

DITHYMOQUINONE DAN SENYAWA TURUNANNYA SEBAGAI KANDIDAT INHIBITOR PROTEIN NUKLEOKAPSID SIN NOMBRE VIRUS: STUDI IN SILICO

Muhammad Darryl Aghzuwan Fiddianova^{1*}, Ahmad Mukafi Mazidan¹, I Gusti Agung Setiawan¹, Nailah Putri Sisfani¹, Nisrina Nazihah Azaly¹, Nisrina Khairunnisa¹, Alfiyatul Khoiriyah¹, Arjuna Satrio Narendro Nutra Amputro¹, Irfan Indradinata Putra¹, Muhammad Bilal Akira¹, Imam Siswanto²

¹ Rekayasa Nanoteknologi, Fakultas Teknologi Maju & Multidisiplin, Universitas Airlangga, Surabaya, Jawa Timur, Indonesia, 60115

² Departemen Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga, Surabaya, Jawa Timur, Indonesia, 60115

*Penulis Korespondensi: muhammad.darryl.aghzuwan@ftmm.unair.ac.id

Abstract. Hantavirus infection remains a global health problem due to its high mortality rate and the lack of specific antiviral therapies. Sin Nombre Virus (SNV) is one of the most pathogenic hantavirus species, causing Hantavirus Cardiopulmonary Syndrome (HCPS) characterized by severe respiratory failure and high fatality rates. The nucleocapsid protein (NP) plays a critical role in the viral life cycle, making it a potential target for inhibitor development. This study aimed to evaluate the potential of dithymoquinone (DTQ) and ten of its derivatives as inhibitors of SNV nucleocapsid protein through an *in silico* approach. Molecular docking analysis was employed to predict binding affinity and molecular interaction patterns between ligands and the target protein (PDB ID: 5E05). The results showed that DTQ10 (with -NH-C₆H₄-COOH substituent) exhibited the best total grid score (-55.14 kcal/mol), supported by its larger molecular size and higher molecular weight, which enhance van der Waals interactions. Meanwhile, DTQ08 (with -NH-C₆H₅ substituent) demonstrated the best grid electrostatic (-5.61 kcal/mol) with a competitive total grid score (-49.96 kcal/mol), making it a superior candidate due to its strong polar interaction stability. These findings suggest that DTQ derivatives, particularly DTQ08 and DTQ10, have promising potential as inhibitors against the nucleocapsid protein of Sin Nombre Virus and warrant further investigation through *in vitro* and *in vivo* studies.

Keywords: antiviral agents; molecular docking; Sin Nombre Virus; *in silico* study; dithymoquinone derivatives

Abstrak. Infeksi hantavirus masih menjadi masalah kesehatan global karena tingginya angka kematian serta belum tersedianya terapi antivirus spesifik. Sin Nombre Virus (SNV) merupakan salah satu spesies hantavirus paling patogen yang menyebabkan Hantavirus Cardiopulmonary Syndrome (HCPS) yang ditandai dengan gagal napas berat dan tingkat fatalitas tinggi. Protein nukleokapsid (NP) memiliki peran penting dalam siklus hidup virus sehingga menjadi target potensial dalam pengembangan kandidat inhibitor. Penelitian ini bertujuan mengevaluasi potensi dithymoquinone (DTQ) dan sepuluh senyawa turunannya sebagai kandidat inhibitor protein nukleokapsid SNV melalui pendekatan *in silico*. Analisis *molecular docking* digunakan untuk memprediksi afinitas ikatan dan pola interaksi molekuler antara ligan dengan protein target (PDB ID: 5E05). Hasil analisis menunjukkan bahwa DTQ10 (dengan substituen -NH-C₆H₄-COOH) memiliki *grid score* total terbaik (-55,14 kkal/mol) yang didukung oleh ukuran molekul lebih besar dan berat molekul lebih tinggi, sehingga meningkatkan interaksi van der Waals. Sementara itu, DTQ08 (dengan substituen -NH-C₆H₅) menunjukkan *grid electrostatic* terbaik (-5,61 kkal/mol) dengan *grid score* total yang kompetitif (-49,96 kkal/mol), menjadikannya kandidat unggul karena stabilitas interaksi polar yang kuat. Temuan ini menunjukkan bahwa turunan DTQ, khususnya DTQ08 dan DTQ10, berpotensi dikembangkan sebagai kandidat inhibitor terhadap protein nukleokapsid Sin Nombre Virus dan layak diteliti lebih lanjut melalui uji *in vitro* dan *in vivo*.

