



## STUDI IN SILICO SIFAT FARMAKOKINETIK, TOKSISITAS, DAN AKTIVITAS IMUNOMODULATOR BRAZILEIN KAYU SECANG TERHADAP ENZIM 3-CHYMOTRYPSIN-LIKE CYSTEINE PROTEASE CORONAVIRUS

Dwi Krihariyani<sup>1\*</sup> · Retno Sasongkowati<sup>1</sup> · Edy Haryanto<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Teknologi Laboratorium Medik, Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Surabaya,  
Jawa Timur, Indonesia  
e-Mail : dwikrihariyani@gmail.com

### ABSTRACT

The 3-chymotrypsin-like cysteine protease (3CL<sup>pro</sup>) is an enzyme that control replication of the coronavirus life cycle. The 3CL<sup>pro</sup> is a biological target that will interact with drugs. Brazilein is a major compound found in secang wood that used as an immunomodulator. This study aims to predict the immunomodulatory activity of the brazilein against the 3CL<sup>pro</sup> using in silico method, with curcumin as comparative compound. In silico test was used to predict immunomodulatory activity by docking using the Molegro Virtual Docke. Receptors used are 3CL<sup>pro</sup>, PDB code: 6M2N, with ligand 3WL\_401[C]. pkCSM online program used to predict pharmacokinetic properties (ADME) and toxicity from brazilein and curcumin. Data was analyzed by comparing the docking bond energy between brazilein, ligands and curcumin at the target receptor. The lower the ligand bond energy, the more stable the bond is formed. The results of the in silico test showed that the ligand bond energy = -83,1153kcal/mol, brazilein = -82.0583kcal/mol, and curcumin = -115.852kcal/mol. Brazilein has lower potential as an immunomodulator than ligands and curcumin. The results of the in silico test using the pkCSM online program showed that the brazilein compound had good pharmacokinetic properties and low toxicity.

**Keywords:** ADMET, brazilein, 3WL\_401[C], curcumin

### ABSTRAK

Enzim 3-chymotrypsin-like cysteine protease (3CL<sup>pro</sup>) adalah enzim yang berfungsi mengendalikan replikasi dalam siklus hidup *coronavirus*. Enzim 3CL<sup>pro</sup> adalah target biologis (reseptor) yang akan berinteraksi dengan obat (ligan). Brazilein merupakan kandungan senyawa mayor dalam kayu secang yang secara empiris digunakan sebagai imunomodulator. Penelitian ini bertujuan untuk memprediksi secara *in silico* aktivitas imunomodulator senyawa brazilein terhadap enzim 3CL<sup>pro</sup>, dengan senyawa pembanding kurkumin. Uji *in silico* digunakan untuk memprediksi aktivitas imunomodulator dengan melakukan *docking* menggunakan program komputer *Molegro Virtual Docker*. Reseptor yang digunakan adalah 3CL<sup>pro</sup>, kode PDB: 6M2N, dengan ligan 3WL\_401[C]. Prediksi sifat farmakokinetik (ADME) dan toksisitas brazilein dan kurkumin dilakukan menggunakan program *pkCSM online tool*. Analisis data dilakukan dengan membandingkan energi ikatan hasil *docking* antara brazilein, ligan, dan kurkumin pada reseptor target. Semakin rendah energi ikatan ligan dengan reseptor target, semakin stabil ikatan yang terbentuk. Hasil uji *in silico* menunjukkan bahwa energi ikatan ligan = -83.1153kcal/mol, brazilein = -82.0583kcal/mol, dan kurkumin = -115.852kcal/mol. Hasil uji di atas menunjukkan bahwa brazilein memiliki potensi sebagai imunomodulator meskipun lebih rendah dibanding ligan dan kurkumin. Hasil uji *in silico* menggunakan program *pkCSM online tool* menunjukkan bahwa senyawa brazilein mempunyai sifat farmakokinetik yang baik, dan menimbulkan toksisitas yang relatif rendah.

**Kata Kunci :** ADMET, brazilein, 3WL\_401[C], kurkumin

## PENDAHULUAN

Pada bulan Desember 2019, kasus pneumonia yang tidak diketahui etiologinya pertama kali dilaporkan di Kota Wuhan, Provinsi Hubei, Cina. Setelah dilakukan penelitian terhadap sampel yang diisolasi dari penderita menunjukkan etiologi jenis virus corona baru. Awalnya penyakit ini dinamakan 2019 *novel coronavirus* (2019-nCoV), kemudian pada 11 Februari 2020, WHO mengumumkan nama baru yaitu *Coronavirus Disease* (Covid-19) yang disebabkan oleh *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2* (SARS-CoV-2) (Porcheddu et.al., 2020). Selanjutnya, WHO mendeklarasikan Covid-19 sebagai Kedaruratan Kesehatan Masyarakat Yang Meresahkan Dunia/*Public Health Emergency of International Concern* (KKMMD/PHEIC) pada tanggal 30 Januari 2020 di seluruh dunia. Komisi Klasifikasi Virus Internasional menyebutkan bahwa virus penyebab Covid-19 adalah SARS-CoV-2. Kemudian WHO mendeklarasikan Covid-19 sebagai pandemi (Meethal et al., 2020).

