

DESAIN SENYAWA DERIVAT HALOFUGINON TERHADAP ENZIM PROLIL-tRNA SINTETASE *Plasmodium falciparum* SECARA *IN SILICO*

Tegar Achsendo Yuniarta*, Fransisco Candra Gonzalez, Arif Maulana Azis, Dini Kesuma

Fakultas Farmasi, Universitas Surabaya

*Email: tegar.achsendo@staff.ubaya.ac.id

Received: 12/06/2024 , Revised: 12/07/2024 , Accepted: 03/08/2024 , Published: 08/08/2024

ABSTRAK

Malaria adalah salah satu penyakit infeksi yang memiliki tingkat kematian cukup tinggi. Penyakit ini disebabkan oleh parasit *Plasmodium* yang ditularkan melalui gigitan nyamuk *Anopheles betina*. Sejak tahun 2004 obat pilihan utama untuk malaria adalah obat kombinasi artemisinin (ACT). Salah satu obat yang dapat dikembangkan sebagai calon obat antimalaria saat ini yaitu halofuginon dan turunannya. Halofuginon bekerja dengan metode inhibisi enzim prolil-tRNA sintetase pada *Plasmodium falciparum* (PfPRS). Penelitian ini bertujuan untuk mengoptimasi struktur senyawa halofuginon untuk mendapatkan senyawa baru yang poten dan tidak toksik. Tahapan modifikasi senyawa dilakukan dengan bantuan *webserver* ADMETopt untuk memperoleh beberapa rekomendasi senyawa derivat. Senyawa turunan ini kemudian disikrining menggunakan *webserver* SwissADME dengan melihat parameter absorpsi serta deteksi gugus fungsi PAINS dan toksikofor. Senyawa yang memenuhi kriteria dilakukan *molecular docking* untuk mendapatkan nilai *binding energy* dan untuk mengetahui interaksi ikatannya dengan residu asam amino enzim PRS. Hasil penelitian ini diperoleh 2 senyawa: 8-[3-(7-bromo-6-kloro-4-okso-3,4-dihidrokuinazolin-3-il)-2-oksopropil]-7-hidroksi-3,4-dihidro-2H-1,3-benzoksazin-2,4-dion dan 3-(3-{2-amino-5-okso-5H,6H-imidazo[4,5-d]azepin-4-il}-2-oksopropil)-7-bromo-6-kloro-3,4-dihidrokuinazolin-4-on. Kedua senyawa ini memiliki nilai energi interaksi sebesar -10,79 kkal/mol dan -10,19 kkal/mol yang mendekati nilai dari halofuginon sebesar -10,98 kkal/mol. Selanjutnya perlu dilakukan verifikasi dengan melakukan uji *in vitro* terhadap enzim PRS dan parasit *Plasmodium falciparum*, serta uji toksisitas agar didapat turunan febrifugin yang poten dan non-toksik.

Kata kunci : Antimalaria, Halofuginon, Optimasi senyawa penuntun, Prolil-tRNA sintetase

ABSTRACT

Malaria is one of the infectious diseases with a relatively high mortality rate. It is caused by the *Plasmodium* parasite, transmitted through the bite of the female *Anopheles* mosquito. Since 2004, the primary treatment for malaria has been artemisinin-based combination therapy (ACT). Currently, one of the potential candidates for antimalarial drug development is halofuginone and its derivatives. Halofuginone functions by inhibiting the enzyme prolyl-tRNA synthetase in *Plasmodium falciparum* (PfPRS). This study aims to optimize the structure of halofuginone to obtain new, potent, and non-toxic compounds. The modification of compounds was conducted using the ADMETopt web server to obtain several derivative compound

recommendations. These derivatives were then screened using the SwissADME web server by examining absorption parameters and detecting PAINS and toxicophore functional groups. Compounds that met the criteria were subjected to molecular docking to determine their binding energy and to analyze their interactions with the amino acid residues of the PRS enzyme. The results of this study identified two compounds: 8-[3-(7-bromo-6-chloro-4-oxo-3,4-dihydroquinazolin-3-yl)-2-oxopropyl]-7-hydroxy-3,4-dihydro-2H-1,3-benzoxazin-2,4-dione and 3-(3-{2-amino-5-oxo-5H,6H-imidazo[4,5-d]azepin-4-yl}-2-oxopropyl)-7-bromo-6-chloro-3,4-dihydroquinazolin-4-one. These two compounds exhibited interaction energies of -10.79 kcal/mol and -10.19 kcal/mol, respectively, which are close to the interaction energy of halofuginone at -10.98 kcal/mol. Further verification through *in vitro* testing on PRS enzyme and *Plasmodium falciparum*, as well as toxicity tests, are necessary to obtain potent and non-toxic febrifugin derivatives.