Kata kunci: agen antivirus; *molecular docking*; Sin Nombre Virus; studi *in silico*; turunan dithymoquinone

1. LATAR BELAKANG

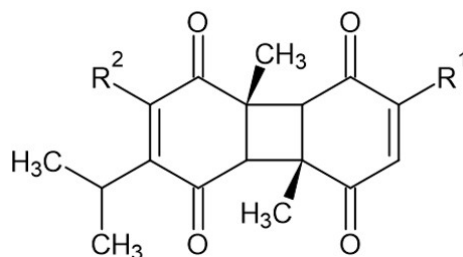
Hantavirus merupakan virus RNA untai tunggal berpolaritas negatif yang termasuk dalam genus *Orthohantavirus* dan menjadi ancaman kesehatan masyarakat global dengan lebih dari 200.000 kasus dilaporkan setiap tahunnya di berbagai negara (Afzal dkk., 2023). Infeksi hantavirus dapat menyebabkan dua sindrom utama, yaitu *Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome* (HFRS) yang banyak ditemukan di Asia dan Eropa serta *Hantavirus Cardiopulmonary Syndrome* (HCPS) yang memiliki tingkat mortalitas tinggi hingga 40–60%, terutama akibat infeksi *Sin Nombre Virus* (SNV) di Amerika Utara (Afzal dkk., 2023). Selain menjadi masalah kesehatan global, keberadaan hantavirus juga telah dilaporkan di Indonesia melalui identifikasi infeksi pada manusia dan rodensia di berbagai wilayah seperti Pulau Jawa, Sulawesi, dan Bali (Lukman dkk., 2019). Kondisi ini menunjukkan bahwa hantavirus masih berpotensi menjadi ancaman kesehatan yang memerlukan perhatian serius, khususnya di negara berkembang dengan kepadatan penduduk yang tinggi dan interaksi manusia-hewan yang intensif.

Meskipun prevalensinya cukup tinggi, hingga saat ini belum tersedia terapi antivirus spesifik maupun vaksin yang telah memperoleh lisensi global untuk pengobatan infeksi hantavirus. Penatalaksanaan pasien masih didominasi oleh terapi suportif seperti pemberian oksigen, ventilasi mekanik, hemofiltrasi, dan *extracorporeal membrane oxygenation* (ECMO) pada kasus berat (Liu dkk., 2020). Berbagai kandidat antivirus telah dikembangkan, di antaranya griffithsin yang menghambat infeksi melalui pengikatan N-glikan virus, laktoferin yang menghambat pelekatan virus pada sel inang, serta favipiravir yang memberikan perlindungan penuh pada model hewan (Afzal dkk., 2023). Namun, kandidat-kandidat tersebut masih menghadapi berbagai kendala seperti stabilitas biologis, efektivitas klinis, biaya produksi, serta kemampuan penghantaran obat ke target infeksi (Brocato & Hooper, 2019). Oleh karena itu, pencarian kandidat antivirus baru yang lebih efektif dan aman masih menjadi kebutuhan mendesak dalam pengendalian infeksi hantavirus.

