Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences

Journal homepage: https://prosiding.farmasi.unmul.ac.id

Penambatan Molekul Senyawa Turunan Beta Asaron Sebagai Antimalaria

Molecular Docking of Derivated Compounds of Asaron Beta as an Antimalaria

Salahuddin[1,2,*]

[1]Pusat Penelitian Kimia-LIPI, Tangerang, Indonesia
[2]Sekolah Farmasi, Institut Teknologi Bandung, Bandung, Indonesia
*E-mail : Uddin_Net@yahoo.co.id

Abstract

Beta Asarone derivatives are known for their potential as antimalarial. In the current study, the quantitave structure-activity relationship (QSAR) and molecular docking on 31 asarone derivatives was performed to search for novel more potent asarone derivatives as antimalaria. The obtained QSAR model was log IC_{50} = 2.57917 + 0.019377 (AM1_HF) + 5.82755 (glob) + 0.61384 (log s) + (-1.63312 (mr)) + 0.05564 (vol). Designing new compound of asarone derivatives was performed using the validated QSAR model and the result showed that two compounds, A5 and A18, had better activities than the parent compound (ASN27). Molecular docking study showed that the two compounds were able to interact with crucial amino acid residues in the allosteric site of protein receptor (PDB code: 1CET) through hydrogen bonds and van der Waals interactions. The current study indicated that the two compounds had affinity significantly different to native ligand and might be useful to be advanced in the drug discovery process.

Keywords: Beta asarone, QSAR, antimalarial, molecular docking.

Abstrak

Senyawa turunan beta asaron diketahui berpotensi sebagai antimalarial. Pada penelitian ini dilakukan studi hubungan kuantitatif stuktur dan aktivitas (HKSA) pada 31 senyawa turunan beta asaron untuk mendapatkan senyawa baru turunan beta asaron yang lebih poten sebagai antimalaria. Model HKSA terbaik yang diperoleh adalah log IC_{50} = 2.57917 + 0.019377 (AM1_HF) + 5.82755 (glob) + 0.61384 (log s) + (-1.63312 (mr)) + 0.05564 (vol). Desain senyawa baru dilakukan menggunakan model HKSA tervalidasi dan diperoleh 2 senyawa baru turunan asaron, A5 dan A18, yang memiliki aktivitas lebih baik dari senyawa induk (ASN27). Studi penambatan molekul menunjukkan bahwa kedua senyawa baru tersebut mampu berinteraksi residu asam amio krusial pada sisi alosterik protein reseptor (kode PDB: 1CET) melalui ikatan hidrogen dan ikatan *van der waals* dengan residu-residu asam amino krusial protein. Penelitian ini mengindikasikan bahwa kedua senyawa baru yang didesain mempunyai afinitas

yang berbeda secara sinifikan terhadap ligan alami dan dapat ditindaklanjuti pada studi penemuan obat.

Kata kunci: Beta asaron, HKSA, antimalaria, penambatan molekul

DOI: https://doi.org/10.25026/mpc.v13i1.476

1. Pendahuluan

Komputasi biologi dan bioinformatika berpotensi tidak hanya mempercepat proses penemuan obat sehingga dapat mengurangi biaya, tetapi juga mengubah cara obat dirancang. Desain obat rasional (RDD) membantu memfasilitasi dan mempercepat proses perancangan obat, yang melibatkan berbagai metode untuk mengidentifikasi senyawa baru. Salah satu metode tersebut adalah *docking* molekul obat dengan reseptor (target). Tempat aksi obat dimana yang bertanggung jawab atas efek farmasi, adalah reseptor. Di bidang pemodelan molekuler, *docking* adalah metode yang memprediksi orientasi optimal dari satu molekul dalam satu detik ketika terikat satu sama lain untuk membentuk kompleks yang stabil. Pengetahuan tentang orientasi yang optimal dapat digunakan untuk memprediksi kekuatan asosiasi atau ikatan afinitas antara dua molekul. *Docking* sering digunakan untuk memprediksi orientasi pengikatan molekul kecil kandidat obat ke target protein mereka supaya dapat memprediksi afinitas dan aktivitas molekul kecil.