Keywords: Antimalarial, Halofuginone, Lead optimization, Prolyl-tRNA Synthetase

PENDAHULUAN

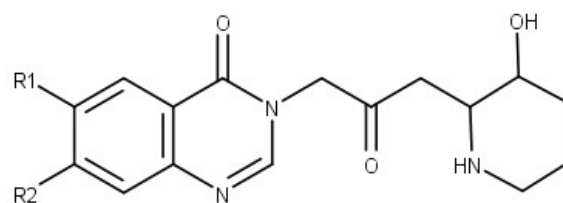
Malaria adalah penyakit menular dengan tingkat kematian tinggi di banyak negara-negara Asia, Afrika, dan Amerika. Menurut WHO, terdapat 241 juta kasus klinis dan 627.000 kematian pada tahun 2020. Jumlah ini meningkat dari 227 juta kasus klinis dan 558.000 kematian yang tercatat pada tahun 2019. Beberapa negara di benua Afrika menyumbang 95% dari semua kasus malaria di seluruh dunia (WHO, 2021). Hal ini memiliki pengaruh merugikan terhadap pertumbuhan ekonomi dan sosial negara-negara ini, yang sebagian besar memiliki pendapatan per kapita rendah (Sachs & Malaney, 2002). Malaria disebabkan oleh parasit *Plasmodium*, yang menyebar melalui gigitan nyamuk betina *Anopheles*. Parasit *Plasmodium* yang menginfeksi manusia saat ini dikategorikan ke dalam lima spesies: *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium ovale*, *Plasmodium malariae*, dan

Plasmodium knowlesi. Sejak tahun 2004, terapi kombinasi artemisinin (ACT) telah menjadi pilihan utama dalam pengobatan malaria. Terapi ini dipilih karena memiliki dampak terapeutik yang lebih besar daripada klorokuin (International Artemisinin Study Group, 2004). Namun demikian, jumlah kasus malaria yang tinggi di dunia mendorong para peneliti untuk mengembangkan obat antimalaria baru yang lebih kuat dan lebih mudah diperoleh guna menghindari kasus resistensi terhadap obat yang saat ini tersedia (Taylor & Juliano, 2014).

Telah diketahui beberapa golongan senyawa yang memiliki aktivitas sebagai inhibitor enzim PfPRS, diantaranya adalah golongan febrifugin, pirazol-urea, dan piridin-pirolidinon (Yuniarta *et al.*, 2022; Yuniarta *et al.*, 2023). Akan tetapi sejauh ini, febrifugin dan analognya adalah salah satu kandidat yang memiliki aktivitas paling poten terhadap enzim ini. Senyawa ini

ditemukan dalam tanaman obat tradisional Tiongkok Chang Shan (*Dichroa febrifuga* Lour.), yang telah digunakan dalam pengobatan tradisional sebagai agen terapeutik antimalaria (McLaughlin *et al.*, 2014). Analog lainnya adalah halofuginon, yang memiliki aktivitas antimalaria yang lebih kuat, serta aktivitas antifibrosis, antikanker, dan antiinflamasi (Pines & Spector, 2016). Namun, pengembangan kedua senyawa ini sebagai agen antimalaria prospektif telah terhambat oleh toksisitasnya (McLaughlin *et al.*, 2014; Pines & Spector, 2016). Selain itu, studi terbaru juga menyatakan adanya potensi resistensi terapi halofuginon sebagai antimalaria (Fagbami *et al.*, 2019). Baik febrifugin maupun halofuginon terdiri dari dua sistem cincin (kuinazolinon dan hidroksipiperidin), yang dihubungkan oleh gugus oksopropana (**Gambar 1**). Kedua senyawa ini diketahui aktif sebagai inhibitor enzim prolil-tRNA sintetase pada *P. falciparum* (PfPRS). Mekanisme kerjanya adalah sebagai inhibitor ganda dari situs aktif tRNA dan prolin, dimana cincin kuinazolinon memiliki kemiripan dengan struktur dengan basa RNA, sementara cincin hidroksipiperidin meniru struktur dari asam amino L-prolin. Adanya senyawa ini akan mencegah reaksi esterifikasi antara L-prolin dengan tRNA, sehingga mengakibatkan asam amino tersebut tidak dapat diinkorporasi dalam

sintesis peptida pada *P. falciparum* (Jain *et al.*, 2015).



R1 & R2 = H; Febrifugine
R1 = Cl, R2 = Br; Halofuginone

Gambar 1. Struktur febrifugin dan halofuginon

Studi ini bertujuan untuk mengoptimalkan struktur halofuginon secara *in silico* untuk mendapatkan senyawa-senyawa baru yang setara potensinya namun kurang toksik. Optimasi senyawa dilakukan dengan memodifikasi cincin kuinazolinon dan hidroksipiperidin dari senyawa tersebut, karena keduanya dianggap sebagai gugus farmakofor yang penting dalam interaksi enzimatik yang meniru kerangka tRNA dan prolin (Kikuchi *et al.*, 2014; Jain *et al.*, 2015). Modifikasi yang dihasilkan kemudian diuji karakteristik ADMET-nya sebelum dievaluasi berdasarkan energi ikatan dan interaksi melalui studi *molecular docking* serta *molecular dynamics* terhadap enzim PfPRS.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi piranti keras dan piranti lunak.

Pemodelan molekuler dilakukan menggunakan PC standar (Intel® Core i7-9700F, RAM 16GB, Sistem Operasi Windows 10). MarvinSketch 19.22 digunakan untuk membuat struktur dua dimensi (ChemAxon), Avogadro digunakan untuk mengoptimalkan struktur tiga dimensi molekul (Hanwell *et al.*, 2012). *Webserver ADMETopt* (<http://lmm.d.ecust.edu.cn/admet2/admetopt/>) digunakan untuk melakukan optimasi senyawa acuan berdasarkan kesesuaian dengan parameter drug-likeness serta parameter toksikologi (Yang *et al.*, 2018). *Webserver SwissADME* (<http://www.swissadme.ch/index.php>) digunakan untuk menskrining senyawa yang telah dirancang berdasarkan kriteria absorpsi saluran cerna, toksikofor, dan PAINS (Daina *et al.*, 2017). Autodock 4.2 digunakan untuk melakukan molecular docking pada senyawa-senyawa yang telah difilter (Morris *et al.*, 2009). Discovery Studio Visualizer 2020 digunakan untuk mengevaluasi interaksi senyawa uji dengan asam-asam amino pada situs ikatan (Dassault Systèmes). *Webserver CHARMM-GUI* (<https://www.charmm-gui.org/>) digunakan untuk menyiapkan file yang diperlukan untuk simulasi molecular dynamics (Jo *et al.*, 2008), yang dilakukan menggunakan GROMACS 2021.5 pada

platform Google Colaboratory (Arantes *et al.*, 2021).

