



## ARTIKEL RISET

URL artikel: <http://e-jurnal.fkg.umi.ac.id/index.php/Sinnunmaxillofacial>

### Studi *In Silico* Interaksi Senyawa Aktif Daun Tabat Barito terhadap iNOS sebagai Target Molekuler Inflamasi Mukosa Mulut

<sup>K</sup>Selviana Rizky Pramitha<sup>1</sup>, Maharani Laillyza Apriasari<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Lambung Mangkurat

Email Penulis Korespondensi (<sup>K</sup>): [selviana.pramitha@ulm.ac.id](mailto:selviana.pramitha@ulm.ac.id)

[selviana.pramitha@ulm.ac.id](mailto:selviana.pramitha@ulm.ac.id)<sup>1</sup>, [maharaniroxy@gmail.com](mailto:maharaniroxy@gmail.com)<sup>2</sup>

(+6285753531678)

## ABSTRAK

**Pendahuluan:** Enzim *inducible Nitric Oxide Synthase* (iNOS) memegang peran sentral pada proses inflamasi dimana overekspresinya berkorelasi dengan peningkatan kerusakan jaringan meliputi mukosa rongga mulut yang terpapar berulang dengan stimulus eksternal. Pengembangan senyawa non-toksik yang secara selektif mengatur iNOS tanpa memengaruhi isoenzim lain untuk perbaikan jaringan menjadi tantangan dalam dunia medis. Ekstrak daun Tabat Barito (*Ficus deltoidea* J.) dilaporkan non toksik dan beberapa fitokimianya memiliki efek antiinflamasi sehingga berpotensi untuk inhibitor iNOS. **Tujuan:** Menganalisis interaksi molekuler senyawa aktif daun Tabat Barito terhadap iNOS melalui pendekatan molecular docking sebagai target inflamasi mukosa mulut. **Bahan dan Metode:** Lima fitokimia diuji melalui *molecular docking* terhadap iNOS. Struktur kristal iNOS manusia (PDB ID: 1NSI) divalidasi menggunakan SAVESv6.1, ProSA, dan SWISS-MODEL. Profil farmakokinetik dianalisis dengan SwissADME. Persiapan protein dan ligan dilakukan dengan AutoDockTools (MGLTools 1.5.7), dan docking dianalisis menggunakan PyRx. Visualisasi interaksi menggunakan BIOVIA *Discovery Studio Visualizer Client 2025*. **Hasil:** Afinitas ikatan ligan bervariasi dimana luteolin dan (+)-*epicatechin* menunjukkan ikatan terkuat, melampaui inhibitor standar L-NAME dan L-NMMA. Ligan berafinitas tinggi membentuk interaksi penting dengan residu situs katalitik serta beberapa ikatan hidrogen yang menstabilkan orientasi ligan. Analisis ADME menunjukkan profil *drug-likeness* baik untuk luteolin, *epicatechin*, dan *vanillic acid*, sedangkan *quinic acid* dan inhibitor standar memiliki penyerapan rendah akibat polaritas tinggi. **Kesimpulan:** Kelima fitokimia ekstrak daun Tabat Barito menunjukkan interaksi dengan iNOS dimana *vanillic acid* sebagai senyawa dasar yang paling cocok untuk penggunaan oral dan topikal, sedangkan luteolin dan *epicatechin* menunjukkan potensi modulasi iNOS tertinggi tetapi memerlukan modifikasi desain molekuler.

Kata kunci: Daun tabat barito; fitokimia; *human inducible nitric oxide synthase*; *in silico*

## PUBLISHED BY:

Fakultas Kedokteran Gigi  
Universitas Muslim Indonesia

## Address:

Jl. Pajonga Dg. Nagalle. 27 Pab'batong (Kampus I UMI)  
Makassar, Sulawesi Selatan.

## Email:

[sinnunmaxillofacial.fkgumi@gmail.com](mailto:sinnunmaxillofacial.fkgumi@gmail.com),

## Article history: (dilengkapi oleh admin)

Received 11 Des 2025

Received in revised form 27 Apr 2026

Accepted 27 Apr 2026

Available online 30 Apr 2026

licensed by [Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/).



---

**ABSTRACT**

**Introduction:** Human inducible Nitric Oxide Synthase (iNOS) plays a central role in inflammation as its overexpression is correlated with extensive tissue disruption including oral mucosa which is prone to repetitive exposures of external stimulus. Developing non-toxic compounds that selectively modulate iNOS without affecting related isozymes for tissue repair remains a challenge while Tabat Barito (*Ficus deltoidea* J.) leaves extract is non-toxic and its phytochemicals have shown potential anti-inflammatory effects as iNOS inhibitor. **Objective:** To analyze the molecular interactions of active compounds from Tabat Barito leaves against iNOS through a molecular docking approach as a therapeutic target for oral mucosal inflammation. **Materials and Methods:** The phytochemicals were assessed for iNOS inhibitory activity using molecular docking. The crystal structure of human iNOS (PDB ID: 1NSI) was validated with SAVESv6.1, ProSA, and SWISS-MODEL, and pharmacokinetic profiles were analyzed using SwissADME. Protein and ligand preparation were performed using AutoDockTools (MGLTools 1.5.7), and docking was conducted with PyRx. Protein-ligand interactions were visualized using BIOVIA Discovery Studio Visualizer Client 2025. **Results:** Binding affinities were varied with luteolin and (+)-epicatechin showed the strongest binding, surpassing standard inhibitors L-NAME and L-NMMA. High-affinity ligands formed key interactions with catalytic-site residues and multiple hydrogen bonds stabilizing ligand orientation. ADME analysis indicated favorable drug-likeness for luteolin, epicatechin, and vanillic acid, while quinic acid and standard inhibitors exhibited poor absorption due to high polarity. **Conclusion:** Phytochemicals in Tabat Barito leaves extract showed potential iNOS inhibition with vanillic acid basically as the most suitable for oral and topical use, while luteolin and epicatechin showed the most potent effects yet require modification of molecular design.

**Keywords:** Human inducible nitric oxide synthase; *in silico*; phytochemicals; Tabat barito leaves;

---

**PENDAHULUAN**

Rongga mulut adalah bagian tubuh dimana 80% dilapisi jaringan lunak yang rentan cedera karena terpapar terus menerus dengan gaya mastikasi, pH, suhu, maupun berbagai mikrobiom oral.<sup>1-3</sup> Hal tersebut dapat menyebabkan inflamasi yang berulang maupun persisten pada rongga mulut dengan prevalensi penyakit mukosa oral berkisar dari 10,8% hingga 61,6% berdasarkan populasi dan kriteria penyakit.<sup>4</sup> Meski inflamasi adalah proses biologis penting untuk menghilangkan penyebab cedera, membersihkan sel yang rusak, dan memulai proses perbaikan, tetapi inflamasi yang berlebihan dapat menyebabkan kerusakan jaringan kronis, inflamasi jangka panjang, dan berkembangnya penyakit kronis.<sup>5-7</sup>

*Inducible Nitric Oxide Synthase* (iNOS) merupakan salah satu isoform enzim yang biasanya diinduksi oleh sitokin pro-inflamasi atau lipopolisakarida bakteri (LPS). Induksi iNOS menghasilkan jumlah *nitric oxide* (NO) yang signifikan, yang berperan dalam pertahanan terhadap patogen dan sangat penting bagi respons inflamasi serta sistem imun bawaan. Kadar NO yang terlalu tinggi akibat overekspresi atau disregulasi iNOS dapat bersifat toksik dan terkait dengan berbagai penyakit. Pada rongga mulut, peningkatan ekspresi iNOS diamati pada infeksi akut (*oral candidiasis*), inflamatoris akut (penyakit gingiva dan periodontal), penyakit inflamatoris kronis (*oral lichen planus* dan *oral leukoplakia*), dan kondisi peradangan mukosa oral lainnya.<sup>8-11</sup> Peningkatan kadar iNOS tersebut berkorelasi dengan keparahan penyakit yang berkontribusi terhadap penurunan kualitas hidup pasien hingga transformasi malignansi menjadi karsinoma sel skuamosa oral yang menyebabkan kematian pada 50% kasus.<sup>9,10,12-14</sup> Oleh karena itu, regulasi produksi NO penting untuk menjaga fungsi fisiologis yang tepat sekaligus mengendalikan efek merugikan terutama pada rongga mulut.<sup>5,15</sup>

Pendekatan yang ada, seperti kortikosteroid, bekerja dengan menghambat aktivasi NF- $\kappa$ B sehingga menekan ekspresi iNOS, tetapi berpotensi mengganggu proses penyembuhan dan meningkatkan risiko infeksi.<sup>16-18</sup> Sementara itu, inhibitor NOS selektif maupun non-selektif masih menghadapi kendala dalam pengembangan klinis, termasuk toksisitas, rendahnya spesifisitas jaringan, serta kegagalan translasi dari model praklinis ke manusia.<sup>19-21</sup> Keterbatasan ini menegaskan adanya kebutuhan akan agen inhibitor iNOS yang lebih aman, efektif, dan ekonomis. Dalam konteks tersebut, senyawa bioaktif berbasis alami menjadi kandidat potensial karena profil keamanan dan aktivitas biologisnya, namun eksplorasi spesifik terhadap target iNOS masih terbatas, sehingga penelitian ini berfokus pada identifikasi kandidat inhibitor iNOS melalui pendekatan komputasional.