Malaria adalah penyakit menular yang disebabkan oleh parasit (protozoa) dari genus plasmodium, yang dapat ditularkan melalui gigitan nyamuk anopheles. Penyakit ini merupakan salah satu penyakit infeksi yang tersebar diseluruh dunia. Penduduk yang berisiko terkena malaria berjumlah sekitar 2,3 miliar atau 41% dari jumlah penduduk dunia. Setiap tahun sekitar 300-500 juta penduduk dunia menderita penyakit ini dan mengakibatkan 1,5-2,7 juta kematian, terutama di negara-negara benua Afrika [1]. Di Indonesia jumlah kabupaten/kota endemik tahun 2004 sebanyak 424 dari 579 kabupaten/kota, dengan perkiraan persentase penduduk yang beresiko penularan sebesar 42,42%. Masalah malaria di Indonesia terutama terpusat di wilayah Indonesia bagian Timur, yaitu, Papua, Irian Jaya Barat, Maluku, Maluku Utara dan NTT [2].

Kasus resistensi parasit malaria terhadap klorokuin ditemukan pertama kali di Kalimantan Timur pada tahun 1973 untuk P. *falcifarum*, dan tahun 1991 untuk P. *vivax* di Nias. Sejak tahun 1990, kasus resistensi tersebut dilaporkan makin meluas di seluruh provinsi di Indonesia. Selain itu, dilaporkan juga adanya resistensi terhadap Sulfadoksin-Pirimethamin (SP) di beberapa tempat di Indonesia. Keadaan ini dapat meningkatkan morbiditas dan mortalitas penyakit malaria. Oleh sebab itu, untuk menanggulangi masalah resistensi tersebut (multiple drugs resistance) dan adanya obat anti malaria baru yang lebih paten, maka pemerintah telah merekomendasikan obat pilihan pengganti klorokuin dan SP, yaitu kombinasi derivat artemisinin dengan obat anti malaria lainnya yang biasa disebut dengan *Artemisinin based Combination Therapy* (ACT). Persentasi yang rendah artemisinin di tumbuhan dan kompleksitasnya total sintesisnya masih menjadi tantangan. Oleh karena itu, peranan klinis resisten terhadap artemisinin menjadi perhatian yang memotivasi peneliti untuk mencari alternatif sintesis biaya yang rendah pengobatan malaria. HKSA merupakan salah satu upaya untuk mencari struktur senyawa yang optimal aktivitasinya secara komputasi yang untuk selanjutnya dilakukan *docking* serta sintesisnya di lab basah.

Beta asaron atau khalkon (1,3-diaril-2-propen-1-ones) mempunyai sturktur sederhana yang banyak perhatian dikarenakan profil biologis yang luas seperti [3] antioksidan, antileismania, antitumor, antibakteri disamping aktivitas antimalarial. Setelah laporan pertama aktivitas antimalarial likokhlakon A (IC_{50} = 4,1 µM), sebuah bahan

alam yang diisolasi dari akar liquor cina, usaha ekstensiv telah dilakukan untuk memodifikasinya dan hubungan struktur dan akitvitas antimalarial novel khalkon lainnya [4-6].

Penelitian ini sebelumnya bertujuan mendapatkan persamaan HKSA yang valid, yang selanjutnya digunakan untuk desain senyawa baru berbasis beta asaron, senyawa desain dari model HKSA terpilih dipelajari interaksinya dengan protein target melalui studi penambatan molekul (*molecular docking*) dan diharapkan dapat menjadi kandidat alternatif yang murah dan bahan bakunya berlimpah dari senyawa turunan beta asaron, serta mampu mengatasi masalah resitensi obat antimalaria.

2. Metode Penelitian

2.1 Metode komputasi (data set)

Sebanyak 31 senyawa turunan asaron sebagai antimalaria diambil dari literatur [7]. Aktivitas penghambatan dalam IC_{50} dari 31 senyawa diubah ke dalam bentuk pIC_{50} dimana $pIC_{50} = -\text{Log } IC_{50}$.

2.2 Identifikasi Senyawa Pencilan (*outlier*)

Senyawa pencilan yaitu senyawa yang nilai aktivitasnya berada di luar daerah kurva distribusi normal, karena itu biasanya sebelum dilakukan analisis lebih lanjut, senyawa pencilan dieliminiasi dari data set. Identifikasi senyawa pencilan dilakukan dengan menghitung nilai *studentized deleted residual*, dimana senyawa dianggap sebagai pencilan jika memiliki nilai *studentized deleted residual* lebih tinggi dari 2 atau lebih rendah dari −2. Selanjutnya senyawa dikelompokkan ke dalam *training set* yang digunakan untuk membangun model HKSA, dan *test set* yang digunakan untuk validasi eksternal model HKSA yang telah dibangun.