Bahan yang digunakan pada penelitian ini meliputi struktur ligan maupun protein yang berfungsi sebagai input dalam proses pemodelan molekuler. Struktur ligan halofuginon yang digunakan sebagai acuan pada tahap desain derivat diperoleh dari PubChem. Sementara enzim PfPRS diperoleh dari repositori Protein Data Bank (ID: 4YDQ) (Jain *et al.*, 2015).

Jalannya Penelitian

1. Desain Senyawa Turunan Halofuginon dan Uji ADMET

Struktur SMILES halofuginon digunakan sebagai acuan untuk proses optimasi senyawa pada *webserver ADMETopt*. Modifikasi dilakukan pada dua sistem cincin utama senyawa tersebut (kuinazolinon dan hidropsipiperidin). Analog halofuginon yang dihasilkan sesuai dengan kaidah Lipinski (Lipinski *et al.*, 1997) dan kriteria non-toksik (karsinogenisitas, toksisitas Ames, toksisitas oral akut, inhibitor hERG, inhibitor Pgp, dan inhibitor CYP) (Yang *et al.*, 2018). Analog yang diperoleh kemudian diskriminasi lebih lanjut di SwissADME berdasarkan nilai absorpsi gastrointestinal serta mengeliminasi senyawa-senyawa yang memiliki substruktur PAINS (Baell *et al.*,

2010) atau gugus fungsi toksikofor (Brenk et al., 2008).

2. Penambatan Molekul (*Molecular Docking*)

Tahapan selanjutnya adalah proses *molecular docking* yang dimulai dengan preparasi protein dan ligan. Enzim PfPRS yang diperoleh dari *Protein Data Bank* kemudian dipisahkan dari ligan alaminya (halofuginon) dan hanya meninggalkan kofaktor Magnesium. Langkah selanjutnya adalah penambahan atom hidrogen dan muatan parsial Kollman. Sementara itu, molekul halofuginon juga ditambahkan dengan atom hidrogen dan muatan parsial Gasteiger. Setelah itu, validasi dilakukan dengan melakukan *redocking* ligan alami halofuginon kembali ke sisi aktif proteinnya. Evaluasi dilakukan dengan menghitung nilai RMSD (*Root Mean Square Deviation*) dari posisi docking dibandingkan terhadap konformasi mula-mula, yang seharusnya kurang dari 2 Å. Kemudian semua senyawa yang dirancang diujikan menggunakan parameter docking yang telah divalidasi. Metode pencarian konformasi hasil *docking* dilakukan dengan algoritma genetik (*Genetic Algorithm*) dengan jumlah *run* 10 dan ukuran populasi 150. Hasilnya dievaluasi berdasarkan skor docking dan interaksi antara ligan dan asam amino.

3. Dinamika Molekul (*Molecular Dynamics*)

Simulasi *molecular dynamics* dilakukan untuk senyawa-senyawa dengan nilai skor *docking* yang terbaik. Piranti lunak GROMACS 2021.5 digunakan untuk menjalankan proses simulasi secara *cloud-based* pada platform Google Colaboratory. Mula-mula, kompleks ligan-protein dipreparasi dengan menggunakan medan gaya (*force field*) CHARMM General Forcefield (CGENFF) (Vanommeslaeghe et al., 2012). Sistem kemudian disolvasi dalam model air TIP3P (Transferable Intermolecular Potential with 3 Points) dan *counterion* ditambahkan untuk menyetimbangkan muatan pada kompleks. Minimisasi energi kemudian dilakukan menggunakan algoritma *steepest descent* dan disetimbangkan menggunakan termostat Nosé-Hoover, sebelum menjalani simulasi selama 50 ns. Semua berkas persiapan dibuat dengan bantuan webserver CHARMM-GUI (Jo et al., 2008). Evaluasi dilakukan berdasarkan nilai fluktuasi RMSD ligan dan protein.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Target enzimatik dari senyawa halofuginon dan analognya adalah prolil-tRNA sintetase (PRS). PRS adalah enzim kelas II subkelas aaRS yang mengkatalisis reaksi aminoasilasi antara prolin dan tRNA.

Enzim ini dapat ditemukan pada berbagai spesies, seperti pada *Plasmodium falciparum* (Rubio Gomez & Ibba *et al.*, 2020). Berdasarkan data struktural, diketahui bahwa interaksi halofuginon dengan enzim akan meniru interaksi antara L-prolin (identik dengan cincin hidroksipiperidin) dan adenin 76 (A76) tRNA (identik dengan cincin kuinazolinon), yang dikatalisis dengan ATP (Jain *et al.*, 2015). Dalam penelitian ini, struktur halofuginon digunakan sebagai acuan untuk mengembangkan analog yang non-toksik menggunakan webserver ADMETopt. Algoritma *webserver* ini didasarkan pada prinsip *scaffold-hopping* dari sistem cincin yang telah ditentukan dari senyawa acuan, dimana cincin tersebut diubah menjadi sidik jari (*fingerprint*) berdasarkan sifat atomik dan cincin, vektor jarak, titik keragaman, farmakofor, dan bentuk (Rabal *et al.*, 2015; Yang *et al.*, 2018). Sistem cincin yang akan dimodifikasi kemudian diskruining ke *library* fragmen ADMETopt. Kriteria penerimaan disesuaikan untuk mematuhi kriteria *drug-likeness* dan ADMET yang telah disebutkan sebelumnya. Hasilnya menghasilkan total 60 senyawa modifikasi untuk gugus hidroksipiperidin (**Gambar 2**) dan kuinazolinon (**Gambar 3**). Skrining lanjutan dilakukan di webserver SwissADME untuk mengeliminasi senyawa

