatan protein yang berbeda, sehingga memiliki ukuran *gridbox* yang berbeda-beda tetapi *grid spacing* sama yaitu 0,375 Å. Berdasarkan hasil *re-docking* diperoleh *energy binding* terendah pada konformasi A8, Gambar 5, dengan *energy binding* sebesar -31,55 kJ/mol. Situs ikatan antara E-kadherin dengan ADTC3 adalah pada residu Asp1, Trp2, Val3, Ile4, Lys25, Met92, sama seperti pada *blind docking*. Data situs interaksi struktur konformasi A1-A20 terhadap E-kadherin domain EC1 dapat dilihat pada Tabel 4 dan Tabel 5.



a



b.

Gambar 5. Struktur *molecular docking* dari E-kadherin domain EC1-EC2 dengan peptida siklik ADTC3 menggunakan (a) *software* program Ligplus (b) *software* program Autodock.

Tabel 4. Situs interaksi peptida konformasi A dengan E-Kadherin domain EC1-EC2

Kode	Ikatan hidrogen		
	Interaksi	r (Å)	Jenis
A1	-	-	-
A2	-	-	-
A3	Lys25...Cys6	1,886	O...NH
A4	Lys25...Cys6	1,932	O...NH
A5	Trp2...Ala2	1,761	O...NH
	Lys25...Thr4	2,199	O...HG1
A6	Lys25...Cys6	2,014	O...NH
A7	-	-	-
A8	Lys25...Thr4	2,216	O...HG1
	Trp2...Ala2	1,967	O...NH
A9	Trp2...Asp3	2,165	O...NH
	-	-	-
A10	Lys25...Cys6	1,999	O...NH
A11	Lys25...Cys6	1,650	O...NH
A12	Lys25...Cys6	2,075	O...HT1
	Lys25...Cys6	1,987	O...NH
A13	Lys25...Cys6	1,840	O...NH
A14	Lys25...Cys6	2,203	O...NH
A15	Lys25...Cys6	2,229	O...HT1
A16	Lys25...Cys6	1,742	O...NH
A17	Lys25...Cys6	1,801	O...NH
A18	Lys25...Asp3	2,717	NZ...OD2
A19	Lys25...Cys6	1,856	O...NH
A20	-	-	-
A20	Lys25...Cys6	1,836	O...NH

Tabel 5. *Energy binding* dan K_i kode A hasil *Re-docking*

Kode	Pose	ΔG (kJ/mol)	K_i	RMSD (Å)
A1	123	-24,89	43,77 μM	3,27
A2	33	-25,23	38,01 μM	3,28
A3	10	-28,07	12,02 μM	0,45
A4	96	27,07	17,98 μM	0,49
A5	150	-29,16	7,81 μM	3,57
A6	132	-26,61	21,66 μM	0,83
A7	144	-30,00	5,55 μM	1,09
A8	105	-31,55	2,96 μM	0,26
A9	127	-27,99	12,54 μM	0,49
A10	12	-25,86	29,65 μM	2,84
A11	100	-23,97	62,98 μM	0,42
A12	67	-25,69	31,77 μM	0,50
A13	77	-28,33	10,93 μM	0,41
A14	81	-27,99	12,48 μM	0,87
A15	63	-26,94	18,99 μM	1,14
A16	79	-27,03	18,35 μM	0,29
A17	136	-26,32	24,55 μM	0,29
A18	39	-28,07	12,05 μM	0,51
A19	9	-27,99	12,54 μM	3,10
A20	145	-28,07	12,08 μM	0,44

Pada Tabel 4 dan Tabel 5 dapat dilihat bahwa daya penggerak (*driving force*) yang menyebabkan terjadinya interaksi antara peptida siklik ADTC3 dan E-kadherin domain EC1 adalah *energy binding* dan ikatan hidrogen [19]. Pada struktur konformasi A8 ikatan hidrogen terjadi antara E-kadherin dengan ADTC3 melalui residu Lys25...Thr4, Trp2...Ala2, Trp2...Asp3. Jenis ikatan hidrogen berturut-turut yaitu O...HG1, O...NH, O...NH dengan jarak masing-masing yaitu 2,216; 1,967; 2,165 Å. Interaksi yang paling baik terjadi pada konformasi yang memiliki energi paling minimum yaitu kode A8. *Energy binding* yang semakin negatif dipengaruhi oleh efek *cooperativity*. Efek *cooperativity* dipengaruhi interaksi non-kovalen [23]. Interaksi *cooperativity* terdiri dari tiga molekul atau lebih dan yang merupakan komponen penting dari interaksi antar molekul yaitu adanya ikatan hidrogen [24]. Semakin banyak interaksi yang terbentuk dalam pembentukan *molecular recognition* antara kompleks *host* dan *guest* maka molekulnya semakin stabil dan energinya semakin negatif atau disebut *negative cooperativity*. Pada hasil docking A8 memiliki jumlah ikatan hidrogen yang paling banyak dari pada konformasi yang lainnya, dengan adanya tiga ikatan hidrogen interaksinya semakin kompleks. Secara umum, jika ditinjau dari hubungan ΔG dan K_i semakin minimum *energy binding*nya maka kemampuan ADTC3 dalam menghambat EC1 semakin kuat, sehingga porositas *junction* antar sel dapat diatur.