2.3 Optimasi Geometri Senyawa dan Perhitungan Deskriptor

Pada setiap dari 23 senyawa, dilakukan optimasi geometri menggunakan perangkat lunak Gaussian 09[8]dengan metode semi empiris Austin-Model 1 (AM1). Selanjutnya pada setiap struktur senyawa yang telah dioptimasi dilakukan perhitungan nilai desktiptor menggunakan perangkat lunak *Molecular operating environment* (MOE 2009.10, lisensi ITB). Adapun deskriptor yang digunakan dalam penelitian ini adalah momen dipol (AM1_Dipol), energi total (AM1_E), energi elektronik (AM1_Eele), panas pembentukan (AM1_HF), energi HOMO/*Highest Occupied Molecular Orbital* (AM1_HOMO), energi LUMO/*Lowest Unoccupied Molecular Orbital* (AM1_LUMO), polaritas atom total (Apol), luas permukaan hidrofobik (ASA_H), kelarutan dalam air (Log S), koefisien partisi (Log P), globularitas (Glob), refraktivitas molar (Mr), dan volume van der Waals (Vol). Pemilihan ke-13 deskriptor tersebut dilakukan dengan mempertimbangkan sifat elektronik, sifat hidofobisitas, dan sifat sterik senyawa, yang ketiganya menentukan farmakokinetika dan farmakodinamika obat.

2.4 Membangun Model HKSA

Model HKSA dibangun dengan menggunakan analisis regresi multi linear dengan bantuan perangkat lunak SPSS versi 19. Model HKSA menghubungkan deskriptor sebagai variabel bebas (X) dan nilai pIC50 aktivitas penghambatan MEK sebagai variabel terikat. Validitas model HKSA diuji dengan kriteria statistik, seperti koefisien korelasi ($R2$), nilai F, dan nilai *standard error of estimate* (SEE)[9]. Disamping itu, validasi internal juga dilakukan dengan metode *leave-one-out* (LOO) *cross validation* dengan menghitung nilai koefisien validasi silang tersebut ($q2$). Pada metode LOO-CV, setiap senyawa dalam *training set* dieliminasi dan aktivitas biologisnya diprediksi menggunakan persamaan yang dibangun dari senyawa lain dalam *training set*. Nilai $q2$ dihitung menggunakan rumus berikut:

$$q^2 = 1 - \frac{\acute{O}(y-\hat{y})^2}{\acute{O}(y-\bar{y})^2} \quad \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots [1]$$

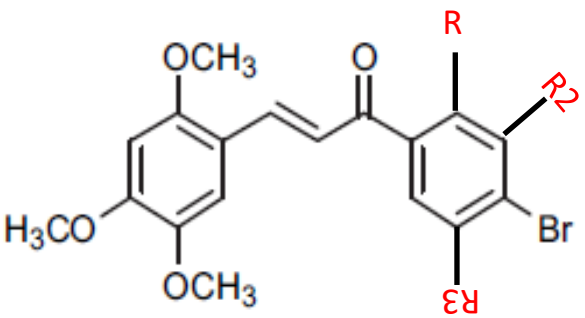
Dimana y aktivitas eksperimen senyawa i, $\hat{y}$ adalah aktivitas prediksi senyawa i, dan $\bar{y}$ adalah aktivitas eksperimen rata-rata. Nilai $q2 > 0.5$ disyaratkan agar sebuah model dianggap valid[10]. Di samping itu, model HKSA yang telah dibangun, juga harus diuji dengan validasi

eksternal menggunakan senyawa *test set*. Menurut Golbraikh *et al.* (2003) dan Tropsha dkk. (2003), nilai koefisien validasi eksternal *R*2 pred > 0.6 adalah indikasi bahwa model yang dibangun valid.

2.5 Desain Senyawa Baru dan Penambatan Molekul

Desain senyawa baru dilakukan dengan cara penambahan subtituen pada senyawa aktif yang dipilih. Senyawa aktif dipilih dari senyawa yang memiliki aktivitas penghambatan paling tinggi pada protein asaron yaitu senyawa 27 dengan IC_{50} 1,8 nM dan turunannya. Desain senyawa baru ini dilakukan dengan subtitusi pada cincin benzena rantai samping (3 gugus R). Subtituen dipilih dengan menggunakan pendekatan skema *Topliss* pada model HKSA *Hansch* untuk subtitusi aromatik pada posisi yang berbeda-beda (Gambar 1).