yang mengandung gugus PAINS (Baell *et al.*, 2010) dan gugus toksikofor (Brenk *et al.*, 2008). Pendeteksian gugus PAINS ini telah menjadi aturan standar untuk skrining senyawa untuk menghindari pemilihan senyawa positif palsu pada tahap uji *in vitro* (Schuffenhauer *et al.*, 2020). Sementara eliminasi gugus toksikofor dilakukan menggunakan kriteria dari Brenk *et al.*, diantaranya adalah senyawa dengan gugus reaktif, minim substituen, serta yang mengandung terlalu banyak substituen (Brenk *et al.*, 2008). Selain itu, SwissADME digunakan untuk menilai senyawa mana yang memiliki prediksi penyerapan gastrointestinal yang dapat diterima berdasarkan model statistik BOILED-Egg (Daina & Zoete, 2016). Proses ini berhasil menghasilkan 39 senyawa yang memenuhi parameter absorpsi gastrointestinal serta tidak mengandung gugus-gugus positif palsu serta toksikofor (**Tabel 1**), yang kemudian dilanjutkan ke tahapan *molecular docking*.

Tabel 1. Docking score dari 39 senyawa modifikasi halofuginon

Senyawa Modifikasi Cincin Hidroksipiperidin	Docking score	Senyawa Modifikasi Cincin Kuinazolinon	Docking score
1_2	-8,35	2_3	-7,98
1_3	-8,01	2_4	-6,71
1_4	-7,83	2_6	-6,83
1_5	-7,88	2_8	-6,59
1_8	-7,91	2_9	-6,38
1_9	-9,56	2_11	-6,33
1_10	-9,46	2_12	-6,92
1_12	-10,19	2_13	-6,58
1_13	-8,85	2_14	-6,49
1_14	-7,79	2_15	-7,36
1_17	-7,62	2_16	-6,03
1_18	-8,76	2_18	-6,67
1_20	-10,79	2_19	-7,63
1_21	-8,79	2_20	-5,88
1_26	-8,29	2_23	-6,12
1_27	-7,66	2_25	-6,63
1_28	-8,42	2_26	-6,30
1_30	-8,93	2_27	-6,61
		2_28	-7,27
		2_29	-7,53
		2_30	-6,08

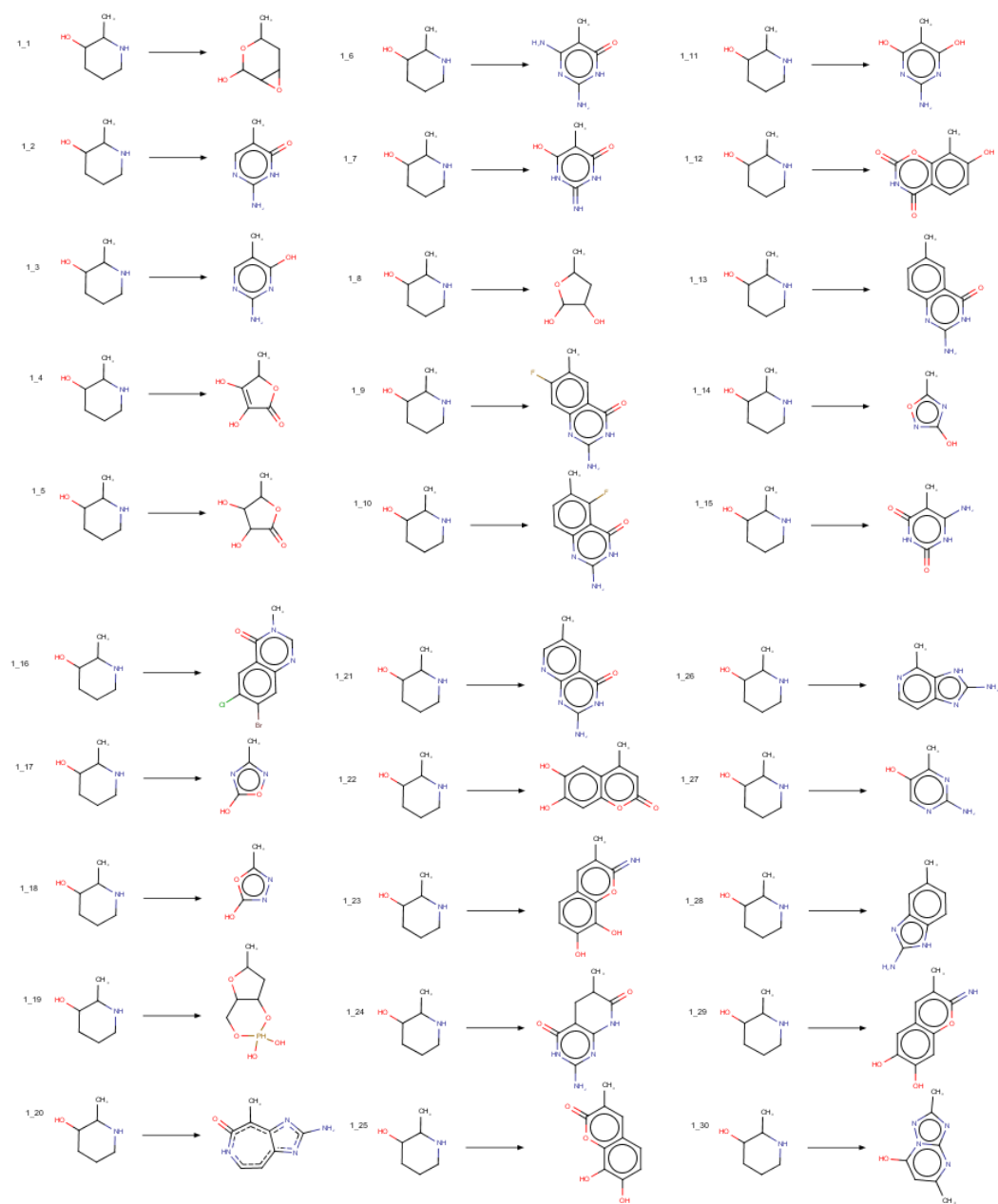
*warna kuning mengindikasikan senyawa dengan nilai docking score optimal