Obat yang berasal dari senyawa alami tanaman dapat memberikan akses yang lebih cepat dan luas bagi pasien.<sup>22</sup> Berbagai metabolit sekunder yang dilaporkan dalam studi literatur, seperti *quinic acid* (dan enantiomernya), *gallo catechin*, *epicatechin*, *luteolin*, dan *vanillic acid*, diketahui memiliki aktivitas antioksidan dan anti-inflamasi, meskipun sebagian besar pengujian masih berfokus pada target sitokin inflamasi.<sup>23-28</sup> Ekstrak daun ini juga dilaporkan memiliki profil keamanan yang baik terhadap sel dan ginjal.<sup>29,30</sup> Potensi molekuler dan selektivitasnya terhadap iNOS belum sepenuhnya dikarakterisasi, selain itu belum diketahui sifat farmakokinetiknya untuk diserap secara topikal maupun per oral. Pemodelan molekuler, khususnya simulasi *docking*, dapat memberikan wawasan prediktif dengan mengevaluasi afinitas dan profil interaksi ligan-protein sebagai tahap skrining awal untuk mendukung pengembangan obat alami rongga mulut yang efisien.<sup>15</sup> Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk menganalisis secara *in silico* interaksi senyawa hasil studi literatur dari *Ficus deltoidea* terhadap iNOS menggunakan molecular docking sebagai skrining awal, guna mengidentifikasi kandidat inhibitor iNOS potensial pada penyakit mukosa oral.

## BAHAN DAN METODE

### Perangkat Lunak dan Alat

Penelitian ini menggunakan PyMOL untuk mengonversi format molekul, AutoDockTools dari MGLTools 1.5.7 untuk persiapan protein dan ligan, serta PyRx untuk menjalankan simulasi auto docking. Visualisasi interaksi protein-ligan 2D dan 3D dilakukan menggunakan BIOVIA Discovery Studio Visualizer Client 2025. Perangkat keras yang digunakan adalah laptop Lenovo Yoga Slim 7 Aura Edition dengan spesifikasi Intel Core Ultra 7 258V RAM 32 GB.

### Penilaian Kualitas Protein

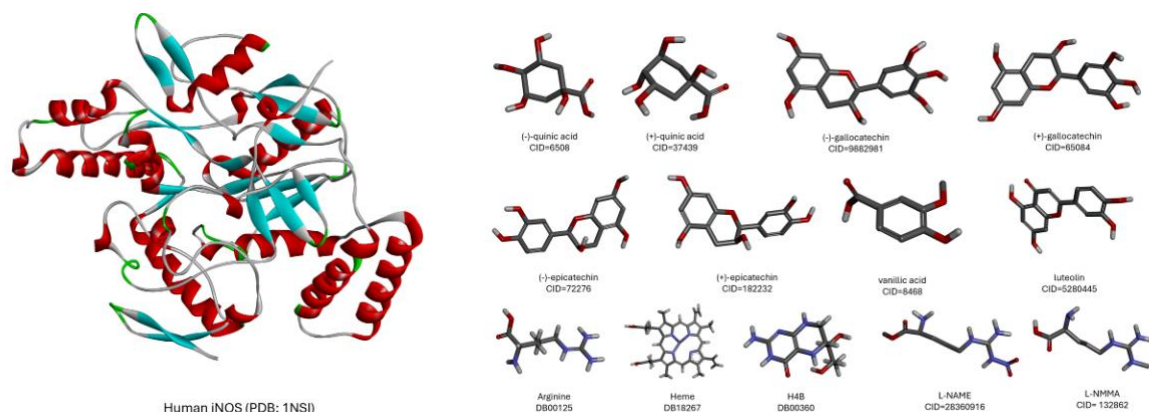
Kualitas stereokimia dan akurasi model prediksi dievaluasi menggunakan server SAVESv6.1, termasuk modul ERRAT, Verify3D, dan PROCHECK, ProSA untuk analisis struktur protein<sup>31</sup>, dan SWISS-MODEL *Structure Assessment*.<sup>31,32</sup>

## Akuisisi dan Persiapan Data Protein

Data human iNOS (PDB code: 1NSI) diperoleh dari situs *Protein Data Bank* (PDB) (<http://rcsb.org/pdb>) dan dipersiapkan untuk satu *chain* (*chain* A) dari satu dimer domain N-terminal oxygenase (Lampiran 1).<sup>5</sup> Heteroatom dihapus menggunakan PyMOL, sedangkan molekul air serta atom hidrogen polar ditambahkan bersama muatan Kollman menggunakan *AutoDockTools* dari MGLTools 1.5.7, kemudian struktur yang dimodifikasi disimpan dalam format (.pdbqt).<sup>33,34</sup>

## Pengambilan dan Persiapan Data Ligan

Struktur 3D ligan (-)-*quinic acid* (CID=6508), (+)-*quinic acid* (CID=37439), (-)-*gallicocatechin* (CID=9882981), (+)-*gallicocatechin* (CID=65084), (-)-*epicatechin* (CID=72276), (+)-*epicatechin* (CID=182232), luteolin (CID=5280445), dan *vanillic acid* (CID=8468) diunduh dari *PubChem*. Ligan kontrol (*Arginine* [DB00125], *Heme* [DB18267], H4B [DB00360], *L-nitroarginine* / *L-NAME* [CID=28360916], dan *L-monomethylarginine* / *L-NMMA* [CID= 132862]) juga disiapkan (Lampiran 1). Konversi file ligan dari SDF ke PDB dilakukan menggunakan PyMOL, diikuti penghapusan molekul air, penambahan hidrogen polar, dan muatan Gasteiger dengan muatan netral. Minimisasi energi dilakukan menggunakan PyRx selama 250 langkah dengan gradien  $0,1 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{\AA}^{-1}$ , kemudian semua ligan dikonversi ke format (.pdbqt) untuk analisis *docking*.<sup>33,34</sup>



Gambar 1. Makromolekul iNOS dan ligan fitokimia Tabat Barito

## Identifikasi Situs Aktif

Situs aktif diidentifikasi menggunakan metode *pocket-based geometry-grid-based* sebelum docking dengan *AutoDockTools*.<sup>35</sup> Kotak *grid* dipusatkan pada pusat massa makromolekul untuk *blind docking*. Dimensi *grid* disesuaikan dengan ukuran ligan dan situs pengikatan protein yang mengandung residu kunci.<sup>34,35</sup> Pusat *grid* iNOS manusia (PDB ID: 1NSI) berada di  $x = 12.3739$ ,  $y = 58.4544$ , dan  $z = 15.5472$ , dengan spasi  $1,000 \text{ \AA}$  dengan arah dimensi  $x = 45.7308$ ,  $y = 74.8433$ , dan  $z = 59.0716 \text{ \AA}$ .