Virus corona adalah salah satu patogen yang dapat menginfeksi sistem pernafasan manusia, mulai dari gejala yang ringan sampai berat. Ada tujuh genom virus corona yang dapat menginfeksi manusia. Empat di antaranya yaitu HCoV-NL63, HCoV-229E, HCoV-OC43 dan HKU1, dapat menginfeksi dengan gejala ringan, biasa terjadi pada orang penderita imunokompeten. Tiga lainnya adalah *Middle East Respiratory Syndrome* (MERS), *Severe Acute Respiratory Syndrome* (SARS) dan *Novel Coronavirus 2019* (2019-nCoV) menginfeksi dengan gejala berat sehingga terjadi pandemi di seluruh dunia (Rothan & Byrareddy, 2020).

Sampai dengan tanggal 25 Maret 2020, telah dilaporkan sebanyak 414.179 kasus dengan kasus kematian sebanyak 18.440 (CFR 4,4%) di 192 negara atau wilayah. Diantara kasus tersebut, sudah ada beberapa petugas kesehatan yang terinfeksi. Pada tanggal 2 Maret 2020, Indonesia sudah melaporkan 2 kasus Covid-19. Sampai dengan tanggal 25 Maret 2020, Indonesia melaporkan 790 kasus Covid-19 dari 24 Provinsi yaitu konfirmasi COVID-19 dari 24 Provinsi yaitu:

Bali, Banten, DIY, DKI Jakarta, Jambi, Jawa Barat, Jawa Tengah, Jawa Timur, Kalimantan Barat, Kalimantan Timur, Kalimantan Tengah, Kalimantan Selatan, Kep. Riau, Nusa Tenggara Barat, Sumatera Selatan, Sumatera Utara, Sulawesi Utara, Sulawesi Tenggara, Sulawesi Selatan, Lampung, Riau, Maluku Utara, Maluku dan Papua. Wilayah dengan transmisi lokal di Indonesia adalah DKI Jakarta, Banten (Kab. Tangerang, Kota Tangerang), Jawa Barat (Kota Bandung, Kab. Bekasi, Kota Bekasi, Kota Depok, Kab. Bogor, Kab. Karawang), Jawa Timur (kab. Malang, Kab. Magetan dan Kota Surabaya) dan Jawa Tengah (Kota Surakarta) (Kementerian Kesehatan RI, 2020).

Virus corona adalah virus RNA untai tunggal sense-positif yang memiliki genom RNA virus besar (Chen et al., 2020). Studi terbaru menunjukkan bahwa SARS-CoV-2 memiliki susunan genom yang mirip dengan beta-coronavirus, yang terdiri dari 5'-*untranslated region* (UTR), replikasi kompleks (*orf1ab*) yang mengkode protein non-struktural (*nsps*), protein *spike gen* (*S*), gen protein *envelope* protein (*E*), gen protein membran (*M*), gen protein nukleokapsid (*N*), 3'-UTR, dan beberapa *open reading frames* (*orf*) non-struktural yang tidak teridentifikasi (Zhu et al., 2020). Meskipun SARS-CoV-2 diklasifikasikan ke dalam kelompok beta-coronavirus, namun berbeda dari MERS-CoV dan SARS-CoV. Studi terbaru menyoroti bahwa gen SARS-CoV-2 berbagi <80% identitas nukleotida dan 89,10% kesamaan nukleotida dengan gen SARS-CoV (Wu et al., 2020; Zhou et al., 2020). Biasanya, beta-coronavirus menghasilkan polipeptida ~800 kDa pada saat transkripsi genom. Polipeptida ini terpecah secara proteolitik untuk menghasilkan berbagai protein. Proses proteolitik dimediasi oleh protease seperti papain ( $PL^{pro}$ ) dan protease seperti 3 *chymotrypsin* ( $3CL^{pro}$ ).  $3CL^{pro}$  memecah protein di 11 situs berbeda untuk menghasilkan berbagai protein non-struktural yang penting untuk replikasi virus (Tahir ul Qamar et al., 2020).  $3CL^{pro}$  memainkan peran penting dalam replikasi partikel virus dan tidak seperti gen pengkode protein struktural atau aksesori, ia terletak di ujung 3' yang menunjukkan variabilitas yang berlebihan. Oleh karena itu,  $3CL^{pro}$  adalah target potensial untuk skrining *inhibitor anti-coronavirus* (Needle et al., 2015).

Analisis aktivitas berbasis struktur dan studi lebih tinggi telah mengidentifikasi inhibitor potensial untuk SARS-CoV dan MERS-CoV 3CL<sup>pro</sup> (Kumar et al., 2016; Pillaiyar et al., 2016).

Brazilein kayu secang dapat dikembangkan sebagai imunomodulator. Dikembangkan dalam suatu rancangan obat. Rancangan obat sering digambarkan sebagai proses elaborasi sistematis untuk mengembangkan lebih lanjut obat yang sudah ada dengan tujuan mendapatkan obat baru dengan aktivitas yang lebih baik dan mengurangi atau menghilangkan efek samping yang ada melalui manipulasi molekul. Manipulasi molekul atau modifikasi struktur adalah mensintesis sejumlah turunan induk, melakukan identifikasi struktur dan menguji aktivitas biologisnya. Perubahan struktur dari suatu senyawa akan mengubah sifat fisikokimia senyawa, termasuk sifat lipofilik, elektronik dan sterik, dan hal ini dapat menyebabkan perubahan aktivitas biologis senyawa. Agar lebih efektif dan efisien dalam melakukan modifikasi struktur, sebelum senyawa disintesis diperlukan suatu upaya untuk memprediksi sifat kimia molekul senyawa, sifat farmakokinetik (ADME), toksisitas, dan mengetahui gambaran interaksi obat dengan reseptor secara *in silico* (Hardjono, 2017).

## BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan terdiri dari struktur 3 dimensi (PDB ID : 6M2N) SARS-CoV-2 3CL *protease* (3CL pro) *in complex with a novel inhibitor* yang diunduh dari <http://www.rcsb.org/pdb/home.do>. Kemudian struktur 3 dimensi dari brazilein, kurkumin, dan ligan 3WL\_401[C] diunduh dari <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/>. Alat yang digunakan berupa seperangkat komputer dengan spesifikasi *windows 8 64 bit* dan program *ChemDraw Professional 16.0*, *Chem3D 16.0*, dan *Molegro Virtual Docker 5*.

### Prediksi Aktifitas (Doking Molekul)

Senyawa yang akan *didocking* yaitu brazilein, kurkumin, dan ligan 3WL\_401[C] digambar struktur 2-D menggunakan *ChemDraw Professional 16.0*. kemudian dikonversi menjadi 3-D menggunakan *Chem3D 16.0*. dan ditentukan konformasi yang paling stabil. Setelah diukur energi minimalnya kemudian disimpan dalam bentuk mol2 {SYBYL2(\*.mol2)}. Struktur protein SARS-CoV-2 3CL protease (3CL pro) *in complex with a novel inhibitor* (PDB ID : 6M2N) diperoleh dari Bank Data Protein. Hasil yang didapat berupa nilai *Rerank Score* (RS), yaitu energi yang diperlukan dalam proses interaksi ligan-reseptor, dan dari nilai tersebut dapat diprediksi aktivitas imunomodulator brazilein kayu secang (*Caesalpinia sappan L.*) terhadap SARS-CoV-2 3CL protease (3CL pro) *in complex with a novel inhibitor*.

#### **Prediksi Sifat Fisikokimia, Farmakokinetik, dan Toksisitas Senyawa (pkCSM)**

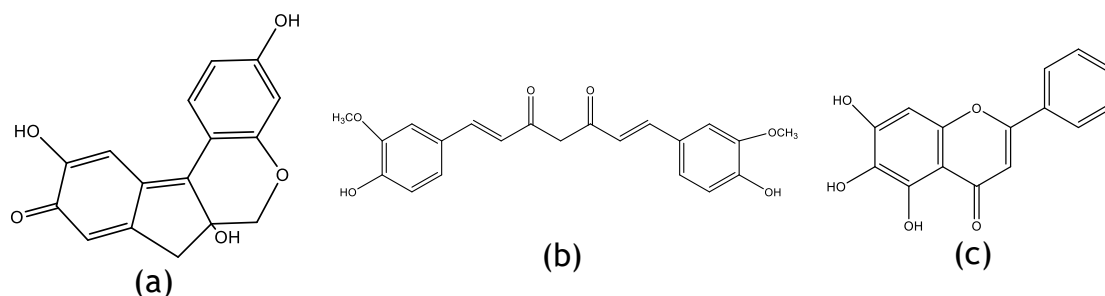
Prediksi sifat fisikokimia seperti : Berat Molekul (BM), *logaritma koefisien partisi oktanol/air* (Log P), jumlah ikatan antar atom yang dapat berotasi (Torsion); *Hydrogen Bond Acceptors* (HBA), *Hydrogen Bond Donors* (HBD), dan *Polar Surface Activity* (PSA) dilakukan dengan menggunakan *pkCSM online tool*. Prediksi sifat farmakokinetika (ADME: absorpsi, distribusi, metabolisme dan ekskresi) serta toksisitas dari senyawa brazilein, kurkumin, dan ligan 3WL\_401[C] juga dilakukan dengan menggunakan *pkCSM online tool*. Pertama, senyawa brazilein, kurkumin, dan ligan 3WL\_401[C] digambar struktur molekul 2-D dengan program *ChemDraw Professional 16.0*, kemudian dikopi pada program *Chem3D 16.0* untuk membuat struktur 3-D, selanjutnya disimpan dalam bentuk file\*.sdf. Kedua, struktur brazilein, kurkumin, dan ligan 3WL\_401[C] diterjemahkan menjadi bentuk format SMILES dengan menggunakan bantuan *Online SMILES Translator* (<https://cactus.nci.nih.gov/translate/>). Dalam bentuk format SMILES inilah senyawa diproses menggunakan *pkCSMonlinetool* (<http://biosig.unimelb.edu.au/pkcsm/prediction>) untuk memprediksi ADME dan toksisitas senyawa. Untuk memprediksi toksisitas (LD50) per oral pada

---

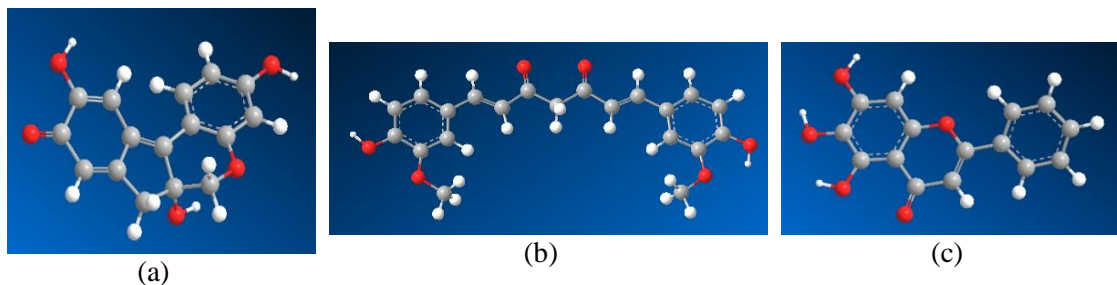
globally harmonized system (GSH) digunakan *Protox online tool* (<http://tox.charite.de/tox/>) (Hardjono, 2017; Pires et al., 2015).