Proses *molecular docking* bertujuan untuk memberikan gambaran bagaimana suatu senyawa akan berinteraksi dengan protein target (Pinzi & Rastelli, 2019). Tahapan ini dapat digunakan untuk mengidentifikasi senyawa yang berpotensi sebagai inhibitor enzim PfPRS dengan melihat pola interaksi ligan-reseptor serta skor interaksinya. Enzim PfPRS dengan PDB ID 4YDQ digunakan pada studi ini dikarenakan strukturnya memiliki ligan alami halofuginon (Jain et al., 2015) sehingga dapat dijadikan acuan untuk proses

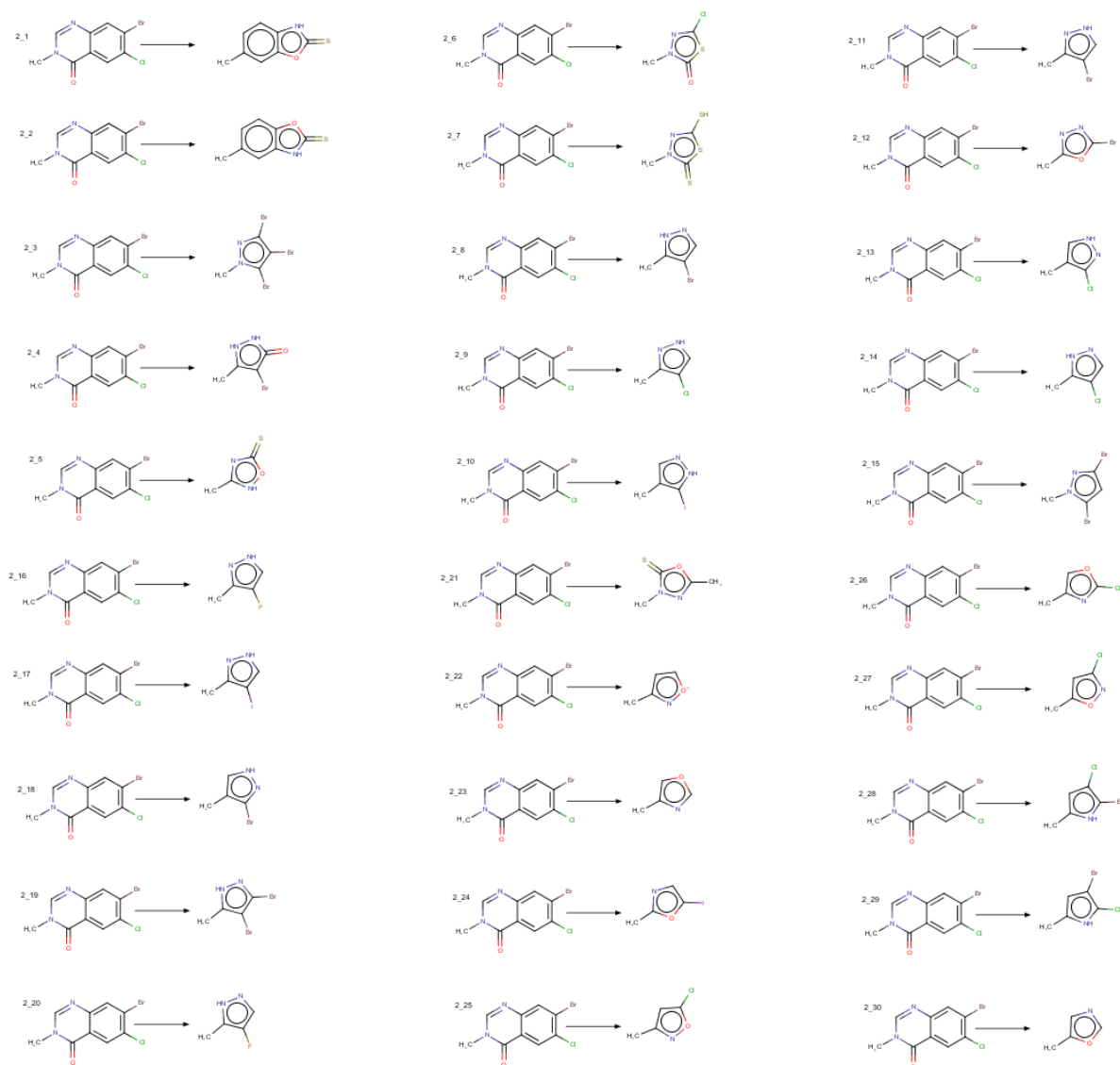
validasi maupun evaluasi hasil. Hasil proses *redocking* pada ukuran *grid box* 15x15x15 Å³ memberikan nilai RMSD yang memenuhi kriteria validitas dengan nilai kurang dari 2,0 Å, dimana diperoleh nilai sebesar 1,62 Å. Hasil *molecular docking* memunculkan dua senyawa dengan nilai skor *docking* yang optimal, yaitu 8-[3-(7-bromo-6-kloro-4-okso-3,4-dihidrokuinazolin-3-il)-2-oksopropil]-7-hidroksi-3,4-dihidro-2H-1,3-benzoksazin-2,4-dion (senyawa 1_12) dan 3-(3-{2-amino-5-okso-5H,6H-imidazo[4,5-d]azepin-4-il}-2-oksopropil)-7-bromo-6-kloro-3,4-dihidrokuinazolin-4-on (senyawa 1_20). Kedua senyawa ini (1_12 dan 1_20) memiliki nilai skor *docking* berturut-turut sebesar -10,19 dan -10,79 kkal/mol. (**Tabel 1**). Baik senyawa 1_12 dan 1_20 tersebut adalah produk modifikasi dari gugus hidroksipiperidin, yaitu dengan cincin karsalam (senyawa 1_12) dan 2-amino-6H-imidazo[4,5-d]azepin-5-on (senyawa 1_20). Tidak ada analog modifikasi cincin kuinazolinon yang menghasilkan skor *docking* yang signifikan (**Tabel 1**), dikarenakan modifikasi yang direkomendasikan oleh *webserver* ADMETopt sebagian besar merupakan analog dengan struktur cincin tunggal daripada bisiklik seperti pada kuinazolinon (**Gambar 2**).