## Penilaian ADMET dan Drug-likeness

Profil ADMET tiap senyawa dianalisis menggunakan *SwissADME*.<sup>36</sup>

## Docking Protein-Ligan

Ligan dan reseptor yang dioptimalkan energi didocking menggunakan AutoDock Vina dalam PyRx. Exhaustiveness sebesar 16 dan jumlah *run* sebanyak 9 menggunakan algoritma pencarian AutoDock Vina. Analisis data *docking* meliputi skor Vina mencerminkan afinitas pengikatan dan konstanta inhibisi ( $K_i$ ) dengan pose yang valid ( $RSMD < 2 \text{ \AA}$ ).<sup>37</sup> Skor Vina tinggi dan energi pengikatan rendah menunjukkan potensi senyawa sebagai inhibitor iNOS lebih besar dibandingkan inhibitor *L-arginine*.<sup>38</sup>

## HASIL

Model human iNOS (PDB ID: 1NSI) menunjukkan kualitas struktural yang baik. Faktor kualitas ERRAT sebesar 92,83%, konsisten dengan resolusi menengah namun struktur yang dapat diterima. Hasil Verify3D menunjukkan 88,69% residu dengan skor 3D-1D  $\geq 0,1$ , menegaskan profil lingkungan yang sesuai.<sup>39</sup> Analisis PROSA menghasilkan Z-score  $-9,32$  ( $Z\text{-score} \leq 10$ ), berada dalam kisaran protein yang ditentukan secara eksperimental dengan ukuran serupa, menunjukkan kualitas model protein yang baik.<sup>40</sup> Secara keseluruhan, metrik validasi ini menunjukkan bahwa model 3D yang diprediksi strukturalnya dapat diandalkan dan cocok untuk analisis lanjutan.<sup>39</sup>

Skor QMEAN untuk keandalan model human iNOS adalah  $-1,30$ , yang tergolong tinggi karena berada di atas  $-4,0$ . (Alhumaid and Tawfik, 2024) Atom C $\beta$  sebesar  $0,07$  menunjukkan konsistensi struktur baik, semua interaksi atom sebesar  $-0,07$  bahwa struktur sesuai protein resolusi tinggi, dan nilai solvasi  $-0,01$  menunjukkan residu hidrofobik pada lipatan dalam. Sementara itu, nilai torsion  $-1,27$  menunjukkan adanya beberapa tegangan torsi atau outlier, yang memerlukan pengecekan lebih lanjut pada Ramachandran.<sup>41-43</sup>

Skor MolProbity menunjukkan resolusi  $2,30 \text{ \AA}$ , yang dapat diterima untuk struktur kristalografi, dengan clashscore  $7,83$ , mencerminkan tumpang tindih atom yang minimal. Residu Ramachandran pada wilayah favorit sebesar  $91,99\%$ , dengan  $0,90\%$  outlier, keduanya masih dalam batas yang dapat diterima. Outlier rotamer ( $3,20\%$ ) menunjukkan beberapa konformasi rantai samping yang tidak biasa, sementara deviasi C-beta minimal (satu kasus pada ASN312). Kesalahan geometri rendah, dengan  $0,056\%$  ikatan buruk dan  $0,026\%$  sudut buruk. Ditemukan empat *cis-proline* ( $4,17\%$ ), yang masih dalam rentang normal tetapi mungkin memerlukan justifikasi biologis. Secara keseluruhan, struktur ini cocok untuk analisis dan publikasi, meskipun beberapa geometri lokal minor dapat diperbaiki lebih lanjut, mendukung perlunya persiapan protein dan ligan sebelum *docking*.<sup>42,44</sup>

Evaluasi SwissADME (Tabel 3) menunjukkan bahwa semua senyawa yang diuji memenuhi persyaratan fisikokimia umum untuk *drug-likeness*, dengan berat molekul di bawah  $500 \text{ g/mol}$  dan nilai TPSA yang kompatibel dengan bioavailabilitas oral, meskipun L-NAME dan L-NMMA menunjukkan polaritas yang lebih tinggi.

Tabel 1. Sifat fitokimia potensial yang diteliti berdasarkan SwissADME

Komponen	Nilai Batas	(-)quinic acid	(+)quinic acid	(-)galloocatechin	(+)galloocatechin	(-)epicatechin	(+)epicatechin	Vanillic acid	Luteolin	L-NAME	L-NMMA
<b>Sifat Fisikokimia</b>											
Molecular weight	≤ 500 g mol <sup>-1</sup>	192.17	192.17	306.27	306.27	290.27	290.27	168.15	286.24	219.20	188.23
Rotatable bonds		1	1	1	1	1	1	2	1	7	6
H-bond donor	≤ 5	5	5	6	6	5	5	2	4	3	4
H-bond acceptor	≤ 10	6	6	7	7	6	6	4	6	5	4
Molar refractivity	≤ 10	40.11	40.11	76.36	76.36	74.33	74.33	41.92	76.01	52.05	49.44
Topological Polar Surface Area (TPSA)	Oral ≤ 140 Å <sup>2</sup> Oral ≤ 90 Å <sup>2</sup>	118.22	118.22	130.61	130.61	110.38	110.38	66.76	111.13	164.00	113.73
<b>Lipophilicity</b>											
Consensus LogP	Oral 1-3 Topikal <1	-1.66	-1.63	0.47	0.52	0.85	0.83	1.08	1.73	-2.79	-1.67
<b>Water Solubility</b>											
Solubility (ESOL)	> 0.1 mg mL <sup>-1</sup> — "larut" 0.01-0.1 mg mL <sup>-1</sup> — "larut sedang" <0.01 mg mL <sup>-1</sup> — "tidak larut"	0.53	0.53	-2.08	-2.08	-2.22	-2.22	-2.02	-3.71	1.55	1.98
<b>Pharmacokinetics (ADME)</b>											
GI absorption		Rendah	Rendah	Tinggi	Tinggi	Tinggi	Tinggi	Tinggi	Tinggi	Rendah	Tinggi
BBB permeant		Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak
P-gp substrate		Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak
CYP interactions		Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	CYP1A2 CYP2D6 CYP3A4	Tidak	Tidak
Log Kp		-9.15	-9.15	-8.17	-8.17	-7.82	-7.82	-6.31	-6.25	-10.21	-10.37
<b>Druglikeness</b>											
Lipinski Rule-of-Five	0-5	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
Ghose	1	2.045	3.492	Ya	Ya	Ya	Ya	Ya	Ya	1	1
Muegge	2	2	2	1	1	1	1	1	1	2	2
Egan	Ya	Ya	Ya	Ya	Ya	Ya	Ya	Ya	Ya	1	Ya
Bioavailability score		0.56	0.56	0.55	0.55	0.55	0.55	0.85	0.55	0.55	0.55
<b>Medicinal Chemistry</b>											
PAINS (Pan-Assay Interference compounds)		0	0	1	1	1	1	0	1	0	0
Brenk / structural alerts		0	0	1	1	1	1	0	1	5	2
Synthetic Accessibility (SA score)	≤ 6	3.34	3.34	3.53	3.53	3.50	3.50	1.42	3.02	3.20	2.58

Docking Molekuler dilakukan pada human iNOS (PDB ID: 1NSI) menggunakan berbagai ligan fenolik dan ligan referensi. Molecular docking menggunakan run sebanyak 10 dengan mode 0-9 (Lampiran 2). Nilai ΔG senyawa yang digunakan pada pose valid (RMSD <2 Å) adalah mode 0 dengan nilai RMSD lower dan upper bound sebesar 0 (Tabel 1), menandakan bahwa pose *docking* yang dipilih mewakili konformasi terbaik yang terurut tanpa deviasi signifikan.