4. Kesimpulan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa konformasi ADTC3 yang memiliki energi terendah tidak selalu berinteraksi lebih kuat dengan E-Kadherin domain EC1. Konformasi pada energi terendah adalah A1, sedangkan yang berinteraksi lebih kuat adalah konformasi A8 dengan *energy binding* sebesar -31,55 kJ/mol dengan situs ikatan pada residu Asp1, Trp2, Val3, Ile4, Lys25, Met92.

5. Acknowledgements

Terimakasih kepada Prof. Teruna J. Siahaan, Ph.D. (Departemen Kimia Farmasi Universitas Kansas, USA) yang telah memberikan masukan dan diskusi tentang penelitian dalam bidang *drug delivery* dan *drug targeting* pada sel dan sistem penghantaran obat. Terimakasih juga kepada Prof. Krzysztof Kuczera, Ph.D. (Departemen Kimia Universitas Kansas, USA) yang telah memberikan masukan dan diskusi tentang penelitian pemodelan komputasi molekul. Terimakasih kepada Kementerian Negara Riset dan Teknologi yang telah mendanai penelitian ini pada tahun 2013.

6. Referensi

- [1] Ahmed Alaofi, Elinaz Farokhi, Vivitri D. Prasasty, Asokan Anbanandam, Krzysztof Kuczera, Teruna J. Siahaan, Probing the interaction between CHAVC3 peptide and the EC1 domain of E-cadherin using NMR and molecular dynamics simulations, *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 35, 1, (2017) 92-104 <http://dx.doi.org/10.1080/07391102.2015.1133321>
- [2] Ernawati Sinaga, Seetharama D. S. Jois, Mike Avery, Irwan T. Makagiansar, Usman S. F. Tambunan, Kenneth L. Audus, Teruna J. Siahaan, Increasing Paracellular Porosity by E-Cadherin Peptides: Discovery of Bulge and Groove Regions in the EC1-Domain of E-Cadherin, *Pharmaceutical Research*, 19, 8, (2002) 1170-1179 <http://dx.doi.org/10.1023/a:1019850226631>
- [3] Karen L. Lutz, Teruna J. Siahaan, Molecular structure of the apical junction complex and its contribution to the paracellular barrier, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 86, 9, (1997) 977-984 <http://dx.doi.org/10.1021/js970134j>
- [4] M. S. Balda, K. Matter, Tight junctions, *Journal of Cell Science*, 111, 5, (1998) 541-547
- [5] Reinhard Gabathuler, Approaches to transport therapeutic drugs across the blood-brain barrier to treat brain diseases, *Neurobiology of Disease*, 37, 1, (2010) 48-57 <http://dx.doi.org/10.1016/j.nbd.2009.07.028>
- [6] Marlyn D. Laksitorini, Paul K. Kiptoo, Ngoc H. On, James A. Thliveris, Donald W. Miller, Teruna J. Siahaan, Modulation of Intercellular Junctions by Cyclic-ADT Peptides as a Method to Reversibly Increase Blood-Brain Barrier Permeability, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 104, 3, (2015) 1065-1075 <http://dx.doi.org/10.1002/jps.24309>
- [7] Shinji Hirano, Masatoshi Takeichi, Cadherins in Brain Morphogenesis and Wiring, *Physiological Reviews*, 92, 2, (2012) 597-634 <http://dx.doi.org/10.1152/physrev.00014.2011>