Tabel 2. Peta interaksi ligan-asam amino dari dua senyawa terbaik

Senyawa	Ikatan Hidrogen	Interaksi Lain
1_12	Glu361, Arg390, Thr478	Interaksi π - π : Phe335, Trp407 Interaksi π -alkil : Pro358
1_20	Arg390, Thr478, His480, Trp501	Interaksi π - π : Phe335, Trp407 Interaksi π -alkil : Pro358 Interaksi π -kation : Glu409
Halofuginon	Thr359, Glu361, Arg390, Thr478, His480	Interaksi π - π : Phe335 Interaksi π -alkil : Pro358 Interaksi π -kation : Arg390



Gambar 2. Modifikasi cincin hidrosipiperidin



Gambar 3. Modifikasi cincin kuinazolinon

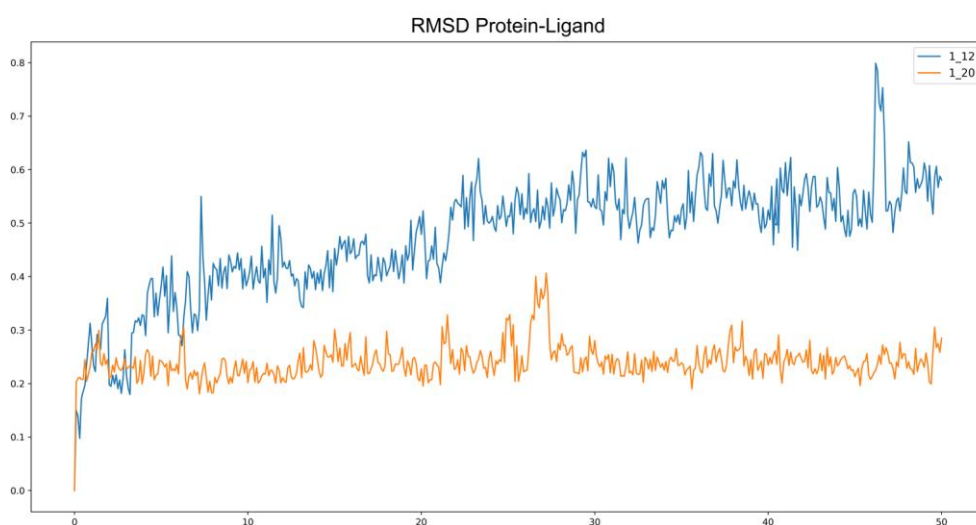
Telah diamati dalam penelitian sebelumnya bahwa modifikasi tersebut membuat senyawa desain mejadi inaktif pada uji *in vitro* (Kikuchi *et al.*, 2014). Pengamatan lebih lanjut terhadap interaksi ligan-protein menunjukkan bahwa kedua senyawa tersebut menghasilkan interaksi ikatan hidrogen yang identik dengan halofuginon, terutama dengan Arg390 dan Thr478. Perbedaan ditemukan pada senyawa

1_20, di mana senyawa ini membentuk interaksi dengan Trp501. Hasil validasi metode *molecular docking* terhadap enzim PfPRS (PDB ID: 4YDQ) menunjukkan bahwa hasil *redocking* ligan alami halofuginon memberikan nilai RMSD sebesar 1,62 Å. Pengaturan yang digunakan adalah volume *grid box* sebesar 15x15x15 Å³. Dengan mengimplementasikan metode tersebut, diperoleh dua senyawa dengan