Tabel 2. Hasil analisis Autodock Vina dari iNOS dan fitokimia potensial

Protein	Ligan	Mode	RMSD		ΔG (kcal/mol)	Hydrogen	van Der Waals	Aikil	π-alkil	π-π stacked	Ikatan lainnya
			Lower	Upper							
Human iNOS (PDB ID: 1NSI)	(-)-quinic acid	0	0.000	0.000	-6.5	6	4	3			1 Unfavourable donor-donor (Asp460)
		1	2.045	3.492	-6.2	Asn482, Arg199, Asn482, Thr109, Ser110, Leu116	Gly117, Ile119, Pro198, Ser124	Leu108, Leu125, Pro122			
		2	24.139	24.879	-5.9						
		3	1.559	4.348	-5.6						
		4	29.084	30.472	-5.6						
		5	1.907	3.896	-5.4						
		6	24.713	25.944	-5.3						
		7	1.402	4.527	-5.3						
		8	27.757	29.138	-5.3						
		9	0.000	0.000	-5.4	5	9				
(+)-quinic acid	0	0.000	0.000	-5.4	5	9					
	1	1.706	3.176	-5.3	Asn482, Ser110, Gly117, Ser124, Thr109	Arg199, Asp460, Ile119, Leu108, Leu116, Leu125, Pro122, Ser118, Val484					
	2	9.994	11.146	-5.3							
	3	2.926	5.183	-5.2							
	4	18.401	19.954	-5.2							
	5	1.554	4.324	-5.2							
	6	2.906	4.311	-5.2							
	7	2.701	3.758	-5.2							
	8	2.484	3.888	-5.1							
	9	0.000	0.000	-8.8	2	13		2			2 Kovalen (Glu363, Pro365)
(-)-galloocatechin	0	0.000	0.000	-8.8	2	13		2			2 Kovalen (Glu363, Pro365)
	1	3.235	6.117	-8.6	Asn387, Leu357	Arg215, Arg250, Gln249, Gln358, Glu363, Gly366, Leu181, Leu186, Leu356, Leu362, Phe247, Pro365, Val359	Leu357, Val246				
	2	1.665	6.903	-8.3							
	3	8.286	11.469	-7.8							
	4	2.403	3.601	-7.2							
	5	3.727	5.286	-7.2							
	6	3.845	6.194	-7.1							
	7	7.682	10.855	-7.0							
	8	9.169	11.709	-6.9							
	9	0.000	0.000	-9.0	3	11		4	4	2	1 Carbon hydrogen (Gly371) <sup>14</sup>
(+)-galloocatechin	0	0.000	0.000	-9.0	3	11		4	4	2	1 Carbon hydrogen (Gly371) <sup>14</sup>
	1	3.366	6.283	-9.0	Asn387, Glu377, Gly202 <sup>14</sup>	Asn370 <sup>14</sup> , Gln205 <sup>14</sup> , Ile201 <sup>14</sup> , Ile244 <sup>14</sup> , Leu209 <sup>14</sup> , Met374 <sup>14</sup> , Ser242 <sup>14</sup> , Tyr372 <sup>14</sup> , Tyr373 <sup>14</sup> , Tyr489	Ala197 <sup>14</sup> , Glu200 <sup>14</sup> , Phe369 <sup>14</sup> , Trp372 <sup>14</sup>	Ala197 <sup>14</sup> , Glu200 <sup>14</sup> , Phe369 <sup>14</sup> , Trp372 <sup>14</sup>	Phe369 <sup>14</sup> , Trp194 <sup>14</sup>		
	2	1.310	7.247	-8.8							
	3	1.708	2.454	-8.5							
	4	3.904	6.987	-8.0							
	5	2.058	2.853	-7.9							
	6	8.710	11.462	-7.8							
	7	3.811	5.341	-7.8							
	8	2.424	3.479	-7.4							
	9	0.000	0.000	-8.4		10		2	2	2	
(-)-epicatechin	0	0.000	0.000	-8.4		10		2	2	2	
	1	1.821	6.932	-8.2		Asn370 <sup>14</sup> , Glu377 <sup>14</sup> , Gly371 <sup>14</sup> , Ile244 <sup>14</sup> , Leu209 <sup>14</sup> , Ser242 <sup>14</sup> , Trp190 <sup>14</sup> , Trp372 <sup>14</sup> , Trp463 <sup>14</sup> , Tyr489					
	2	1.684	2.699	-7.9							
	3	1.961	7.252	-7.5							
	4	5.296	9.330	-7.3							
	5	3.933	8.272	-7.3							
	6	16.835	18.578	-7.2							
	7	8.121	11.160	-7.1							
	8	9.395	11.423	-7.0							
	9	0.000	0.000	-9.5	1	10		6	6	2	
(+)-epicatechin	0	0.000	0.000	-9.5	1	10		6	6	2	
	1	1.561	6.993	-8.9	Asn387	Asn370 <sup>14</sup> , Glu377 <sup>14</sup> , Gly202 <sup>14</sup> , Gly371 <sup>14</sup> , Leu209 <sup>14</sup> , Met374 <sup>14</sup> , Pro350 <sup>14</sup> , Trp372 <sup>14</sup> , Tyr373 <sup>14</sup> , Tyr489	Ala197 <sup>14</sup> , Glu200 <sup>14</sup> , Phe369 <sup>14</sup> , Trp194 <sup>14</sup>	Ala197 <sup>14</sup> , Glu200 <sup>14</sup> , Phe369 <sup>14</sup> , Trp194 <sup>14</sup>	Trp1		
	2	1.556	2.998	-8.6							
	3	3.799	6.802	-8.4							
	4	1.460	3.175	-8.3							
	5	4.223	6.366	-8.2							
	6	5.398	7.422	-8.0							
	7	5.801	7.128	-7.9							
	8	4.651	5.957	-7.9							
	9	0.000	0.000	-9.8	2	6		5	4	1	1 π-sigma (Ala197)
Luteolin	0	0.000	0.000	-9.8	2	6		5	4	1	1 π-sigma (Ala197)
	1	3.749	6.990	-9.6	Tyr489	Asn370 <sup>14</sup> , Gly371 <sup>14</sup> , Ile244 <sup>14</sup> , Met355 <sup>14</sup> , Ser242 <sup>14</sup> , Thr190		Ala197 <sup>14</sup> , Arg199 <sup>14</sup> , Leu209 <sup>14</sup>	Phe369 <sup>14</sup> , Trp194 <sup>14</sup>		
	2	3.714	6.924	-9.3							
	3	1.584	7.437	-8.9							
	4	2.227	3.838	-8.4							
	5	1.938	7.113	-8.1							
	6	2.550	4.035	-7.9							
	7	3.826	5.116	-7.8							
	8	3.223	7.535	-7.7							

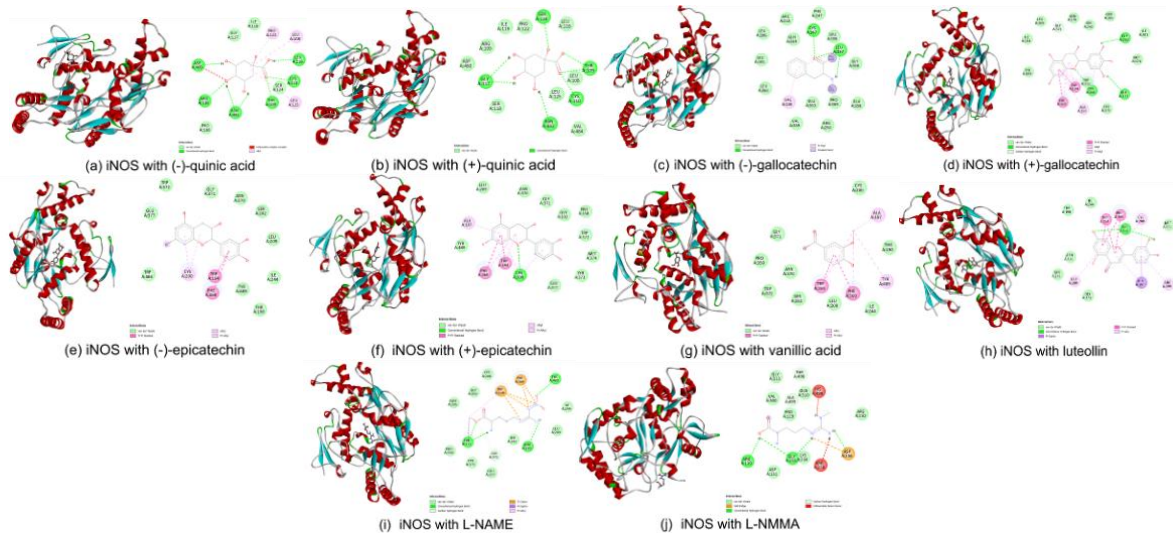
Vanillic acid	0	0.000	0.000	-6.7						
	1	1.590	3.892	-6.6						
	2	1.660	4.340	-6.4						
	3	1.999	2.858	-6.4						
	4	18.441	20.281	-6.0						
	5	23.606	25.229	-5.7						
	6	2.554	5.784	-5.5						
	7	23.404	24.844	-5.4						
	8	23.871	25.525	-5.4						
L-NAME	0	0.000	0.000	-6.1						
	1	11.679	13.486	-6.1						
	2	3.661	4.437	-6.0						
	3	9.318	11.092	-5.9						
	4	1.949	2.616	-5.9						
	5	2.874	3.337	-5.7						
	6	10.995	12.100	-5.7						
	7	10.502	11.748	-5.6						
	8	10.812	11.952	-5.6						
L-NMMA	0	0.000	0.000	-5.7						
	1	19.453	20.074	-5.6						
	2	25.392	26.279	-5.5						
	3	5.635	7.975	-5.4						
	4	19.767	20.504	-5.2						
	5	9.921	11.571	-5.2						
	6	8.913	10.696	-5.2						
	7	25.036	25.870	-5.2						
	8	3.981	5.288	-5.2						
Arginine <sup>a</sup>	0	0.000	0.000	-5.4						
	1	2.054	2.851	-5.3						
	2	2.202	3.831	-5.3						
	3	2.270	3.101	-5.1						
	4	2.350	2.669	-5.0						
	5	26.712	28.397	-5.0						
	6	22.726	23.836	-4.8						
	7	26.406	27.951	-4.7						
	8	2.450	3.601	-4.7						
Heme <sup>b</sup>	0	0.000	0.000	-11.5						
	1	1.612	6.382	-10.6						
	2	3.668	9.283	-10.5						
	3	5.726	10.233	-9.1						
	4	4.757	9.449	-9.1						
	5	3.862	9.386	-8.8						
	6	16.947	20.538	-8.5						
	7	0.000	0.000	-6.5						
	8	2.542	4.806	-6.3						
H4B <sup>c</sup>	0	0.000	0.000	-6.5						
	1	2.542	4.806	-6.3						
	2	2.032	2.855	-6.2						
	3	2.864	4.982	-6.1						
	4	2.604	3.771	-6.1						
	5	6.627	7.551	-5.9						
	6	24.830	25.741	-5.8						
	7	8.125	10.388	-5.8						
	8	3.737	4.880	-5.7						