## HASIL

Hasil pembuatan struktur 2-D menggunakan *ChemDraw Professional 16.0* ditunjukkan pada Gambar 1. Struktur 2D kemudian digunakan untuk membuat struktur 3-D menggunakan *Chem3D 16.0*. Struktur 3D selanjutnya digunakan pada semua tahapan doking ditunjukkan pada Gambar 2.



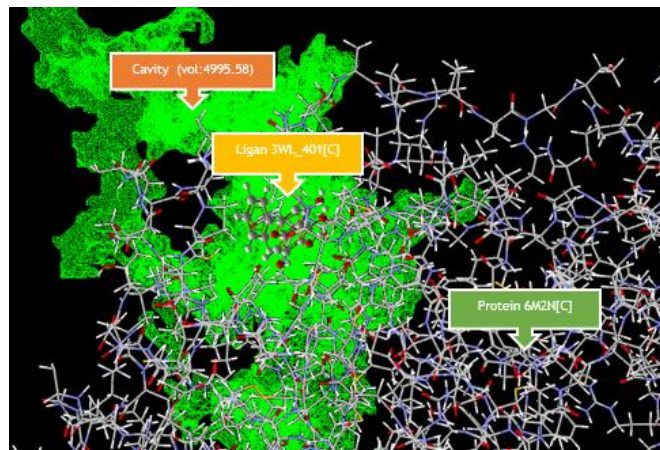
Gambar 1. Struktur 2 dimensi senyawa (a) brazilein; (b) kurkumin; (c) ligan 3WL\_401[C]



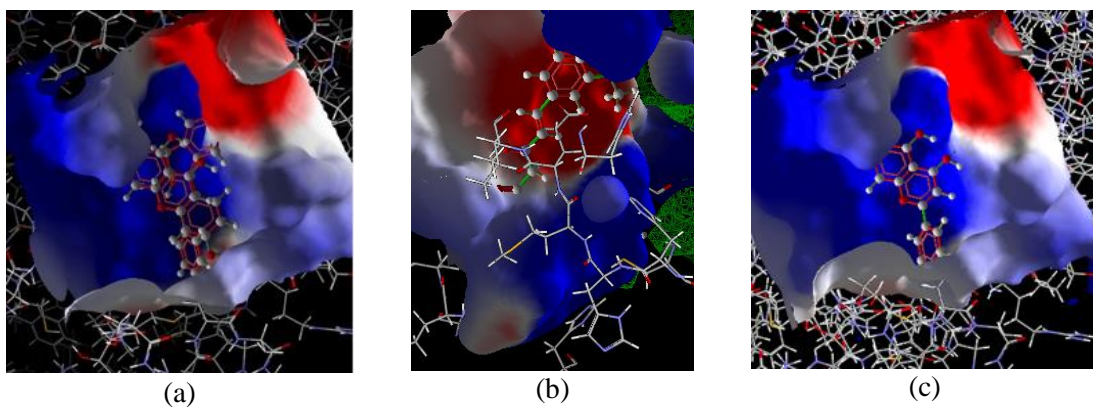
Gambar 2. Struktur 3-D yang disimpan dalam SYBYL2 (a) brazilein; (b) kurkumin; (c) ligan 3WL\_401[C]

Reseptor Protease yang telah diunduh pada Protein Data Bank kode 6M2N, dan telah diimport pada program *Molegro Virtual Docker* ditunjukkan pada Gambar 3. Hasil deteksi tempat berinteraksi antara ligand dan reseptor (*cavity*) pada protein 6M2N[C] ditunjukkan dengan gambar 4. *Cavity* yang digunakan adalah *cavity* (volume : 4995.58) dengan *active* Ligan 3WL\_401[C].