Salah satu target yang menjanjikan dalam pengembangan antivirus adalah protein nukleokapsid (*Nucleocapsid Protein* atau NP) *Sin Nombre Virus*. Protein ini memiliki peran penting dalam siklus hidup virus, termasuk pengikatan RNA virus, enkapsidasi genom, replikasi, transkripsi, serta interaksi dengan faktor sel inang yang mendukung propagasi virus (Boudko, Kuhn, & Rossmann, 2007). Pada *Sin Nombre Virus*, NP juga terlibat dalam interaksi dengan protein virus lainnya dan membantu virus menghindari sistem imun inang melalui penghambatan respons interferon tipe I, sehingga memungkinkan virus untuk bertahan dan menyebar (Levine dkk., 2010). Gangguan terhadap fungsi NP berpotensi menghambat berbagai tahapan replikasi virus secara simultan, sehingga menurunkan kemampuan virus untuk berkembang biak di dalam sel inang. Karena perannya yang esensial, NP telah diusulkan sebagai target strategis dalam pengembangan obat antivirus berbasis struktur.

Dithymoquinone (DTQ) merupakan salah satu senyawa bioaktif utama yang berasal dari *Nigella sativa* dan telah banyak dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan, antiinflamasi, antimikroba, serta antivirus (Ahmad dkk., 2013). Potensi biologis tersebut menjadikan DTQ sebagai kandidat *lead compound* yang menarik untuk dikembangkan lebih lanjut. Namun, aktivitas biologis suatu senyawa alami tidak selalu optimal untuk dikembangkan sebagai obat, sehingga diperlukan proses optimasi struktur untuk meningkatkan efektivitas terapeutiknya (Ahmed, Farzana, & Kazi, 2026). Dalam kimia medisinal, modifikasi struktur senyawa induk merupakan strategi yang umum dilakukan untuk meningkatkan afinitas ikatan terhadap protein target, memperbaiki stabilitas

metabolik, meningkatkan bioavailabilitas, serta mengurangi efek toksik yang tidak diinginkan. Dengan demikian, senyawa turunan DTQ berpotensi memiliki aktivitas antivirus yang lebih baik dibandingkan dengan senyawa induknya.



Gambar 1.1 Struktur dasar Dithymoquinone (DTQ) dengan variasi substituen pada posisi R1 dan R2.

Untuk mengeksplorasi potensi inhibisi turunan DTQ terhadap protein NP, studi ini menggunakan pendekatan *in silico* yang dipilih berdasarkan beberapa alasan teknis dan strategis. Pendekatan *in silico* atau *computer-aided drug design* (CADD) telah terbukti mampu mempercepat proses penemuan dan pengembangan obat dengan meminimalkan biaya dan waktu yang dibutuhkan (Subhaswaraj & Siddhardha, 2022). Melalui metode ini, peneliti dapat menyaring banyak senyawa sekaligus (*high-throughput screening*) untuk menemukan kandidat yang paling potensial sebelum melanjutkan ke uji laboratorium yang lebih mahal dan memakan waktu. Teknik *molecular docking* memungkinkan prediksi afinitas atau kekuatan ikatan antara protein target nukleokapsid dengan ligan Dithymoquinone dan turunannya, serta memberikan informasi tentang interaksi molekuler seperti ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik, dan interaksi π (Subhaswaraj & Siddhardha, 2022). Metode ini juga memungkinkan proses *scaffold optimization* dan *lead optimization*, sehingga peneliti dapat memahami mengapa suatu kandidat layak untuk dikembangkan lebih lanjut dibandingkan senyawa lainnya. Penelitian sebelumnya telah menunjukkan bahwa senyawa kuinon dari *Nigella sativa*, termasuk turunan DTQ, memiliki potensi sebagai inhibitor terhadap berbagai target protein virus, seperti pada virus dengue melalui target NS5 *methyltransferase* (Roney dkk., 2024), sehingga memperkuat rasionalitas eksplorasi turunan DTQ terhadap protein nukleokapsid *Sin Nombre Virus*.