Studi penambatan molekul dilakukan dengan bantuan perangkat lunak yang diunduh dengan gratis yaitu AutoDock 4.2[11] pada protein MEK yang strukturnya didownload dari Protein Data Bank dengan kode akses 1CET. Sisi aktif protein dibuat mengikuti sisi pengikatan ligan alami (BBM) dengan lebar grid 50 x 50 x 50 pada sisi X Y Z dengan grid point spacing 0.375 Å. Penambatan molekul dilakukan sebanyak 50 kali pengulangan. Parameter lain digunakan mengikuti nilai *default*. Visualisasi hasil penambatan molekul dilakukan dengan *Discovery Studio Visualizer* 2016.



Gambar 1 Senyawa desain turunan ASN 27 menggunakan skema pendekatan Topliss

Tabel 1 Desain Senyawa Baru dan Penambatan Molekul

Senyawa Desain	R1	R2	R3
A1	Cl	-	-
A2	Br	-	-
A3	I	-	-
A4	F	-	-
A5	CF_3	-	-
A6	NO_2	-	-
A7	OCH_3	-	-
A8	$N(CH_3)_2$	-	-
A9	$N(C_2H_5)_2$	-	-
A10	NH_2	-	-
A11	$CONH_2$	-	-
A12	Etil	-	-
A13	Propil	-	-
A14	Iso-Propil	-	-
A15	Tert-Butil	-	-
A16	-	Cl	-
A17	-	Br	-
A18	-	I	-
A19	-	F	-
A20	-	CF_3	-
A21	-	NO_2	-
A22	-	OCH_3	-
A24	-	$N(CH_3)_2$	-
A25	-	$N(C_2H_5)_2$	-
A26	-	NH_2	-
A27	-	$CONH_2$	-
A28	-	Etil	-
A29	-	Propil	-
A30	-	Iso-Propil	-
A31	-	-	Cl
A32	-	-	Br
A33	-	-	I
A34	-	-	F
A35	-	-	CF_3
A36	-	-	NO_2
A37	-	-	OCH_3
A38	-	-	$N(CH_3)_2$
A39	-	-	$N(C_2H_5)_2$
A40	-	-	NH_2
A41	-	-	$CONH_2$
A42	-	-	Etil
A43	-	-	Propil
A44	-	-	Iso-Propil
A45	-	-	Tert-Butil

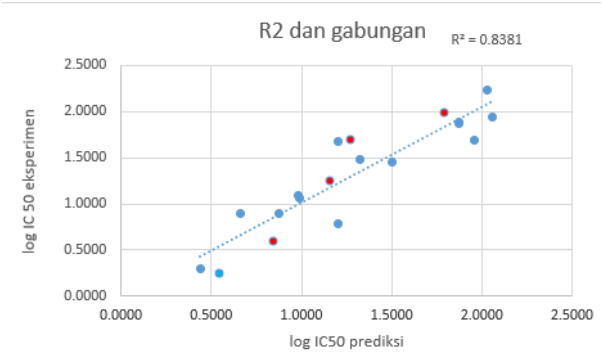
3. Hasil dan Pembahasan

Selanjutnya, senyawa *training set* yang terdiri dari 16 senyawa digunakan pada analisis regresi multilinear untuk membangun model HKSA. Hasil analisis regresi kemudian dikompilasi dan dirangking berdasarkan parameter statistik yang meliputi koefisien korelasi (*R*), koefisien determinasi (*R*2), nilai Fischer (*F*), dan nilai *standart error of estimate* (*SEE*). Dengan memperhatikan kriteria statistik dan juga jumlah deskriptor pada model HKSA yang dihasilkan, maka dipilih satu model HKSA seperti pada persamaan **(2)**.