Keterangan:

Berdasarkan perbandingan molecular docking substrat iNOS meliputi <sup>a</sup>arginine, <sup>b</sup>heme, dan <sup>c</sup>H4B

Berdasarkan referensi terkait residu kunci iNOS pada *arginine-binding site* (biru), *heme-binding site* (merah), dan *access channel* (hijau)

Analisis docking menunjukkan bahwa semua ligan terakomodasi dengan baik di dalam binding pocket protein melalui kombinasi ikatan polar (kovalen polar dan hidrogen) dan ikatan non-polar (kovalen non-polar, van der Waals,  $\pi$ - $\pi$  stacking,  $\pi$ -alkil, dan interaksi hidrofobik) (Tabel 2).



Gambar 2. Diagram 2D dan 3D interaksi reseptor dan ligan

## PEMBAHASAN

Profil SwissADME pada penelitian ini menunjukkan bahwa seluruh senyawa memenuhi kriteria *drug-likeness* dasar, dengan berat molekul <500 g/mol, serta kelarutan gastrointestinal sangat baik hingga sedang.<sup>36</sup> TPSA sebagian besar mendukung bioavailabilitas oral, meskipun L-NAME dan L-NMMA memiliki polaritas tinggi yang menurunkan permeabilitas pasif dan absorpsi, sedangkan karakteristik hidrofilik mayoritas senyawa (LogP <1) meningkatkan kelarutan tetapi membatasi penetrasi membran.<sup>45</sup> *Vanillic acid* dan luteolin memiliki lipofilisitas optimal (LogP 1–3) yang mendukung keseimbangan kelarutan–permeabilitas dan potensi aplikasi topikal.<sup>46</sup> Dari aspek farmakokinetik, derivat *catechin* seperti *gallo catechin* dan *epicatechin* diprediksi memiliki penyerapan gastrointestinal tinggi namun rentan mengalami *efflux* karena menjadi substrat P-gp,<sup>47</sup> sedangkan *quinic acid*, L-NAME, dan L-NMMA menunjukkan penyerapan rendah akibat polaritas tinggi. Seluruh senyawa diperkirakan tidak menembus *blood–brain barrier*,<sup>48</sup> dan risiko interaksi metabolik relatif rendah kecuali pada luteolin yang diprediksi menghambat CYP1A2, CYP2D6, dan CYP3A4.<sup>49</sup> Semua senyawa memenuhi parameter *drug-likeness*, memiliki bioavailabilitas 0,55–0,85, tanpa PAINS alert, meskipun luteolin dan L-NAME menunjukkan Brenk alert untuk memicu reaktivitas dan toksisitas.<sup>50</sup> Secara keseluruhan, *vanillic acid* muncul sebagai kandidat paling menjanjikan untuk penggunaan oral dan topikal karena lipofilisitas seimbang, TPSA sesuai, dan bioavailabilitas tertinggi; derivat *catechin* berpotensi sebagai kandidat sekunder dengan kebutuhan reformulasi untuk mengatasi *efflux* P-gp; luteolin memiliki prospek namun berpotensi memicu interaksi metabolik; sementara L-NAME, L-NMMA, dan *quinic acid* dinilai kurang ideal untuk administrasi oral karena polaritas tinggi dan permeabilitas rendah, serta diperkirakan memiliki permeasi topikal terbatas.<sup>46</sup>

Hasil *molecular docking* menunjukkan  $\Delta G$  potensi inhibisi iNOS dalam kategori lemah hingga kuat yang dipengaruhi karakteristik ikatan kimia struktur ligan (jenis, jumlah, dan lokasi).<sup>51–54</sup> Nilai  $\Delta G$  sendiri dihitung dari total energi ikatan selama suatu proses kimia berlangsung atau entalpi dikurangi derajat ketidakteraturan yang terjadi pada struktur kimia meliputi kontak struktur polar dengan residu *non-polar* atau entropi.<sup>51,55</sup> Nilai negatif menunjukkan pembentukan ikatan kimia baru yang terjadi secara spontan dan lebih stabil sehingga dapat merujuk ke selektivitas ikatan terhadap suatu senyawa, sedangkan nilai positif merujuk pada energi pemutusan ikatan.<sup>55–58</sup> Kontak struktur polar cenderung membentuk ikatan kimia baru dengan residu polar (seperti Arg, Asp, Cys, Glu, Gly, His, Lys, Ser, Thr) dan menghasilkan energi negatif. Kontrak struktur polar dengan residu *non-polar* (seperti Ala, Ile, Leu, Met, Phe, Pro, Try atau Val) sering kali memaksa komponen air disekitarnya untuk terlepas agar ligan dapat berikatan pada sisi aktif sehingga menghasilkan energi positif dan meningkatkan  $\Delta G$ .<sup>51</sup> Pada penelitian ini, kami juga melibatkan analisis untuk enantiomer fitokimia karena memiliki struktur serupa dan sering diidentifikasi sebagai kandungan bahan alam tetapi berbeda posisi gugus sehingga dapat mempengaruhi efeknya.<sup>24</sup>

Potensi inhibisi iNOS lemah diamati pada (+)-*quinic acid*, (-)-*quinic acid* dan *vanillic acid*. Kelompok sitoklol, walaupun memiliki beberapa ikatan hidrogen karena gugus hidroksilnya lebih banyak (empat), tetapi jumlah ikatan lain dan interaksi dengan *key residue* lebih sedikit. Sementara itu, senyawa (-)-*quinic acid* tetap menunjukkan potensi lebih tinggi dibandingkan enantiomernya (+)-*quinic acid* karena memiliki lebih banyak ikatan hidrogen meskipun jumlah interaksi dengan residu non-polarnya serupa.<sup>55</sup> *Vanillic acid*, senyawa dengan satu gugus hidroksil, menunjukkan  $\Delta G$  lebih tinggi dibandingkan (-)-*quinic acid* dan (+)-*quinic acid* meskipun hanya membentuk ikatan *van der Waals* berenergi lebih rendah (~1 kcal/mol) dibandingkan ikatan hidrogen (~5 kcal/mol) dapat dilihat pada Tabel 2.<sup>54</sup> Kontak gugus hidroksil dengan residu polar pada senyawa ini cenderung lebih banyak, sehingga menghasilkan nilai  $\Delta G$  yang lebih tinggi. Temuan ini konsisten dengan adanya interaksi struktur fitokimia dengan sejumlah *key residue* pada *arginine-*, *heme-*, dan *BH4-binding site* iNOS yang dilaporkan dalam studi lain sedangkan dua senyawa lainnya hanya berinteraksi dengan *arginine-*, *heme-binding site* dan *channel access*.<sup>59,60</sup> Adapun L-NAME dan L-NMMA, meskipun membentuk interaksi hidrogen, memiliki kontak dengan residu non-polar yang lebih sedikit dan kontak terbatas pada *key residu arginine-binding site*, *channel access*, dan fosforilasi enzim, sehingga menghasilkan energi ikatan yang lebih lemah dibandingkan ligan polifenolik afinitas tinggi.<sup>19,51,61</sup>