Namun, penelitian yang secara khusus mengeksplorasi berbagai turunan Dithymoquinone (bukan hanya senyawa induknya) terhadap protein nukleokapsid *Sin Nombre Virus* masih sangat terbatas. Kebaruan penelitian ini terletak pada evaluasi komprehensif senyawa dithymoquinone dan turunannya sebagai kandidat inhibitor protein nukleokapsid *Sin Nombre Virus* melalui pendekatan *in silico* berbasis *molecular docking*, yang mencakup modifikasi struktur pada posisi R1 dan R2 untuk mengidentifikasi turunan dengan afinitas ikatan yang lebih baik dibandingkan senyawa induknya. Berdasarkan uraian tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi potensi dithymoquinone dan senyawa turunannya sebagai inhibitor protein nukleokapsid *Sin Nombre Virus* melalui pendekatan *in silico* menggunakan analisis *molecular docking*.

2. KAJIAN TEORITIS

2.1 Hantavirus dan *Sin Nombre Virus*

Hantavirus merupakan virus RNA untai tunggal berpolaritas negatif yang termasuk dalam genus *Orthohantavirus* dan famili *Hantaviridae* (Kuhn & Schmaljohn, 2023).

Virus ini ditularkan terutama melalui inhalasi aerosol yang mengandung partikel virus dari urin, feses, atau *saliva rodensia* yang terinfeksi (Brocato & Hooper, 2019). Pada manusia, infeksi hantavirus dapat menyebabkan dua sindrom klinis utama, yaitu *Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome* (HFRS) yang banyak ditemukan di Asia dan Eropa, serta *Hantavirus Cardiopulmonary Syndrome* (HCPS) yang lebih dominan di benua Amerika (Echterdiek dkk., 2019). Di antara berbagai spesies hantavirus yang telah diidentifikasi, *Sin Nombre Virus* (SNV) merupakan penyebab utama HCPS dengan tingkat mortalitas yang dapat mencapai 40–60%. Tingginya tingkat kematian pada kasus HCPS disebabkan oleh peningkatan permeabilitas vaskular yang mengakibatkan edema paru, gagal napas akut, dan gangguan fungsi kardiovaskular (Afzal dkk., 2023). Meskipun telah banyak penelitian dilakukan mengenai epidemiologi dan patogenesis hantavirus, hingga saat ini belum tersedia terapi antivirus spesifik yang disetujui secara global sehingga pengobatan masih berfokus pada terapi suportif (Liu dkk., 2020).

2.2 Protein Nukleokapsid sebagai Target Antivirus

Siklus replikasi hantavirus mencakup serangkaian tahapan molekuler yang berpotensi menjadi sasaran intervensi terapeutik, meliputi proses adsorpsi virus ke permukaan sel inang, penetrasi ke dalam sitoplasma, pelepasan genom, sintesis RNA, hingga tahapan perakitan dan budding partikel virion (Subhaswaraj & Siddhardha, 2022). Di antara berbagai protein struktural yang terlibat, protein nukleokapsid (NP) memegang peranan sentral dalam proses tersebut. NP merupakan protein yang dikodekan oleh segmen S genom hantavirus dan berfungsi sebagai komponen utama dalam pembentukan kompleks ribonukleoprotein melalui pengikatan langsung dengan RNA genomik, yang esensial untuk proses transkripsi dan replikasi virus (Levine dkk., 2010). Selain fungsinya dalam pengemasan genom, NP juga diketahui berinteraksi dengan berbagai protein sel inang yang turut memfasilitasi kelangsungan siklus replikasi virus. Berdasarkan kajian struktural dan fungsional, gangguan terhadap interaksi NP-RNA terbukti mampu menghambat pembentukan kompleks replikasi, yang pada akhirnya menurunkan efisiensi proliferasi virus. Dengan demikian, protein nukleokapsid dipandang sebagai salah satu target molekuler yang strategis dalam pengembangan terapi antivirus terhadap infeksi hantavirus (Subhaswaraj & Siddhardha, 2022).