Model HKSA tersebut telah memenuhi beberapa kriteria statistik, yaitu nilai koefisien validasi silang *q*2 sebesar 0.5802; nilai *R*2

sebesar 0.8381; *F*hitung/*F*tabel= 10,572; dan nilai SEE 0.28491, yang mengindikasikan bahwa model tersebut valid. **Tabel 2** menampilkan deskriptor dan parameter statistik model HKSA terpilih.

$$\log IC_{50} = 2.57917 + 0.019377\ (AM1_HF) + 5.82755\ (glob) + 0.61384\ (\log s) + (-1.63312\ (mr)) + 0.05564\ (vol) \quad \text{.....[2]}$$



Gambar 2 hubungan antara nilai pIC_{50} prediksi versus pIC_{50}

Tabel 2 Deskriptor dan parameter statistik model HKSA terpilih

Menurut model HKSA di atas, aktivitas penghambatan senyawa dipengaruhi oleh deskriptor panas pembentukkan (AM1_HF), refraktivitas molar (Mr), globularitas (Glob), kelarutan dalam air (Log S), dan volume van der Waals (Vol). Model tersebut mengindikasikan kontribusi positif AM1_HF, glob, Log S, dan Vol, serta kontribusi negatif Mr, terhadap aktivitas antimalaria senyawa turunan beta asaron. Hal ini berarti penurunan nilai Mr senyawa turunan beta asaron akan meningkatkan aktivitas antimalaria. Selain itu, diketahui dari model HKSA tersebut, dekskriptor yang paling berpengaruh adalah Globularitas (Glob).

Realibilitas model selanjutnya dinilai dengan validasi eksternal menggunakan senyawa *test set* dengan menghitung nilai koefisien korelasi prediksi (*R*2pred). Hasil analisis menunjukkan bahwa model tersebut memiliki nilai *R*2pred = 0,8638, yang mengindikasi bahwa model HKSA yang dibangun valid [12-13]. Hubungan antara nilai pIC50 prediksi versus pIC50 eksperimen ditampilkan pada **Gambar 2**.

Desain Senyawa Baru dan Penambatan Molekul

Desain senyawa baru turunan beta asaron dilakukan menggunakan persamaan HKSA yang diperoleh dengan cara penambahan subtituen pada senyawa induk pada gugus benzena rantai samping (gugus R). Hal ini diharapkan dengan modifikasi struktur senyawa turunan beta asarone pada bagian benzen rantai samping akan menghasilkan perubahan profil farmakologi. Hasil penelitian menunjukkan terdapat 7 senyawa yaitu A5 dan A18 yang memiliki aktivitas antimalarial lebih baik dari senyawa induk. **Gambar 3** menampilkan struktur senyawa induk (*parent compound*), senyawa desain A5 dan A18.

Selanjutnya, studi penambatan molekul pada protein asaron (kode PDB: 1CET) dilakukan untuk melihat interaksi ligan dengan protein target. Validasi penambatan molekul dilakukan dengan *redocking* ligan alami (native ligand*)* (**Gambar 4**).

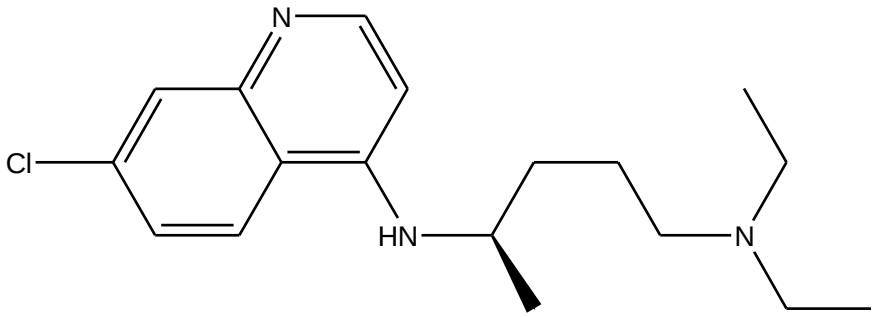
Interaksi protein dan ligan alami (klorokuin) yaitu ILE119, ILE54, ALA98, PHE52, VAL26, GLU122, TYR85. Intrekasi ligan alami dengan reseptor didukung oleh ikatan hidrogen antara atom H gugus amino pada rantai samping dengan gugus amino pada GLU 122. Selain itu residu asam amino berinteraksi Lys118, Gly 27, ASP53 teramati berinteraksi ikatan *van der walls* dengan ligan alami.

Selanjutnya, Interaksi senyawa induk (asaron no. 27 atau ASN 27) dengan protein yaitu ILE 119, ASP53, ALA98, GLU122, LEU115, dan ILE54. Residu asam amino Lys118, Phe52, Tyr85, Ser28, Gly27, Gly99, dan Phe100 berinteraksi ikatan *van der walls* dengan ligan alami. Dengan nilai *binding energy* -6,22 dan konstanta inhibisi 27,67 uM.