Potensi inhibisi sedang hingga kuat diamati pada kelompok flavonoid yaitu (-)-*epicatechin*, (-)-*gallicocatechin*, (+)-*gallicocatechin*, dan (+)-*epicatechin*, sedangkan potensi inhibisi kuat diamati pada luteolin.<sup>52</sup> Senyawa (-)-*epicatechin* walaupun tidak memiliki ikatan hidrogen menunjukkan banyak ikatan berenergi rendah dengan sejumlah residu *non-polar* dan *key residue* pada ketiga *binding site*. Sebaliknya, (-)-*gallicocatechin* memiliki ikatan kovalen berenergi sangat tinggi namun hanya berinteraksi dengan *heme-binding site*.<sup>55</sup> (+)-*Epicatechin* memberi potensi inhibisi tertinggi dalam kelompok potensi sedang karena jumlah ikatannya dengan *key residue arginine-* dan *heme-binding site* lebih banyak dibanding (+)-*gallicocatechin*. Sementara itu, luteolin menunjukkan efek inhibisi tertinggi dengan membentuk dua ikatan hidrogen dengan residu *tyrosine* yang diperlukan untuk aktivitas katalitik ikatan iNOS serta stabilisasi dan lokasi enzim dalam sel.<sup>62</sup>

Temuan ini konsisten dengan mekanisme katalitik iNOS, di mana efektivitas inhibisi ditentukan oleh kemampuan ligan menjangkau tiga situs fungsional utama—*arginine-*, *heme-*, dan *BH4-binding site*—melalui *channel access* menuju sisi aktif, karena produksi NO bergantung pada penyelarasan domain FAD–FMN–heme, kofaktor *heme* yang diaktivasi L-arginine untuk oksidasi L-arginine menjadi NO, sisi zat besi untuk pada *heme* untuk perekrutan oksigen, dan stabilisasi muatan oleh BH4; dengan demikian, ligan yang hanya berinteraksi pada *arginine-*, *heme-binding site*, atau kanal akses saja menunjukkan potensi lebih rendah karena tidak mengganggu peran BH4 sebagai stabilisator radikal dan pendonor elektron untuk pembentukan dan pelepasan NO. Perspektif *tunnel access* turut menegaskan bahwa geometri dan sifat fisikokimia kanal berkontribusi terhadap spesifisitas dan efisiensi penghambatan. Selain itu, interaksi ligan dengan residu tirosin pada domain oksigenase memiliki signifikansi regulatif, mengingat tirosin merupakan target fosforilasi untuk interaksi dengan

protein pendukung (seperti calmodulin serta kofaktor FAD, FMN, dan BH4) yang berpotensi meniru atau mengganggu awal siklus katalitik sebelum electron FMN mencapai situs *heme*. Secara keseluruhan, cakupan interaksi fitokimia terhadap residue kunci di ketiga situs katalitik disertai pengaruhnya terhadap kanal akses dan residue tirosin yang terlibat dalam fosforilasi menjelaskan perbedaan potensi inhibisi yang diamati.<sup>5,59,60,63</sup>

Hasil penelitian ini menjelaskan potensi senyawa fenolik dalam ekstrak daun Tabat Barito—terutama luteolin, *epicatechin*, dan *galocatechin*—sebagai inhibitor iNOS yang mendukung pengembangan agen antiinflamasi alami untuk terapi mukosa oral.<sup>23</sup> Interaksi senyawa tersebut dengan iNOS dapat menurunkan hiperaktivasi NF- $\kappa$ B dan makrofag serta pelepasan berlebih sitokin proinflamasi dengan mengurangi produksi *damage associated molecular patterns* (DAMPs) dari kerusakan jaringan oleh NO.<sup>64,65</sup> Profil SwissADME menunjukkan karakteristik *vanillic acid* sebagai kandidat fitokimia terbaik karena memfasilitasi transportasi ke lapisan epitelium rongga mulut dimana berat molekulnya tidak melebihi 800 Da dengan lipofolisitas untuk sediaan mukosa bukal adalah *vanillic acid* dan luteolin (logP 1.6 hingga 3.3).<sup>66</sup> Afinitas superior luteolin dan *epicatechin* dibanding inhibitor klasik membuka peluang desain modulasi iNOS yang poten untuk penyakit mukosa rongga mulut tetapi perlu modifikasi desain molekul yang tidak memicu reaksi atau toksisitas serta mendukung penetrasi ke jaringan epitel rongga mulut.<sup>67,68</sup> Keterbatasan studi termasuk sifat statis *docking* yang dapat mempengaruhi hasil analisis jika terdapat *backbone* reseptor fleksibel dan prediksi afinitas yang memerlukan simulasi *molecular dynamic* dan validasi eksperimen secara *in vivo*.<sup>69,70</sup> Studi komputasi dan eksperimen lanjutan diperlukan untuk mengonfirmasi potensi terapeutik senyawa-senyawa fenolik dalam penelitian ini.

## KESIMPULAN DAN SARAN

Kelima fitokimia ekstrak daun Tabat Barito menunjukkan interaksi dengan iNOS dimana *vanillic acid* sebagai senyawa dasar yang paling cocok untuk penggunaan oral dan topikal, sedangkan luteolin dan *epicatechin* menunjukkan potensi modulasi iNOS tertinggi tetapi memerlukan modifikasi desain molekul. Temuan ini menekankan senyawa fenolik terpilih sebagai kandidat untuk terapi anti-inflamasi penyakit mukosa oral yang menargetkan iNOS untuk validasi lebih lanjut.

## DAFTAR PUSTAKA

- [1] Kumar G. Orban oral histology & embryology. 13th ed. India: Elsevier; 2011.
- [2] Gomez-Casado C, Sanchez-Solares J, Izquierdo E, Díaz-Perales A, Barber D, Escribese MM. Oral mucosa as a potential site for diagnosis and treatment of allergic and autoimmune diseases. *Foods*. 2021 Apr 28;10(5):970. doi:10.3390/foods10050970

- 
- [3] Rajasekaran JJ, Krishnamurthy HK, Bosco J, Jayaraman V, Krishna K, Wang T, et al. Oral microbiome: a review of its impact on oral and systemic health. *Microorganisms*. 2024 Aug 29;12(9):1797. doi:10.3390/microorganisms12091797
- [4] Gupta A, Shrestha P, Poudyal S, Kumar S, Lamichhane RS, Acharya SK, et al. Prevalence and distribution of oral mucosal lesions and normal variants among Nepalese population. Ferri A, editor. *BioMed Research International*. 2023 Jan;2023(1):9375084. doi:10.1155/2023/9375084
- [5] Cinelli MA, Do HT, Miley GP, Silverman RB. Inducible nitric oxide synthase: regulation, structure, and inhibition. *Medicinal Research Reviews*. 2020 Jan;40(1):158–89. doi:10.1002/med.21599
- [6] Soliman AM, Barreda DR. Acute inflammation in tissue healing. *IJMS*. 2022 Dec 30;24(1):641. doi:10.3390/ijms24010641
- [7] Chavda VP, Feehan J, Apostolopoulos V. Inflammation: the cause of all diseases. *Cells*. 2024 Nov 18;13(22):1906. doi:10.3390/cells13221906
- [8] Casaroto AR, Da Silva RA, Salmeron S, Rezende MLRD, Dionísio TJ, Santos CFD, et al. *Candida albicans*-cell interactions activate innate immune defense in human palate epithelial primary cells via Nitric Oxide (NO) and  $\beta$ -Defensin 2 (hBD-2). *Cells*. 2019 Jul 12;8(7):707. doi:10.3390/cells8070707
- [9] Singh D, Srivastava K, Potsangbam A, Shrivastava D, Nandini D, Singh W, et al. A case-control study comparing and correlating iNOS expression among various clinicopathological variants of oral leukoplakia and oral squamous cell carcinoma: A Immunohistochemistry study. *J Pharm Bioall Sci*. 2020;12(5):324. doi:10.4103/jpbs.JPBS\_96\_20
- [10] Humberto JSM, Saia RS, Costa LHA, Rocha MJA, Motta ACF. Salivary cytokine profile in patients with oral lichen planus. *Odovtos - Int J Dent Sc*. 2023 Oct 17;188–200. doi:10.15517/ijds.2023.57139
- [11] Lima L, Gaspar S, Rocha BS, Alves R, Almeida MG. Current clinical framework on nitric oxide role in periodontal disease and blood pressure. *Clin Oral Invest*. 2024 Sep 12;28(10):521. doi:10.1007/s00784-024-05913-x
- [12] International Agency for Research on Cancer. *Global cancer observatory: cancer today*. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2022. Report No.
- [13] Wyszynska M, Czelakowska A, Rosak P, Białyzyt-Bujak E, Gruca O, Rosak-Szyrocka J, et al. Changes in the oral cavity mucosal surface under the influence of wearing protective face masks—Nitric Oxide concentration analysis—preliminary report. *Coatings*. 2022 Aug 12;12(8):1164. doi:10.3390/coatings12081164
- [14] Butt DQ, Khattak O, Chaudhary FA, Bader AK, Mujtaba H, Iqbal A, et al. Oral health-related quality of life in patients with chronic oral mucosal diseases: reliability and validity of urdu version of chronic oral mucosal disease questionnaire (COMDQ). *Healthcare*. 2023 Feb 17;11(4):606. doi:10.3390/healthcare11040606
- [15] Thamaraiselvi L, Selvankumar T, Wesely EG, Nathan VK. In silico molecular docking on bioactive compounds from indian medicinal plants against type 2 diabetic target proteins: a computational approach. *ijps*. 2021;83(6). doi:10.36468/pharmaceutical-sciences.882