2.3 Dithymoquinone dan Senyawa Turunannya

Dithymoquinone (DTQ) merupakan salah satu senyawa bioaktif utama yang ditemukan dalam *Nigella sativa* atau jintan hitam (Roney & Mohd Aluwi, 2024). Senyawa ini merupakan hasil dimerisasi thymoquinone dan termasuk ke dalam kelompok quinone yang diketahui memiliki berbagai aktivitas biologis (Cyril dkk., 2024; Shrivastava, Sharma, & Husain, 2025). Sejumlah penelitian telah melaporkan aktivitas antioksidan, antiinflamasi, antimikroba, antikanker, serta antivirus dari DTQ dan senyawa terkait (Cyril dkk., 2024; Roney & Mohd Aluwi, 2024). Aktivitas biologis tersebut sebagian besar dikaitkan dengan kemampuan gugus quinone dalam berinteraksi dengan biomolekul melalui pembentukan ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik, serta transfer elektron (Gray dkk., 2016). Meskipun demikian, aktivitas biologis suatu senyawa alami tidak selalu optimal untuk dikembangkan sebagai obat sehingga diperlukan proses optimasi struktur guna meningkatkan efektivitas terapeutiknya. Dalam bidang kimia medisinal, modifikasi struktur molekul merupakan strategi yang umum digunakan untuk meningkatkan afinitas pengikatan terhadap target biologis, memperbaiki stabilitas metabolik, meningkatkan bioavailabilitas, serta mengurangi efek toksik yang tidak diinginkan (Shrivastava dkk., 2025).

Senyawa turunan DTQ dapat diperoleh melalui substitusi atau modifikasi gugus fungsi tertentu pada struktur induknya (Shrivastava dkk., 2025). Perubahan struktur tersebut dapat memengaruhi distribusi muatan elektron, polaritas molekul, fleksibilitas konformasi, dan kemampuan membentuk interaksi non-kovalen dengan protein target (Ahmed dkk., 2026). Dalam konteks pengembangan antivirus, senyawa turunan umumnya menunjukkan afinitas pengikatan yang lebih tinggi dibandingkan senyawa induknya karena mampu membentuk lebih banyak interaksi dengan residu asam amino pada situs aktif protein (Ahmed dkk., 2026). Untuk kandidat senyawa terapi, tiga puluh fitokimia dari *Nigella sativa* atau jintan hitam dipilih untuk studi ini. Senyawa-senyawa tersebut dipilih berdasarkan sifat farmakokinetik yang ideal untuk administrasi sublingual karena bioavailabilitas yang lebih baik, onset aksi yang cepat, dan sifat disolusi yang lebih baik (Ahmad dkk., 2013). Oleh karena itu, eksplorasi berbagai turunan DTQ menjadi pendekatan yang rasional untuk menemukan kandidat inhibitor baru terhadap protein nukleokapsid *Sin Nombre Virus* (Ahmed dkk., 2026; Siddiqui dkk., 2022).

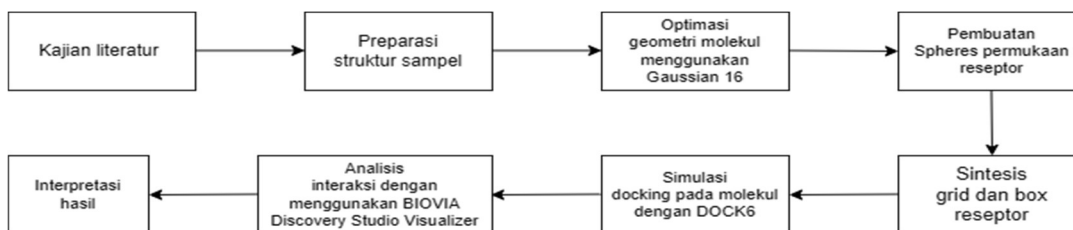
2.4 Molecular Docking dalam Penemuan Obat