- [8] Natalie K. Lee, Ka Wai Fok, Amanda White, Nicole H. Wilson, Conor J. O'Leary, Hayley L. Cox, Magdalene Michael, Alpha S. Yap, Helen M. Cooper, Neogenin recruitment of the WAVE regulatory complex maintains adherens junction stability and tension, *Nature Communications*, 7, (2016) 11082 <http://dx.doi.org/10.1038/ncomms11082>
- [9] Ernawati Sinaga, Seetharama D. S. Jois, Mike Avery, Irwan Makagiansar, Usman S. F. Tambunan, Teruna J. Siahaan, Modulasi Junction Antar Sel Menggunakan Peptida Kadherin Upaya Meningkatkan Penghantaran Obat, *Makara Journal of Science*, 8, 1, (2004) 25-34 <http://dx.doi.org/10.7454/mss.v8i1.394>
- [10] VK Mourya, Nazma N Inamdar, Ashutosh Tiwari, Carboxymethyl chitosan and its applications, *Advanced Materials Letters*, 1, 1, (2010) 11-33 <http://dx.doi.org/10.5185/amlett.2010.3108>
- [11] Jae Hyung Park, Gurusamy Saravanakumar, Kwangmeyung Kim, Ick Chan Kwon, Targeted delivery of low molecular drugs using chitosan and its derivatives, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 62, 1, (2010) 28-41 <http://dx.doi.org/10.1016/j.addr.2009.10.003>
- [12] Marlyn Dian Laksitorini, Design of Cyclic-ADT Peptides to Improve Drug Delivery to the Brain via Inhibition of E-Cadherin Interactions at the Adherens Junction, in: *Pharmaceutical Chemistry*, University of Kansas, 2012.
- [13] Tomasz Makarewicz, Rajmund Kaźmierkiewicz, Molecular Dynamics Simulation by GROMACS Using GUI Plugin for PyMOL, *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53, 5, (2013) 1229-1234 <http://dx.doi.org/10.1021/ci400071x>
- [14] Miaoe Yu, Computational Modeling of Protein Dynamics with GROMACS and Java, in: *Computer Science*, San José State University, San José, California, 2012.
- [15] Sandeep Patel, Alexander D. Mackerell, Charles L. Brooks, CHARMM fluctuating charge force field for proteins: II Protein/solvent properties from molecular dynamics simulations using a nonadditive electrostatic model, *Journal of Computational Chemistry*, 25, 12, (2004) 1504-1514 <http://dx.doi.org/10.1002/jcc.20077>
- [16] Garrett M. Morris, Ruth Huey, William Lindstrom, Michel F. Sanner, Richard K. Belew, David S. Goodsell, Arthur J. Olson, AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility, *Journal of Computational Chemistry*, 30, 16, (2009) 2785-2791 <http://dx.doi.org/10.1002/jcc.21256>
- [17] Garrett M Morris, David S Goodsell, Robert S Halliday, Ruth Huey, William E Hart, Richard K Belew, Arthur J Olson, Automated docking using a Lamarckian genetic algorithm and an empirical binding free energy function, *Journal of computational chemistry*, 19, 14, (1998) 1639-1662 [http://dx.doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-987X\(19981115\)19:14<1639::AID-JCC10>3.0.CO;2-B](http://dx.doi.org/10.1002/(SICI)1096-987X(19981115)19:14<1639::AID-JCC10>3.0.CO;2-B)
- [18] Parsaoran Siahaan, Vivitri Dewi Prasasty, Bungaran David Simanjuntak, Suci Hildayani, Khairul Anam, Structural Stability of ADTC5 Peptide: Conformational Insights into Dynamics and Its Binding Mode, *Journal of Tropical Life Science*, 7, 2, (2017) 151-157
- [19] Ken A. Dill, Dominant forces in protein folding, *Biochemistry*, 29, 31, (1990) 7133-7155 <http://dx.doi.org/10.1021/bi00483a001>
- [20] Leonardo Ferreira, Ricardo dos Santos, Glaucius Oliva, Adriano Andricopulo, *Molecular docking and Structure-Based Drug Design Strategies*, *Molecules*, 20, 7, (2015) 13384
- [21] Emilio Parisini, Jonathan M. G. Higgins, Jin-huan Liu, Michael B. Brenner, Jia-huai Wang, The Crystal Structure of Human E-cadherin Domains 1 and 2, and Comparison with other Cadherins in the Context of Adhesion Mechanism, *Journal of Molecular Biology*, 373, 2, (2007) 401-411 <http://dx.doi.org/10.1016/j.jmb.2007.08.011>
- [22] P. Archana, N. Sathishkumar, N. Bharathi, In silico docking analysis of curcumin - an inhibitor for obesity, *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 1, 4, (2010) B-235
- [23] Xavier Lucas, Antonio Bauza, Antonio Frontera, David Quinonero, A thorough anion-[small pi] interaction study in biomolecules: on the importance of cooperativity effects, *Chemical Science*, 7, 2, (2016) 1038-1050 <http://dx.doi.org/10.1039/C5SC01386K>
- [24] Asit K. Chandra, Therese Zeegers-Huyskens, Theoretical Investigation of the Cooperativity in CH₃CHO.2H₂O, CH₂FCHO.2H₂O, and CH₃CFO.2H₂O Systems, *Journal of Atomic, Molecular & Optical Physics*, (2012) 1-8 <http://dx.doi.org/10.1155/2012/754879>