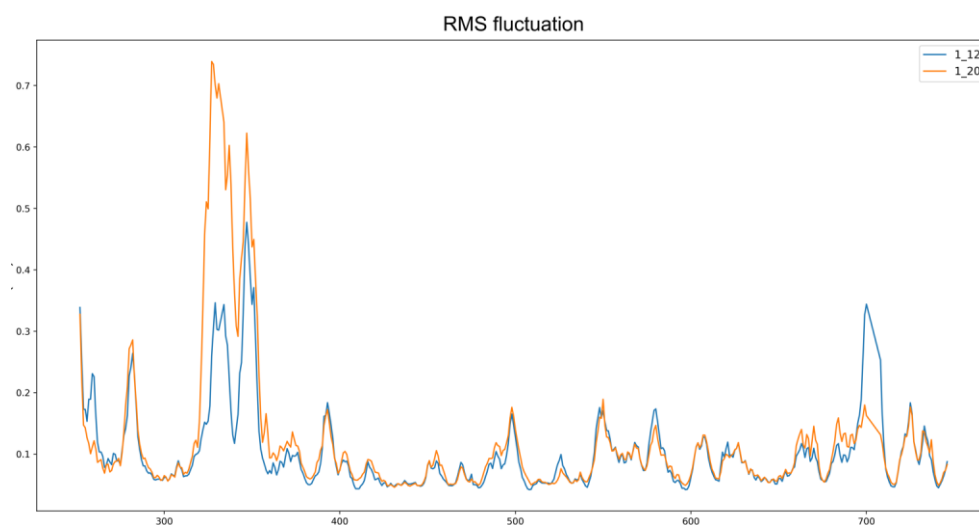
skor *docking* optimal dibandingkan dengan halofuginon (**Tabel 1**). Kedua senyawa ini (1_12 dan 1_20) memiliki nilai skor *docking* berturut-turut sebesar -10,19 dan -10,79 kkal/mol. Selain itu dilakukan evaluasi lebih lanjut terhadap interaksi ligan-protein pada kedua senyawa tersebut (**Tabel 2**). Berdasarkan hasil evaluasi, diketahui bahwa kedua senyawa tersebut memiliki interaksi hidrogen yang identik dengan halofuginon, yaitu Glu361, Arg390, Thr478, dan His480. Interaksi lain yang dapat diidentifikasi adalah interaksi tipe π yang khususnya terbentuk dengan gugus kuinazolinon pada kedua senyawa.

Tahap terakhir adalah dengan dilakukan simulasi dinamika molekul (*molecular dynamics*) selama 50 ns yang bertujuan untuk mengevaluasi stabilitas interaksi ligan-protein dengan implementasi

gaya Newtonian dalam sistem tersolvasi (Liu *et al.*, 2017). Hasil simulasi menunjukkan bahwa kedua senyawa tersebut cukup stabil dalam situs ikatan dengan nilai fluktuasi RMSD ligan kurang dari 1 Å (**Gambar 4**). Pada plot RMSD ligan senyawa 1_12 teramati memiliki nilai sedikit lebih tinggi dibandingkan pada senyawa 1_20. Sedangkan hasil plot RMSF menunjukkan bahwa residu asam amino ke 300 hingga 400 menunjukkan fleksibilitas yang cukup tinggi selama simulasi *molecular dynamics*, khususnya teramati pada ligan 1_20. Residu asam-asam amino juga teramati mengalami fluktuasi, khususnya pada residu 300-400 (**Gambar 5**) yang merupakan region antarmuka dimer dari enzim, sekaligus lokasi situs ikatan dari senyawa (Jain *et al.*, 2014).



Gambar 4 Plot RMSD ligan selama simulasi *molecular dynamics* 50 ns



Gambar 5 Plot RMSF residu asam amino selama simulasi *molecular dynamics* 50 ns

KESIMPULAN

Secara keseluruhan, metode *in silico* telah berhasil mengidentifikasi dua senyawa yang berpotensi menghambat enzim PfPRS dengan baik, yaitu 8-[3-(7-bromo-6-kloro-4-okso-3,4-dihidrokuinazolin-3-il)-2-oksopropil]-7-hidroksi-3,4-dihidro-2H-1,3-benzoksazin-2,4-dion dan 3-(3-(2-amino-5-okso-5H,6H-imidazo[4,5-d]azepin-4-il)-2-oksopropil)-7-bromo-6-kloro-3,4-dihidrokuinazolin-4-on. Kedua senyawa tersebut juga memenuhi karakteristik drug-likeness, absorpsi, toksisitas, serta parameter PAINS. Studi lebih lanjut perlu dilakukan untuk memverifikasi aktivitasnya melalui uji enzimatik serta terhadap parasit *Plasmodium falciparum*

DAFTAR PUSTAKA

- Arantes, P. R., Polêto, M. D., Pedebos, C., & Ligabue-Braun, R. (2021). Making it Rain: Cloud-Based Molecular Simulations for Everyone. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 61(10), 4852–4856.
- Baell J.B., & Holloway G.A. (2010). New Substructure Filters for Removal of Pan Assay Interference Compounds (PAINS) from Screening Libraries and for Their Exclusion in Bioassays. *Journal of Medicinal Chemistry*, 53(7), 2719–2740.
- Brenk R., Schipani A., James D., Krasowski A., Gilbert I. H., Frearson J., & Wyatt, P. G. (2008). Lessons Learnt from Assembling Screening Libraries for