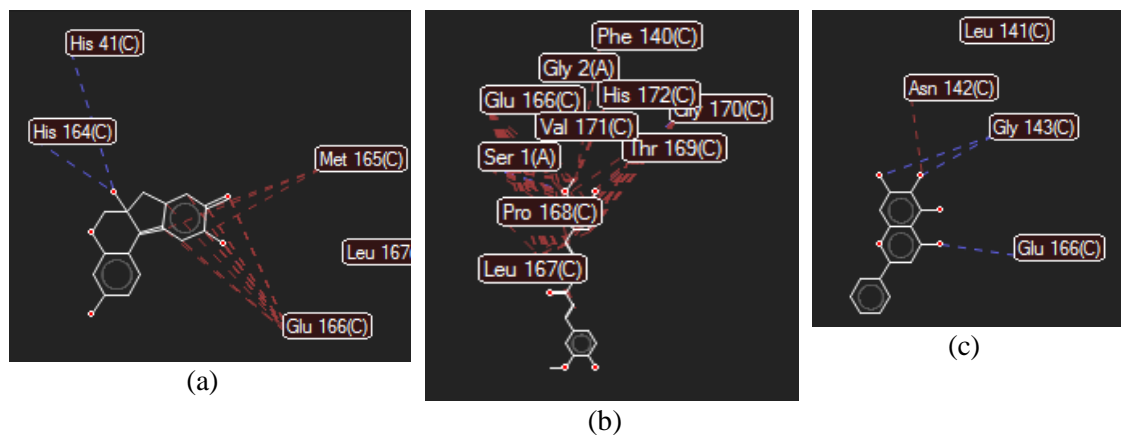




Gambar 3. Reseptor protease PDB : 6M2N; Cavity (volume 4995.58); Ligan 3WL\_401[C]



Gambar 4. Cavity [Vol=4995.58] dan Ligan (a) brazilein; (b) kurkumin; (c) ligan 3WL\_401[C]



Gambar 5. Asam-asam amino yang terlibat pada proses interaksi senyawa (a) brazilein; (b) kurkumin; (c) ligan 3WL\_401[C] dengan reseptor protease 6M2N  
(H-Bond, electronic, steric)

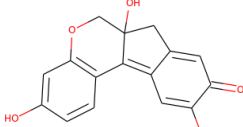
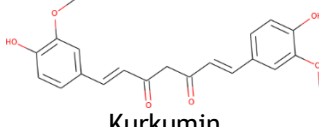
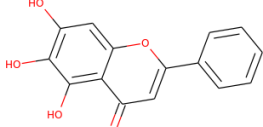
**Tabel 1.** Asam-asam amino yang terlibat pada proses interaksi senyawa (a) brazilein; (b) kurkumin; (c) ligan 3WL\_401[C] dengan reseptor protease 6M2N (*H-Bond, electronic, steric*)

Ligand	Ikatan Hidrogen dan residu asam amino		Interaksi Elektrostatik dan residu asam amino		Interaksi Sterik dan residu asam amino	
Brazilein	3	His 164(C) His 41(C) Glu 166(C)	0	-	4	His 41(C) Glu 166(C) Met 165(C) Leu 167(C)
Kurkumin	1	Leu 167(C)	0	-	10	Ser 1(A) Gly 2(A) Gly 170(C) His 172(C) Phe 140(C) Glu 166(C) Val 171(C) Thr 169(C) Leu 167(C) Pro 168(C)
Ligan 3WL_401[C]	3	Leu 141(C) Gly 143(C) Glu 166(C)	0	-	4	Leu 141(C) Gly 143(C) Asn 142(C) Glu 166(C)

**Tabel 2.** Hasil *re-docking* menggunakan program *Molegro Virtual Docker Batchjob*

<i>Re docking</i>	Brazilein	Kurkumin	3WL_401 [C]
I	-82.0583	-115.852	-83.1153
II	-80.0488	-110.176	-82.9253
III	-80.1706	-120.896	-83.0845

**Tabel 3.** Prediksi *in silico* nilai parameter-parameter sifat fisikokimia senyawa brazilein, kurkumin, dan ligan 3WL\_401[C]

Struktur SMILES			
	Brazilein	Kurkumin	Ligan 3WL_401[C]
BM	284.267	368.385	270.24
LogP	1.624	3.3699	2.5768
Torsion	0	8	1
HBA	5	6	5
HBD	3	2	3
PSA (A <sup>2</sup> )	119.652	156.532	112.519

Keterangan : BM = Berat Molekul; Log P = logaritma koefisien partisi oktanol/air; Torsion = ikatan antar atom yang dapat berotasi; HBA = *Hydrogen Bond Acceptors*; HBD = *Hydrogen Bond Donors*; PSA = *Polar Surface Activity*



Hasil prediksi *in silico* sifat farmakokinetik (ADME) dan toksisitas senyawa brazilein, kurkumin, dan ligan 3WL\_401[C] dapat dilihat pada tabel 4.

**Tabel 4.** Prediksi *in silico* sifat farmakokinetik (ADME) dan toksisitas senyawa brazilein, kurkumin, dan ligan 3WL\_401[C]

ADMET	Brazilein	Kurkumin	Ligan 3WL_401[C]
<i>Intestinal absorption (human) (%)</i>	90.021	85.184	89.064
<i>Skin Permeability (log Kp)</i>	-3.498	-2.771	-2.765
<i>VDss (human) (log L/kg)</i>	0.194	-0.143	-0.097
<i>BBB permeability (log BB)</i>	-0.662	-0.479	-0.9
<i>CYP2D6 substrate (Ya/Tidak)</i>	Tidak	Tidak	Tidak
<i>CYP2D6 inhibitor (Ya/Tidak)</i>	Tidak	Tidak	Tidak
<i>Total Clearance (log ml/min/kg)</i>	0.264	0.038	0.337
<i>Renal OCT2 substrate (Ya/Tidak)</i>	Tidak	Tidak	Tidak
<i>AMES toxicity (Ya/Tidak)</i>	Ya	Tidak	Tidak
<i>LD50 (mol/kg)</i>	2.246	2.09	2.337