Molecular docking merupakan metode komputasi yang banyak digunakan dalam tahap awal penemuan obat untuk memprediksi interaksi antara ligan dan protein target (Subhaswaraj & Siddhardha, 2022). Metode ini mengeksplorasi orientasi dan konformasi ligan di dalam situs pengikatan protein kemudian mengevaluasinya menggunakan fungsi penilaian (*scoring function*) (Meng, Zhang, Mezei, & Cui, 2011). Hasil *docking* dinyatakan dalam energi bebas ikatan (*binding affinity*), di mana nilai yang lebih negatif menunjukkan interaksi yang lebih stabil (Subhaswaraj & Siddhardha, 2022). Selain kekuatan ikatan, *docking* juga mengidentifikasi residu asam amino yang terlibat dalam ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik, elektrostatik, maupun interaksi π (Dos Santos, Ferreira, & Andricopulo, 2018). Algoritma *docking* memprediksi pose kompleks ligan-protein melalui serangkaian percobaan hingga memilih orientasi terbaik berdasarkan fungsi penilaian (Subhaswaraj & Siddhardha, 2022). Aplikasi *docking* mencakup prediksi toksisitas, polifarmakologi, *drug repositioning*, serta *target fishing* dan *profiling* (Lee, Lee, & Kim, 2016; Pinzi & Rastelli, 2019). Ketika dikombinasikan dengan data eksperimental, *virtual screening* berbasis *docking* menjadi instrumen penting dalam desain obat rasional (Sethi, Joshi, Sasikala, & Alvala, 2020). Oleh karena itu, metode ini banyak digunakan untuk menyaring kandidat senyawa potensial sebelum pengujian eksperimental yang lebih mahal dan memakan waktu (Agamah dkk., 2020).

2.5 Penelitian Terdahulu dan Kesenjangan Penelitian

Berbagai penelitian sebelumnya telah mengeksplorasi kandidat antivirus untuk melawan infeksi hantavirus melalui berbagai mekanisme. Senyawa griffithsin terbukti mampu menghambat infeksi Andes virus (ANDV) dan *Sin Nombre Virus* (SNV) melalui interaksinya dengan glikoprotein permukaan virus (Shrivastava-Ranjan dkk., 2020), sementara favipiravir dilaporkan memiliki efektivitas yang tinggi dalam menekan replikasi hantavirus pada model hewan (Safronetz dkk., 2013). Selain itu, sejumlah studi juga telah mengungkapkan aktivitas biologis dari thymoquinone serta turunannya terhadap berbagai virus patogen (Cyril dkk., 2024). Meskipun demikian, kajian yang secara khusus meneliti potensi turunan dithymoquinone sebagai inhibitor terhadap protein nukleokapsid *Sin Nombre Virus* masih sangat jarang ditemukan (Ahmed dkk., 2026). Dengan demikian, penelitian ini bertujuan untuk mengisi celah pengetahuan tersebut sekaligus menyediakan landasan ilmiah bagi pengembangan kandidat antivirus berbasis senyawa alami untuk melawan infeksi hantavirus.

3. METODE PENELITIAN



Gambar 3.1 Diagram alir tahapan penelitian

3.1 Bahan Penelitian

Model reseptor diperoleh dari server *Protein Data Bank* (PDB) (<http://www.rcsb.org/>) dengan ID 5E05. Kompleks ini terdiri dari satu rantai (rantai A). Protein nukleokapsid *Sin Nombre Virus* (residu 112-395) berada pada rantai A, kemudian rantai A dipilih sebagai model kompleks. Ion fosfat (PO₄) dan kristal air dihilangkan dari kompleks tersebut. Atom hidrogen dan muatan atomik ditambahkan pada protein nukleokapsid menggunakan metode perhitungan muatan AM1-BCC dan dimuat menggunakan program UCSF Chimera 1.18 yang dieksekusi dengan modul Antechamber.

3.2 Preparasi Struktur Ligan

Tiga belas ligan turunan dithymoquinone (DTQ00–DTQ12) dibangun dengan mengganti gugus di sekitar cincin kerangka utama yang ditandai dengan R1 dan R2 (Tabel 4.1). Struktur awal ligan diunduh dari basis data PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) dan dimodelkan menggunakan perangkat lunak GaussView 6.0. Semua model ligan dipra-optimasi menggunakan fitur *Clean Geometry* sebelum dioptimasi secara energetik dan geometrik pada metode semi-empiris PM7-D3 yang diimplementasikan dalam paket program Gaussian16. Ligan yang telah dioptimasi ini disimpan dalam format file PDB. Atom hidrogen dan muatan atomik ditambahkan menggunakan metode perhitungan muatan AM1-BCC dan dimuat menggunakan program UCSF Chimera (<https://www.cgl.ucsf.edu/chimera/>). Semua ligan yang telah terprotonasi dan bermuatan ini disimpan dalam format file Sybil mol2.