- Drug Discovery for Neglected Diseases. *ChemMedChem*, 3(3), 435–444.
- Daina, A., & Zoete, V. A. (2016). BOILED-Egg To Predict Gastrointestinal Absorption and Brain Penetration of Small Molecules. *ChemMedChem*, 11(11), 1117–1121.
- Daina, A., Michielin, O., & Zoete, V. (2017). SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific Reports*, 42717.
- Fagbami, L., Deik, A. A., Singh, K., Santos, S. A., Herman, J. D., Bopp, S. E., Lukens, A. K., Clish, C. B., Wirth, D. F., & Mazitschek, R. (2019). The Adaptive Proline Response in *P. falciparum* Is Independent of PfeIK1 and eIF2 α Signaling. *ACS Infectious Diseases*, 5(4), 515-520.
- Hanwell, M. D., Curtis, D. E., Lonie, D. C., Vandermeersch, T., Zurek, E., & Hutchison, G. R. (2012). Avogadro: an advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform. *Journal of Cheminformatics*, 4(1), 17.
- International Artemisinin Study Group. (2004). Artesunate combinations for treatment of malaria: meta-analysis. *The Lancet*, 363(9402), 9-17.
- Jain, V., Kikuchi, H., Oshima, Y., Sharma, A., & Yogavel, M. (2014). Structural and functional analysis of the anti-malarial drug target prolyl-tRNA synthetase. *Journal of Structural and Functional Genomics*, 15(4),181–190.
- Jain, V., Yogavel, M., Oshima, Y., Kikuchi, H., Touquet, B., Hakimi, M. A., & Sharma, A. (2015). Structure of Prolyl-tRNA Synthetase-Halofuginone Complex Provides Basis for Development of Drugs against Malaria and Toxoplasmosis. *Structure*, 23(5), 819–829.
- Jo, S., Kim, T., Iyer, V. G., & Im W. (2008). CHARMM-GUI: A web-based graphical user interface for CHARMM. *Journal of Computational Chemistry*, 29(11), 1859–1865.
- Kikuchi, H., Horoiwa, S., Kasahara, R., Hariguchi, N., Matsumoto, M., & Oshima, Y. (2014). Synthesis of febrifugine derivatives and development of an effective and safe tetrahydroquinazoline-type antimalarial. *European journal of medicinal chemistry*, 76, 10–19.
- 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. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 23(1-3), 3–25.
- Liu, K., Watanabe, E., & Kokubo, H. (2017). Exploring the stability of ligand binding modes to proteins by molecular dynamics simulations. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, 31(2), 201–211.
- McLaughlin, N., Evans, P. G., & Pines, M. (2014). The chemistry and biology of febrifugine and halofuginone. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, (7), 1993–2004.
- Morris, G. M., Huey, R., Lindstrom, W., Sanner, M. F., Belew, R. K., Goodsell, D. S., & Olson, A. J. (2009). AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *Journal of Computational Chemistry*, 30(16), 2785–2791.
- Pines, M., & Spector, I. (2015). Halofuginone — The Multifaceted Molecule. *Molecules*, 20(1), 573–594.
- Pinzi, L., & Rastelli, G. (2019). Molecular Docking: Shifting Paradigms in Drug Discovery. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(18), 4331.
- Rabal, O., Amr F. I., & Oyarzabal, J. (2015). Novel Scaffold Fingerprint (SFP): Applications in Scaffold Hopping and Scaffold-Based Selection of Diverse Compounds. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 13;55(1), 1–18.
- Rubio Gomez, M. A., & Ibba, M. (2020). Aminoacyl-tRNA synthetases. *RNA*, 26(8), 910–936.
- Sachs, J., & Malaney, P. (2002). The economic and social burden of malaria. *Nature*, 415(6872), 680–685.
- Schuffenhauer, A., Schneider, N., Hintermann, S., Auld, D., Blank, J., Cotesta, S., Engeloeh, C., Fechner, N., Gaul, C., Giovannoni, J., Jansen, J., Joslin, J., Krastel, P., Lounkine, E., Manchester, J., Monovich, L. G., Pelliccioli, A. P., Schwarze, M., Shultz, M. D., (...), & Baeschlin, D. K. (2020). Evolution of Novartis' Small Molecule Screening Deck Design. *Journal of Medicinal Chemistry*, 63(23), 14425–14447.
- Taylor, S. M., & Juliano, J. J. (2014). Artemisinin Combination Therapies and Malaria Parasite Drug Resistance: The Game Is Afoot. *Journal of Infectious Diseases*, 210(3), 335–337.
- Vanommeslaeghe, K., Raman, E. P., & MacKerell, A. D. (2012). Automation of the CHARMM General Force Field (CGenFF) II: Assignment of Bonded Parameters and Partial Atomic Charges. *Journal of Chemical*

- Information and Modeling, 52(12), 3155–3168.
- Journal of Pharmaceutical Sciences, 16(4), 880-900.
- WHO. World malaria report 2021. World Health Organization; 2021.
- Yang, H., Sun, L., Wang, Z., Li, W., Liu, G., & Tang, Y. (2018). ADMETopt: A Web Server for ADMET Optimization in Drug Design via Scaffold Hopping. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 58(10), 2051–2056.
- Yuniarta, T. A., Wawo, J. E., & Kesuma, D. (2022). MOLECULAR DOCKING STUDY OF 1-(PYRIDIN-4-YL) PYRROLIDINE-2-ONE DERIVATE AGAINST PROLYL-tRNA SYNTHETASE IN PLASMODIUM FALCIPARUM. *Pharmacoscript*, 5(2), 157-171.
- Yuniarta, T. A., Sumartha, I. G. A., Fakhri, T. M., Handayani, R., & Ramadhan, D. S. F. (2023). Discovery of Potential Prolyl-tRNA Synthetase Allosteric Inhibitor Through Virtual Screening and In Vitro Assay against Plasmodium falciparum. *Jordan*