Keterangan : VDSS: *Steady State of Volume Distribution*, BBB: *Blood Brain Barrier*, CYP2D6: *Cytochrome P2D6*, Renal OCT2: *Renal Organic Cation Transporter 2*

## DISKUSI

### Prediksi Aktifitas dengan Doking dan Analisis Asam Amino

Pada interaksi antara ligan dan reseptor terdapat interaksi ligan dengan beberapa asam amino residu dari reseptor protease 6M2N. Asam-asam amino yang terlibat pada proses interaksi senyawa brazilein, kurkumin, dan ligan 3WL\_401[C] dengan reseptor protease 6M2N dapat dilihat pada gambar 5 dan tabel 1. Interaksi dari residu asam amino reseptor protease dengan senyawa terjadi melalui ikatan lipofilik/hidrofobik, elektronik, dan sterik. Pada gambar dan tabel tersebut dapat dilihat perbedaan interaksi antara masing-masing senyawa brazilein, kurkumin, dan ligan 3WL\_401[C] dengan reseptor protease 6M2N, hal tersebut karena ada perbedaan konfigurasi ruang dari struktur senyawa-senyawa ketiganya.

Hasil *re-docking* dari senyawa brazilein, kurkumin, dan ligan 3WL\_401[C] dengan reseptor protease 6M2N dapat dilihat pada tabel 2. Energi ikatan brazilein dengan reseptor target lebih tinggi dibandingkan kurkumin, dan ligan 3WL\_401[C]. Brazilein memiliki nilai *rerank score* -82.0583 kkal/mol, kurkumin

dengan *rerank score* -115.852 kkal/mol, dan ligan 3WL\_401[C] dengan *rerank score* -83.1153 kkal/mol. Dilihat dari *Rerank Score* menunjukkan bahwa brazilein memberikan energi yang lebih besar dibandingkan kurkumin, dan ligan 3WL\_401[C], sehingga kurang stabil dalam pengikatan dengan reseptor bila dibandingkan dengan kurkumin, dan ligan 3WL\_401[C].

### **Prediksi Sifat Fisikokimia, Farmakokinetik, dan Toksisitas Senyawa (pkCSM)**

Hasil prediksi *in silico* nilai parameter-parameter sifat fisikokimia senyawa brazilein, kurkumin, dan ligan 3WL\_401[C] dapat dilihat pada tabel 3. Lipinski et al.(1997) telah menganalisis 2.245 obat dari data dasar *World Drugs Index* dan menyimpulkan bahwa senyawa akan sulit diabsorpsi dan permeabilitasnya rendah apabila berat molekulnya lebih besar 500, mempunyai nilai log koefisien partisi oktanol/air (log P) lebih besar +5; mempunyai ikatan-H donor (HBD), yang dinyatakan dengan jumlah gugus O-H dan N-H, lebih besar 5; dan mempunyai ikatan-H aseptor (HBA), yang dinyatakan dengan jumlah atom O dan N, lebih besar 10. Analisis di atas dikenal sebagai hukum lima Lipinski karena semua nilai merupakan kelipatan dari angka lima (D. E. V Pires et al., 2015). Dari tabel 3 dapat dianalisis bahwa brazilein, kurkumin, dan ligan 3WL\_401[C] memiliki berat molekul kurang dari 500, nilai logP kurang dari 5, nilai aseptor dan donor kurang dari 10, sehingga dapat disimpulkan bahwa ketiga senyawa tersebut mudah diabsorpsi.

Menurut Chander et al. (2017), senyawa dikatakan mempunyai absorpsi yang baik bila nilai absorpsinya > 80%, dan absorpsinya kurang baik bila < 30%. Usus merupakan tempat utama untuk penyerapan obat yang diberikan secara oral (Chander et al., 2017). Dari tabel 4 dapat dilihat bahwa nilai *intestinal absorption (human)* dari senyawa brazilein, kurkumin, dan ligan 3WL\_401[C] lebih dari 80% dan tidak kurang dari 30%, menunjukkan bahwa ketiga senyawa tersebut mempunyai absorpsi yang baik. Menurut Pires et al. (2015), senyawa dikatakan mempunyai permeabilitas kulit yang relatif rendah bila mempunyai nilai log Kp > -2,5. Dari tabel 4 dapat dilihat bahwa nilai *Skin Permeability* (log

Kp) dari senyawa brazilin = -3.498, kurkumin = -2.771, dan ligan 3WL\_401[C] = -2.765, berarti mempunyai nilai  $\log Kp > -2,5$ , sehingga dapat diprediksi bahwa ketiga senyawa tersebut mempunyai permeabilitas kulit yang baik. Bahan obat yang mempunyai permeabilitas kulit baik dapat digunakan sebagai pertimbangan untuk pengembangan obat baru dengan pemberian *transdermal* (D. E. V. Pires et al., 2015).

Volume distribusi (VDss) adalah volume teoritis bahwa dosis total obat perlu didistribusikan secara merata untuk memberikan konsentrasi yang sama seperti pada plasma darah. Semakin tinggi nilai VD, semakin banyak obat yang didistribusikan di jaringan daripada plasma. Menurut Pires et al. (2015), senyawa dikatakan mempunyai Volume Distribusi rendah bila nilai  $\log VD < -0,15$ , dan tinggi bila  $> 0,45$ . Dari tabel 4 dapat dilihat bahwa nilai VDss (*Steady State of Volume Distribution*) dari senyawa brazilin = 0.194, kurkumin = -0.143, dan ligan 3WL\_401[C] = -0.097 mempunyai nilai VDss  $< -0,15$ , sehingga dapat diprediksi bahwa semua senyawa tersebut dapat didistribusikan secara merata untuk memberikan konsentrasi yang sama seperti pada plasma darah.