- [16] Guo Q, Jin Y, Chen X, Ye X, Shen X, Lin M, et al. NF- $\kappa$ B in biology and targeted therapy: new insights and translational implications. *Sig Transduct Target Ther*. 2024 Mar 4;9(1):53. doi:10.1038/s41392-024-01757-9
- [17] Koshi EJ, Young K, Mostales JC, Vo KB, Burgess LP. Complications of corticosteroid therapy: a comprehensive literature review. *Journal of Pharmacy Technology*. 2022 Dec;38(6):360–7. doi:10.1177/87551225221116266
- [18] Weinberg E, Tagger-Green N, Lusthaus M, Vered M, Mijiritsky E, Chaushu L, et al. The impact of corticosteroid administration at different time points on mucosal wound healing in rats: an experimental pilot in vivo study. *Biology*. 2022 Sep 2;11(9):1309. doi:10.3390/biology11091309
- [19] Minhas R, Bansal Y, Bansal G. Inducible nitric oxide synthase inhibitors: a comprehensive update. *Medicinal Research Reviews*. 2020 May;40(3):823–55. doi:10.1002/med.21636
- [20] Sun Q. The hydrophobic effects: our current understanding. *Molecules*. 2022 Oct 18;27(20):7009. doi:10.3390/molecules27207009
- [21] Maccallini C, Budriesi R, De Filippis B, Amoroso R. Advancements in the research of new modulators of Nitric Oxide Synthases activity. *IJMS*. 2024 Aug 3;25(15):8486. doi:10.3390/ijms25158486
- [22] Chaachouay N, Zidane L. Plant-derived natural products: a source for drug discovery and development. *DDC*. 2024 Feb 19;3(1):184–207. doi:10.3390/ddc3010011
- [23] Nurmaida, Darusman LK, Mohammad R, Heryanto R. Metabolite Profiling of Tabat Barito (*Ficus deltoidea*) Using UPLC-QTOF-MS/MS. *J Pure App Chem Res*. 2018 May 1;7(2):100–8. doi:10.21776/ub.jpacr.2018.007.02.374
- [24] Yu JH, Yu ZP, Capon RJ, Zhang H. Natural enantiomers: occurrence, biogenesis and biological properties. *Molecules*. 2022 Feb 14;27(4):1279. doi:10.3390/molecules27041279
- [25] Heena, Kaushal S, Kaur V, Panwar H, Sharma P, Jangra R. Isolation of quinic acid from dropped *Citrus reticulata* Blanco fruits: its derivatization, antibacterial potential, docking studies, and ADMET profiling. *Front Chem*. 2024 Apr 18;12:1372560. doi:10.3389/fchem.2024.1372560
- [26] Iqra, Sharif A, Akhtar B, Shao C, Wang S, Younas A. Quinic acid alleviates inflammatory responses and oxidative stress in Freund's complete adjuvant-induced arthritic rat model and associated risk factors of atherosclerosis. *Inflammopharmacol*. 2025 Nov;33(11):6669–90. doi:10.1007/s10787-025-01930-8
- [27] Swislocka R, Kowalczyk N, Dabrowska A, Choinska R, Lewandowski W, Swiderski G. Spectroscopic, antioxidant and cytotoxicity studies of vanillic acids. *Sci Rep*. 2025 Aug 26;15(1):31396. doi:10.1038/s41598-025-13965-6
- [28] Trembl J, Nykodýmová D, Kubatka P. Structure activity relationship of flavonoids as PPAR $\gamma$  agonists. *Phytochem Rev*. 2025 Oct;24(5):3797–827. doi:10.1007/s11101-025-10121-w
- [29] Apriasari ML, Nadia H, Hanifa N, Utami JP, Firdaus IWK. In vitro and in vivo nephrotoxicity evaluation of the methanol extract of *Ficus deltoidea* Jack leaf. *TJNPR*. 2024 Jun 29;8(6). doi:10.26538/tjnpr/v8i6.28
- [30] Apriasari ML, Adhiya GM, Wasiaturrahmah Y, Utami JP. Antibacterial, antifungal And subchronic toxicity test of *Ficus deltoidea* Jack leaves extract. . Number. 2025;12(1).

- [31] Ashley CN, Broni E, Wood CM, Miller WA. In silico characterization of ADAR1: structure, dynamics, and functional implications. *CIMB*. 2025 Nov 18;47(11):958. doi:10.3390/cimb47110958
- [32] Waterhouse A, Bertoni M, Bienert S, Studer G, Tauriello G, Gumienny R, et al. SWISS-MODEL: homology modelling of protein structures and complexes. *Nucleic Acids Research*. 2018 Jul 2;46(W1):W296–303. doi:10.1093/nar/gky427
- [33] Dey D, Paul P, Azad S, Mazid M, Khan A, Sharif M, et al. Molecular optimization, docking, and dynamic simulation profiling of selective aromatic phytochemical ligands in blocking the SARS-CoV-2 S protein attachment to ACE2 receptor: an in silico approach of targeted drug designing. *J Adv Vet Anim Res*. 2021;8(1):1. doi:10.5455/javar.2021.h481
- [34] Amrulloh LSWF, Nuraini H, Andri P, Rina H. Analysis of molecular docking and dynamics simulation of Mahogany (*Swietenia macrophylla* King) compounds against the PLpro enzyme SARS-COV-2. *JFIKI*. 2023 Dec 21;10(3):347–59. doi:10.20473/jfiki.v10i32023.347-359
- [35] Liao J, Wang Q, Wu F, Huang Z. In Silico methods for identification of potential active sites of therapeutic targets. *Molecules*. 2022 Oct 20;27(20):7103. doi:10.3390/molecules27207103
- [36] Daina A, Michielin O, Zoete V. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Sci Rep*. 2017 Mar 3;7(1):42717. doi:10.1038/srep42717
- [37] Guterres H, Im W. Improving Protein-Ligand Docking Results with High-Throughput Molecular Dynamics Simulations. *J Chem Inf Model*. 2020 Apr 27;60(4):2189–98. doi:10.1021/acs.jcim.0c00057
- [38] Atsariyah HA, Utami D. Molecular docking of Xiamycin derivatives on RNA-dependent RNA polymerase as a SARS-COV-2 virus replication inhibitor. *Prosiding Seminar Nasional Farmasi Universitas Ahmad Dahlan*. 2023;1–12.
- [39] Tran NT, Jakovlić I, Wang WM. In silico characterisation, homology modelling and structure-based functional annotation of blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*) Hsp70 and Hsc70 proteins. *J Anim Sci Technol*. 2015 Dec;57(1):44. doi:10.1186/s40781-015-0077-x
- [40] Ravindran J, Rahmat Z. In silico structure prediction and molecular docking studies of the DGAT1\_2 protein from *Elaeis guineensis* with Oleoyl-CoA. *MJCHEM*. 2023 Jun 29;25(3):150–63. doi:10.55373/mjchem.v25i3.150
- [41] Benkert P, Biasini M, Schwede T. Toward the estimation of the absolute quality of individual protein structure models. *Bioinformatics*. 2011 Feb 1;27(3):343–50. doi:10.1093/bioinformatics/btq662
- [42] Richardson JS, Williams CJ, Hintze BJ, Chen VB, Prisant MG, Videau LL, et al. Model validation: local diagnosis, correction and when to quit. *Acta Crystallogr D Struct Biol*. 2018 Feb 1;74(2):132–42. doi:10.1107/S2059798317009834
- [43] Samanta A, Mahafujul Alam SS, Ali S, Hoque M. Analyzing the interaction of human ACE2 and RBD of spike protein of SARS-CoV-2 in perspective of Omicron variant [Internet]. *Bioinformatics*; 2021 [cited 2026 Feb 25]. Available from: <http://biorxiv.org/lookup/doi/10.1101/2021.12.23.473991> doi:10.1101/2021.12.23.473991