3.3 Validasi Parameter Docking

Molecular docking dilakukan menggunakan perangkat lunak Dock 6.12 (<http://dock.compbio.ucsf.edu/>) yang berjalan pada sistem operasi Ubuntu 22.04 Linux. Studi penambatan dilakukan pada prosesor Intel Xeon E5-2620, dengan memori 16 GB. Permukaan molekuler reseptor dibuat berdasarkan implementasi algoritma yang dikembangkan oleh Richards dan Connolly pada perangkat bantu (DMS) yang disertakan dalam distribusi UCSF DOCK 6. Selanjutnya, titik-titik orientasi (*spheres*) yang merepresentasikan citra negatif atau invaginasi dari permukaan molekuler tersebut dibuat menggunakan program *sphgen* yang juga merupakan bagian dari distribusi perangkat lunak DOCK 6.12 (Tan dkk., 2025). Karena tidak adanya ligan bawaan pada struktur kristal, sisi aktif ditentukan melalui pendekatan pemilihan kluster permukaan mayoritas (*majority surface cluster*) (Zhao, Cao, & Zhang, 2020). Dimensi *grid* untuk *sampling* ligan adalah 25,878 Å × 20,568 Å × 19,666 Å pada resolusi 0,3 Å. Kualitas parameter *docking* ini divalidasi melalui penambatan ulang (*re-docking*) ion fosfat (PO₄) ko-kristal sebagai ligan kontrol, yang tingkat akurasinya dikuantifikasi oleh nilai simpangan baku rata-rata akar (*root mean square deviation*, RMSD).

3.4 Simulasi Penambatan Ligan

Serangkaian tiga belas senyawa turunan dithymoquinone diuji untuk menyelidiki mode pengikatannya di dalam sisi aktif fragmen protein nukleokapsid SNV. Penambatan otomatis (*automated docking*) dilakukan tanpa keberadaan molekul air secara eksplisit. Seluruh parameter yang telah divalidasi diimplementasikan untuk melakukan penambatan ligan terhadap reseptor. Setiap ligan ditambatkan ke dalam sisi pengikatan reseptor menggunakan parameter penambatan fleksibel (*flexible docking*) bawaan pada perangkat lunak Dock 6.12 untuk mendapatkan konformasi terbaik dari setiap ligan. Proses ini memanfaatkan fungsi penilaian berbasis *grid* (*grid-based scoring function*) untuk mengkalkulasi afinitas pengikatan antara ligan dan reseptor. Pola ikatan hidrogen dan interaksi molekuler lainnya kemudian divisualisasikan dan dianalisis menggunakan perangkat lunak BIOVIA Discovery Studio Visualizer.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

Penyusunan dan pengembangan agen terapeutik baru melalui strategi modifikasi struktural terhadap suatu senyawa induk pada dasarnya bertujuan untuk memformulasi deretan senyawa turunan (*derivatives*) baru yang memiliki efikasi aktivitas biologis jauh lebih superior sekaligus meminimalkan potensi efek samping toksisitas yang merugikan bagi sel inang. Dalam ruang lingkup penemuan obat berbasis komputasi, terdapat dua strategi yang umumnya digunakan, yaitu perancangan obat berbasis ligan (*ligand-based drug design/LBDD*) dan perancangan obat berbasis struktur (*structure-based drug design/SBDD*) (Saß, 2017). Pendekatan LBDD bekerja dengan cara mengeksplorasi informasi konformasional dari molekul-molekul kecil aktif yang telah diketahui sebelumnya melalui analisis komparatif terhadap karakteristik struktur molekul dan pangkalan data aktivitas biologisnya (Yang dkk., 2021), sedangkan strategi SBDD berfokus pada arsitektur tiga dimensi dari makromolekul protein target dari eksperimen melalui teknik kristalografi sinar-X maupun permodelan homologi guna mengidentifikasi topografi situs pengikatan aktif (Agnihotry dkk., 2020).