Kemampuan obat untuk menembus sawar darah otak (*Blood Brain Barrier*) merupakan parameter penting yang perlu dipertimbangkan untuk membantu mengurangi efek samping dan toksisitas atau untuk meningkatkan khasiat obat yang aktivitas farmakologisnya ada di dalam otak. Permeabilitas otak-darah diukur secara *in vivo* pada model hewan sebagai  $\log BB$ , yaitu rasio logaritmik konsentrasi pada otak terhadap plasma. Menurut Pires et al. (2015), senyawa dikatakan mampu menembus sawar darah otak dengan baik bila mempunyai nilai  $\log BB > 0,3$ , dan tak dapat terdistribusi dengan baik bila  $\log BB < -1$ . Dari tabel 4 dapat dilihat bahwa nilai  $\log BB$  dari senyawa brazilin = -0.662, kurkumin = -0.479, dan ligan 3WL\_401[C] = -0.9, yang berarti lebih besar dari -1, sehingga dapat diprediksi bahwa semua turunan senyawa tersebut mampu menembus sawar darah otak secara moderat.

Secara umum diketahui bahwa sebagian besar reaksi metabolik akan melibatkan proses oksidasi. Sitokrom P450 adalah enzim detoksifikasi penting

dalam tubuh, dan terutama ditemukan di hati. Bekerja dengan cara mengoksidasi senyawa organik asing, termasuk obat, dan memfasilitasi ekskresi senyawa tersebut. Inhibitor enzim ini, seperti jus *grapefruit*, dapat mempengaruhi metabolisme obat sehingga dikontraindikasikan terhadap enzim sitokrom P450. Oleh karena itu penting untuk menilai kemampuan senyawa yang dapat menghambat sitokrom P450, yang dalam penelitian ini diwakili oleh isoform sitokrom CYP3A4. Dari tabel 4 dapat dilihat bahwa senyawa brazilein, kurkumin, dan ligan 3WL\_401[C] tidak mempengaruhi atau menghambat enzim CYP3A4, sehingga dapat diprediksi senyawa turunan tersebut cenderung dimetabolisme oleh enzim P450.

Memprediksi proses ekskresi senyawa dapat dilakukan dengan mengukur tetapan *Total Clearance* (CLTOT) dan *Renal Organic Cation Transporter 2(OCT2) substrate*. CLTOT merupakan kombinasi dari *hepatic clearance* (metabolisme di hati dan empedu) dan *renal clearance* (ekskresi melalui ginjal). Hal ini terkait dengan bioavailabilitas, dan penting untuk menentukan tingkat dosis dalam mencapai konsentrasi *steady-state*. Dari tabel 4 dapat dilihat bahwa nilai CLTOT brazilein = 0.264, kurkumin = 0.038, dan ligan 3WL\_401[C] = 0.337, dari nilai CLTOT dapat diprediksi kecepatan ekskresi senyawa.

*Organic Cation Transporter 2* adalah transporter pada ginjal yang memegang peran penting dalam disposisi dan *clearance* obat-obatan dan senyawa endogen. Substrat OCT2 juga berpotensi menimbulkan interaksi sampingan bila diberikan bersama-sama dengan inhibitor OCT2. Dari tabel 4 dapat dilihat bahwa ketiga senyawa tidak mempengaruhi substrat OCT2, sehingga dapat diprediksi senyawa turunan tersebut bukan merupakan substrat OCT2.

Menentukan toksisitas senyawa dapat dilakukan dengan uji *Ames Toxicity*. Uji *Ames Toxicity* adalah metode yang digunakan secara luas untuk menilai potensi mutagenik senyawa dengan menggunakan bakteri. Hasil uji positif menunjukkan bahwa senyawa tersebut bersifat mutagenik dan oleh karena itu

---

dapat bertindak sebagai karsinogen yaitu sebutan untuk zat yang menyebabkan kanker. Dari tabel 4 dapat dilihat bahwa brazilein diprediksi menimbulkan efek mutagenik. Sedangkan kurkumin dan ligan 3WL\_401[C] diprediksi tidak menimbulkan efek mutagenik.

## KESIMPULAN

Energi ikatan brazilein lebih tinggi dibandingkan kurkumin dan ligan 3WL\_401[C] pada reseptor target. Perbandingan nilai energi ikatan tersebut menunjukkan bahwa brazilein memiliki potensi sebagai imunomodulator lebih rendah dibandingkan dengan kurkumin dan ligan 3WL\_401[C] pada reseptor target secara *in silico* dengan metode *molecular docking*. Sifat fisikokimia, farmakokinetik, dan toksisitas senyawa brazilein diprediksi akan diabsorpsi dengan sangat baik di usus, mempunyai permeabilitas kulit yang baik, dapat didistribusikan secara merata untuk memberikan konsentrasi yang sama seperti pada plasma darah, mampu menembus sawar darah-otak secara moderat, cenderung dimetabolisme oleh enzim P450, mempunyai toksisitas yang relatif rendah, dan diprediksi mempunyai aktivitas sitotoksik yang paling besar menggunakan *pkCSM online tool*.

## UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih kami sampaikan kepada Prof. Dr. Siswandono, Apt., M.S. Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Surabaya yang mempunyai lisensi program *Molegro Virtual Docker*.

## KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak terdapat konflik kepentingan dalam penelitian ini.

## REFRENSI

- Chander, S., Tang, C. R., Al-Maqtari, H. M., Jamalish, J., Penta, A., Hadda, T. Ben, ... Sankaranarayanan, M. (2017). Synthesis and study of anti-HIV-1 RT activity of 5-benzoyl-4-methyl-1,3,4,5-tetrahydro-2H-1,5-benzodiazepin-2-one derivatives. *Bioorganic Chemistry*, 72, 74-79. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2017.03.013>
- Chen, Y., Liu, Q., & Guo, D. (2020). Emerging coronaviruses: Genome structure, replication, and pathogenesis. *Journal of Medical Virology*, 92(4), 418-423. <https://doi.org/10.1002/jmv.25681>
- Ghosh, A. K., Xi, K., Grum-Tokars, V., Xu, X., Ratia, K., Fu, W., ... Mesecar, A. D. (2007). Structure-based design, synthesis, and biological evaluation of peptidomimetic SARS-CoV 3CLpro inhibitors. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 17(21), 5876-5880. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2007.08.031>
- Hardjono, S. (2017). Prediksi Sifat Farmakokinetik , Toksisitas dan Aktivitas sebagai Calon Obat Antikanker melalui Pemodelan Molekul, 14(2), 246-255.
- Kementerian Kesehatan RI. (2020). *Pedoman Pencegahan dan Pengendalian Coronavirus Disease (COVID-19)*. Kementerian Kesehatan RI (Vol. 5). <https://doi.org/10.33654/math.v4i0.299>
- Kumar, V., Tan, K. P., Wang, Y. M., Lin, S. W., & Liang, P. H. (2016). Identification, synthesis and evaluation of SARS-CoV and MERS-CoV 3C-like protease inhibitors. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 24(13), 3035-3042. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2016.05.013>
- Lipinski, C. A., Lombardo, F., Dominy, B. W., & Feeney, P. J. (1997). Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings, 23.
- Meethal, M. E., Ollakkott, S., & Varma, G. G. (2020). COVID-19 and SARS-CoV-2 : Molecular Genetics Perspectives, (April).
- Needle, D., Lountos, G. T., & Waugh, D. S. (2015). Structures of the Middle East respiratory syndrome coronavirus 3C-like protease reveal insights into substrate specificity. *Acta Crystallographica Section D: Biological Crystallography*, 71, 1102-1111. <https://doi.org/10.1107/S1399004715003521>
- Pillaiyar, T., Manickam, M., Namasivayam, V., Hayashi, Y., & Jung, S. H. (2016). An overview of severe acute respiratory syndrome-coronavirus (SARS-CoV) 3CL protease inhibitors: Peptidomimetics and small molecule chemotherapy. *Journal of Medicinal Chemistry*, 59(14), 6595-6628. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b01461>

- Pires, D. E. V., Blundell, T. L., & Ascher, D. B. (2015). pkCSM: Predicting small-molecule pharmacokinetic and toxicity properties using graph-based signatures. *Journal of Medicinal Chemistry*, 58(9), 4066-4072. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b00104>
- Pires, D. E. V, Blundell, T. L., & Ascher, D. B. (2015). pkCSM : predicting small-molecule pharmacokinetic properties using graph-based signatures (Theory- How to Enterpret pkCSM Result). *PKCSM*, 5. Retrieved from <http://biosig.unimelb.edu.au/pkcsm/theory>
- Porcheddu, R., Serra, C., Kelvin, D., Kelvin, N., & Rubino, S. (2020). Similarity in Case Fatality Rates (CFR) of COVID-19/SARS-COV-2 in Italy and China. *Journal of Infection in Developing Countries*, 14(2), 125-128. <https://doi.org/10.3855/jidc.12600>
- Rothan, H. A., & Byrareddy, S. N. (2020). The epidemiology and pathogenesis of coronavirus disease (COVID-19) outbreak. *Journal of Autoimmunity*, 109(February), 102433. <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2020.102433>
- Tahir ul Qamar, M., Alqahtani, S. M., Alamri, M. A., & Chen, L. L. (2020). Structural basis of SARS-CoV-2 3CLpro and anti-COVID-19 drug discovery from medicinal plants. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, (xxxx), 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2020.03.009>
- Wu, F., Zhao, S., Yu, B., Chen, Y. M., Wang, W., Song, Z. G., ... Zhang, Y. Z. (2020). A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature*, 579(7798), 265-269. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2008-3>
- Zhou, P., Yang, X.-L., Wang, X.-G., Hu, B., Zhang, L., Zhang, W., ... Shi, Z.-L. (2020). Discovery of a novel coronavirus associated with the recent pneumonia outbreak in humans and its potential bat origin. *BioRxiv*, 21(1), 1-9.
- Zhu, N., Zhang, D., Wang, W., Li, X., Yang, B., Song, J., ... Tan, W. (2020). A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *New England Journal of Medicine*, 382(8), 727-733. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2001017>
-