- [44] Hintze BJ, Lewis SM, Richardson JS, Richardson DC. Molprobability's ultimate rotamer-library distributions for model validation: MolProbability's Ultimate Rotamer-Library. *Proteins*. 2016 Sep;84(9):1177–89. doi:10.1002/prot.25039
- [45] Di L. In: Drug-like properties concepts, structure design and methods from ADME to toxicity optimization. 2nd ed. Science Direct; 2016.
- [46] Waters LJ, Quah XL. Predicting skin permeability using HuskinDB. *Sci Data*. 2022 Sep 23;9(1):584. doi:10.1038/s41597-022-01698-4
- [47] Ejeje JN, Agbebi EA, Mathenjwa-Goqo MS, Oje OA, Agboinghale PE, Ebe IT, et al. Computational investigation of the therapeutic potential of *Detarium senegalense* in the management of erectile dysfunction. *IJMS*. 2024 Nov 18;25(22):12362. doi:10.3390/ijms252212362
- [48] Cornelissen FMG, Markert G, Deutsch G, Antonara M, Faaij N, Bartelink I, et al. Explaining blood–brain barrier permeability of small molecules by integrated analysis of different transport mechanisms. *J Med Chem*. 2023 Jun 8;66(11):7253–67. doi:10.1021/acs.jmedchem.2c01824
- [49] Hossam Abdelmonem B, Abdelaal NM, Anwer EKE, Rashwan AA, Hussein MA, Ahmed YF, et al. Decoding the role of CYP450 enzymes in metabolism and disease: a comprehensive review. *Biomedicines*. 2024 Jul 2;12(7):1467. doi:10.3390/biomedicines12071467
- [50] Capuzzi SJ, Muratov EN, Tropsha A. Phantom PAINS: Problems with the utility of alerts for Pan-Assay interference compounds. *J Chem Inf Model*. 2017 Mar 27;57(3):417–27. doi:10.1021/acs.jcim.6b00465
- [51] Peccati F, Jiménez-Osés G. Enthalpy–entropy compensation in biomolecular recognition: a computational perspective. *ACS Omega*. 2021 May 4;6(17):11122–30. doi:10.1021/acsomega.1c00485
- [52] Gurung AB, Ali MA, Lee J, Farah MA, Al-Anazi KM, Sami H. Molecular modelling studies unveil potential binding sites on human serum albumin for selected experimental and in silico COVID-19 drug candidate molecules. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 2022 Jan;29(1):53–64. doi:10.1016/j.sjbs.2021.09.042
- [53] Dong J, Li D, Kang L, Luo C, Wang J, School of Pharmaceutical Sciences, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, China, et al. Insights into human eNOS, nNOS and iNOS structures and medicinal indications from statistical analyses of their interactions with bound compounds. *Biophysics Reports*. 2023;9(3):159–75. doi:10.52601/bpr.2023.210045
- [54] Ma Z, Ajibade A, Zou X. Docking strategies for predicting protein-ligand interactions and their application to structure-based drug design. *Communications in Information and Systems*. 2024;24(3):199–230. doi:10.4310/CIS.241021221101
- [55] Rodwell VW, Bender DA, Botham KM, Kennelly PJ. *Harper's illustrated biochemistry*. 30th ed. New York: McGraw-Hill Education; 2015.
- [56] Sun D, Gao W, Hu H, Zhou S. Why 90% of clinical drug development fails and how to improve it? *Acta Pharmaceutica Sinica B*. 2022 Jul;12(7):3049–62. doi:10.1016/j.apsb.2022.02.002
- [57] Usenik A, Alešković M, Roca S, Markuš I, Šekutor M, Požar J. Hosting of diamantane alcohols in water and hydrogen-bonded organic solvents: the (non-)classical hydrophobic effect. *New J Chem*. 2023;47(40):18745–55. doi:10.1039/D3NJ03097K

- [58] Spassov DS. Binding affinity determination in drug design: insights from lock and key, induced fit, conformational selection, and inhibitor trapping models. *IJMS*. 2024 Jun 28;25(13):7124. doi:10.3390/ijms25137124
- [59] Verde C, Giordano D, Bruno S. NO and heme proteins: cross-talk between heme and cysteine residues. *Antioxidants*. 2023 Jan 30;12(2):321. doi:10.3390/antiox12020321
- [60] Prayoga D, Pitaloka D, Aulifa D, Budiman A, Levita J, Jiranusornkul S, et al. Phytochemical Analysis, Computational Study, and in vitro Assay of *Etligeria elatior* inflorescence extract towards inducible nitric oxide synthase. *JEP*. 2025 Mar;Volume 17:123–41. doi:10.2147/JEP.S505658
- [61] Masike K, Mhlongo MI, Mudau SP, Nobela O, Ncube EN, Tugizimana F, et al. Highlighting mass spectrometric fragmentation differences and similarities between hydroxycinnamoyl-quinic acids and hydroxycinnamoyl-isocitric acids. *Chemistry Central Journal*. 2017 Dec;11(1):29. doi:10.1186/s13065-017-0262-8
- [62] Chen T. Unveiling the significance of inducible nitric oxide synthase: Its impact on cancer progression and clinical implications. *Cancer Letters*. 2024 Jun;592:216931. doi:10.1016/j.canlet.2024.216931
- [63] Kingsley LJ, Lill MA. Substrate tunnels in enzymes: structure–function relationships and computational methodology. *Proteins*. 2015 Apr;83(4):599–611. doi:10.1002/prot.24772
- [64] Yahfoufi N, Alsadi N, Jambi M, Matar C. The immunomodulatory and anti-inflammatory role of polyphenols. *Nutrients*. 2018 Nov 2;10(11):1618. doi:10.3390/nu10111618
- [65] Yang R, Gao Y, Li H, Huang W, Tu D, Yang M, et al. Posttranslational S-nitrosylation modification regulates HMGB1 secretion and promotes its proinflammatory and neurodegenerative effects. *Cell Reports*. 2022 Sep;40(11):111330. doi:10.1016/j.celrep.2022.111330
- [66] Sabra R, Kirby D, Chouk V, Malgorzata K, Mohammed AR. Buccal absorption of biopharmaceutics classification system III drugs: formulation approaches and mechanistic insights. *Pharmaceutics*. 2024 Dec 6;16(12):1563. doi:10.3390/pharmaceutics16121563
- [67] Alfalasi M, Alzaabi S, Östlundh L, Al-Rifai RH, Al-Salam S, Mertes PM, et al. Effect of Nitric Oxide pathway inhibition on the evolution of anaphylactic shock in animal models: a systematic review. *Biology*. 2022 Jun 16;11(6):919. doi:10.3390/biology11060919
- [68] Ryszkiewicz P, Schlicker E, Malinowska B. Is Inducible Nitric Oxide Synthase (iNOS) promising as a new target against pulmonary hypertension? *Antioxidants*. 2025 Mar 21;14(4):377. doi:10.3390/antiox14040377
- [69] Agu PC, Afiukwa CA, Orji OU, Ezech EM, Ofoke IH, Ogbu CO, et al. Molecular docking as a tool for the discovery of molecular targets of nutraceuticals in diseases management. *Sci Rep*. 2023 Aug 17;13(1):13398. doi:10.1038/s41598-023-40160-2
- [70] Salo-Ahen OMH, Alanko I, Bhadane R, Bonvin AMJJ, Honorato RV, Hossain S, et al. Molecular Dynamics Simulations in Drug Discovery and Pharmaceutical Development. *Processes*. 2020 Dec 30;9(1):71. doi:10.3390/pr9010071