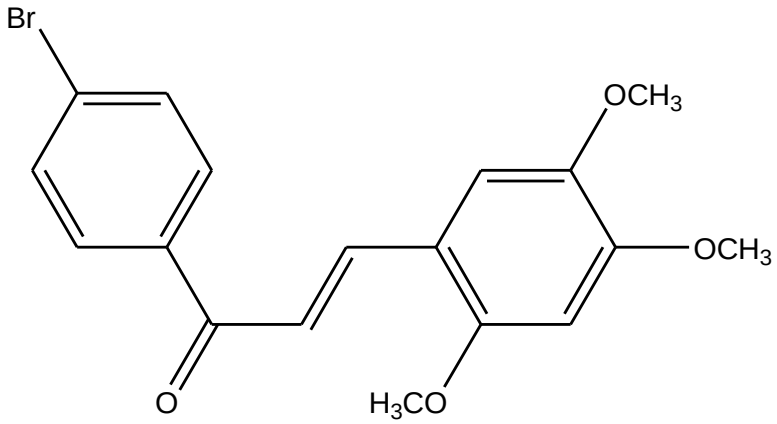
Interkasi-interaksi protein pun juga terjadi sama halnya dengan senyawa-senyawa obat baru yang didesain, yaitu diantaranya sebagai contoh A5 dan A18. Interaksi senyawa (A5) dengan protein yaitu ILE 119, LYS118,

ALA98, ILE54, ASP53, GLY27, VAL26, PHE52, TYR85, dan PHE100. Ikatan hidrogen terjadi antara protein ILE54 dengan atom Flour pada ligan, serta ikatan *van der walls* terjadi antara protein PHE100, GLU122, GLY99, GLY27 dengan ligan. Selain itu, Interaksi senyawa (A18) dengan protein yaitu ILE119, LEU115, TYR85, GLU122,I LE54, ALA98. Ikatan *van der walls* terjadi antara protein GLY99, PHE100, GLY27, PHE52, dan LYS118 dengan ligan.

Selain prediksi modus pengikatan ligan pada sisi aktif protein target, studi penambatan molekul juga mampu memprediksi afinitas ikatan setiap ligan yang direpresentasikan dalam bentuk energi ikatan. Pada penelitian ini, energi ikatan senyawa induk, senyawa desain A5 dan A18, beruturut-turut adalah −4.34 kkal/mol, −5,17 kkal/mol, sedangkan nilai konstanta inhibisi berturut-turut 659.29 dan 162.30 uM. Namun, pada banyak studi diindikasikan bahwa metode penambatan molekul dengan *AutoDock* sangat baik digunakan untuk prediksi modus pengikatan ligan, namun kurang akurat untuk prediksi afinitas, sehingga data-data energi ikatan di atas tidak mencerminkan afinitas ligan yang sebenarnya[14].



(A) Ligan alami, IC50 = μM

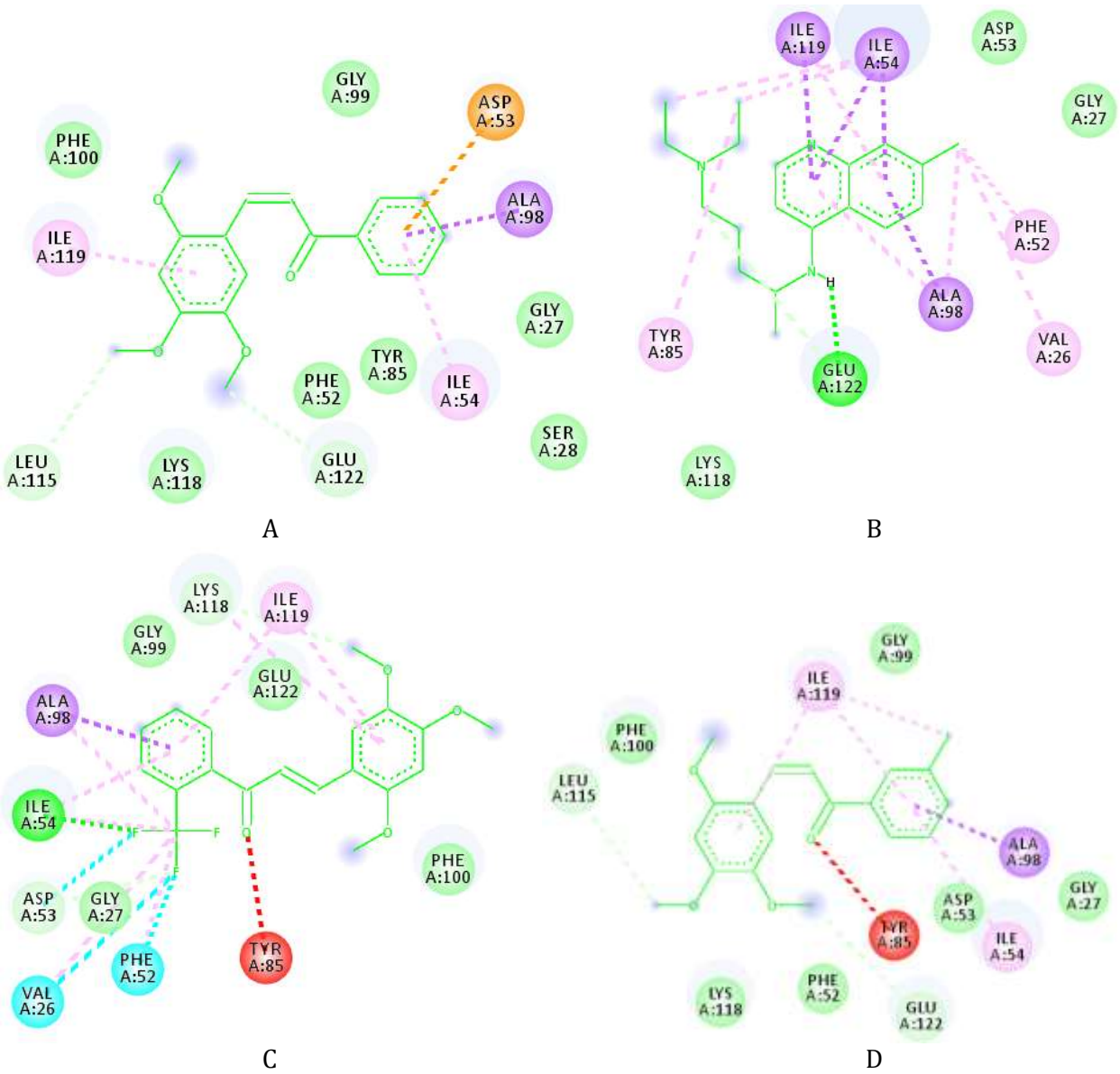


(B) Senyawa induk, IC50 = 1,8 μM

Gambar 3 Struktur-struktur kimia (A) Ligan alami dan (B) Senyawa induk

Tabel nilai IC_{50}, dan nilai *Binding energy* senyawa ligan alami, senyawa induk, A5 dan A18 pada sisi pengikatan protein reseptor **(kode PDB: 1CET)**

Senyawa desain	R1	R2	R3	IC_{50} prediksi (μM)	Binding energy
5	I	-	-	0.0196	-4.34
18	-	I	-	1.4746	-5.17



Gambar 4 Interaksi ligan alami (klorokuin), senyawa induk, A5 dan A18 pada sisi pengikatan protein reseptor (kode PDB: 1CET). Garis hijau putus-putus adalah ikatan hidrogen.

4. Kesimpulan

Berdasarkan nilai IC_{50} prediksi dapat disimpulkan bahwa desain senyawa obat baru yang didesain (A5 dan A18) IC_{50} prediksinya lebih baik jika dibandingkan dengan ASN27. Selain itu, hasil *docking* yang dilakukan afinitas senyawa-senyawa prediksi lebih baik daripada afinitas dari senyawa ligan alami. Penelitian ini dapat menjadi acuan bahwa senyawa yang diperoleh hasil prediksi HKSA dan *docking* dapat dijadikan pengembangan turunan antimalarial untuk penelitian selanjutnya yaitu dilakukan lab basah atau sintesis di laboratorarium.

5. Ucapan terima kasih

Penulis berterima kasih pada saudara Arfan atas kontribusinya dalam membantu membimbing penelitian *docking* ini.

6. Daftar Pustaka

[1] World Health Organization. 2011. World Malaria Report 2011. United Nations Children's Fund, World Health Organization, Geneva, Switzerland.

http://www.rollbackmalaria.org/wmr2011/pdf/WMReport Ir.pdf

[2] Harijanto P.N., Nugroho A., Gunawan A.C., 2009, Malaria dari Molekuler ke Klinis, Edisi 2, Penerbit Buku Kedokteran (EGC)3. Z. Nowakowska, Eur. J. Med. Chem. 42 (2007) 125e137.

[3] Z. Nowakowska, Eur. J. Med. Chem. 42 (2007) 125e137.

[4] M. Liu, P. Wilairat, S.L. Croft, A.L.C. Tan, M.L. Go, Bioorg. Med. Chem. 11 (2003) 2729e2738.

[5] M. Liu, P. Wilairat, M.L. Go, J. Med. Chem. 44 (2001) 4443e4452.

[6] R. Li, X. Chen, B. Gong, J.N. Dominguez, E. Davidson, G. Kurzban, R.E. Miller, E.O. Nuzum, P.J. Rosenthal, J.H. McKerrow, J. Med. Chem. 38 (1995) 5031e5037.

[7] Kumar R, Mohanakrishnan D, Sharma A, Kaushik NK, Kalia K, Sinha AK, Sahal D. Reinvestigation of structure–activity relationship of methoxylated chalcones as antimalarials: Synthesis and evaluation of 2, 4, 5-trimethoxy substituted patterns as lead candidates derived from abundantly available natural β-asarone. European journal of medicinal chemistry. 2010 Nov 1;45(11):5292-301.

[8] Frisch MJ, Trucks GW, Schlegel HB, Scuseria GE, Robb MA, Cheeseman JR, Scalmani G, Barone V, Mennucci B, Petersson GA, Nakatsuji H, Caricato M, Li X, Hratchian HP, Izmaylov AF, Bloino J, Zheng G, Sonnenberg JL, Hada M, Ehara M, Toyota K, Fukuda R, Hasegawa J, Ishida M, Nakajima T, Honda Y, Kitao O, Nakai H, Vreven T, Montgomery JA, Peralta JE, Ogliaro F, Bearpark M, Heyd JJ, Brothers E, Kudin KN, Staroverov VN, Kobayashi R, Normand J, Raghavachari K, Rendell A, Burant JC, Iyengar SS, Tomasi J, Cossi M, Rega N, Millam JM, Klene M, Knox JE, Cross JB, Bakken V, Adamo C, Jaramillo J, Gomperts R, Stratmann RE, Yazyev O, Austin AJ, Cammi R, Pomelli C, Ochterski JW, Martin RL, Morokuma K, Zakrzewski VG, Voth GA, Salvador P, Dannenberg JJ, Dapprich S, Daniels AD, Farkas, Foresman JB, Ortiz JV, Cioslowski J, Fox DJ. 2009. Gaussian 09, Revision B.01. Wallingford CT (USA): Gaussian Inc.

[9] Dearden JC, Cronin MTD, Kaiser KLE. 2009. How not to develop a quantitative structure–activity or structure–property relationship (QSAR/QSPR). *SAR QSAR in Environmental Research*. 20: 241–266.

[10] Golbraikh A, Tropsha A. 2002. Beware of q2! *Journal of Molecular Graphics and Modeling*. 20(4): 269–276

[11] Morris GM, Goodsell DS, Halliday RS, Huey R, Hart WE, Belew RK, Olson AJ. 1998. Automated docking using a Lamarckian genetic algorithm and an empirical binding free energy function. *Journal of Molecular Modeling*. 19: 1639–1662.

[12] Golbraikh A, Shen M, Xiao Z, Xiao YD, Lee KH, Tropsha, A. 2003. Rational selection of training and test sets for the development of validated QSAR models. *Journal of Computer Aided Moelcular Design*. 17: 241–253.

[13] Ruslin, Nirwana, Arba M, Mukhsar, Tjahjono DH. 2017. QSAR, Molecular docking and dynamics studies of pyrrolo[2,3-*b*]pyridine derivatives as bruton's tyrosine kinase inhibitors. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 7(12): 001-007.

[14] Arba M, Ruslin, Ihsan S, Wahyudi ST, Tjahjono DH. 2017. Molecular modeling of cationic porphyrin-anthraquinone hybrids as DNA topoisomerase IIβ inhibitors. *Computational Biology and Chemistry*. 71: 129–135. DOI: 10.1016/j.compbiolchem.2017.10.002.

[15] Richon AB. 1994. An Introduction to Molecular Modeling 1: 83.

[16] Prakash N, Patel S, Faldu NJ, Ranjan R, Sudheer DV. 2010. Molecular docking studies of antimalarial drugs for malaria. J Comput Sci Syst Biol. 3(3):70-3.