4.1 Pemodelan Ligan

Dalam penelitian ini, senyawa turunan Dithymoquinone (DTQ) baru dirancang melalui substitusi taktis pada posisi rantai samping R1 dan R2 dari kerangka struktur induk DTQ00 dengan berbagai substituen. Substituen tersebut meliputi modifikasi berbasis gugus karboksil, asam fosfonat, hidroksil, fungsionalitas halogenasi (fluorida, klorida, dan bromida), serta penggabungan berbagai fragmen cincin aromatik (fenil, benzil, amino fluorofenil, aminofenil, fluoro benzil, dan amino karboksifenil). Upaya substitusi ini ditargetkan untuk memperkuat afinitas interaksi hidrofobik, sehingga dapat memfasilitasi pembentukan jaringan ikatan hidrogen baru yang lebih persisten pada residu target dan meningkatkan stabilitas sterik. Berdasarkan modifikasi ini, total tiga belas senyawa DTQ dipilih untuk penyaringan kandidat inhibitor dari NP SNV (Tabel 4.1).

Tabel 4.1 Struktur turunan Dithymoquinone baru yang dirancang

Variasi	Detail Struktur	
	R1	R2
DTQ00	-CH(CH ₃)-CH ₃	-H
DTQ01	-COOH	-H
DTQ02	-PO ₃ H ₂	-H
DTQ03	-CH(CH ₃)-CH ₃	-OH

DTQ04	-C6H5	-H
DTQ05	-CH2-C6H5	-H
DTQ06	-CH(CH3)-CH3	-F
DTQ07	-NH-C6H4F	-H
DTQ08	-NH-C6H5	-H
DTQ09	-CH2-C6H4F	-H
DTQ10	-NH-C6H4-COOH	-H
DTQ11	-CH(CH3)-CH3	-Cl
DTQ12	-CH(CH3)-CH3	-Br

4.2 Simulasi Interaksi Berbasis *Docking*

Validasi metodologi *docking* dikonfirmasi melalui proses *redocking* ligan kontrol PO4 pada situs aktif reseptor 5E05. Hasil simulasi menunjukkan nilai *Root-Mean-Square Deviation* (RMSD) sebesar 1,997 Å. Nilai yang berada di bawah 2,0 Å mengindikasikan tumpang-tindih antara konformasi hasil *docking* dengan struktur kristalografi eksperimental, sekaligus memvalidasi parameter *grid* yang digunakan untuk memprediksi interaksi ligan selanjutnya (Wu dkk., 2024). Interaksi kontrol PO4 didominasi oleh interaksi elektrostatik, dengan *Electrostatic Grid Score* mencapai -66,34 kkal/mol dari total skor -79,32 kkal/mol. Karakteristik ini disebabkan oleh tingginya muatan negatif dari gugus oksigen fosfat yang membentuk jaringan ikatan hidrogen kaku dengan residu GLY 1, GLN 2, THR 3, dan ALA 4 pada situs pengikatan reseptor 5E05. Penapisan selanjutnya dilakukan terhadap 13 variasi ligan turunan dithymoquinone (DTQ00–DTQ12). Nilai *Total Grid Score* untuk seluruh molekul tercantum dalam Tabel 4.2. Molekul DTQ10 teridentifikasi sebagai kandidat terbaik dengan nilai *Grid Score* paling minimum (-55,14 kkal/mol). Keunggulan afinitas DTQ10 distabilkan oleh interaksi ganda pada residu GLY 1 dan GLY 83.

Ligan DTQ02 menghasilkan *Electrostatic Grid Score* yang paling tinggi (-8,40 kkal/mol) dibandingkan variasi lainnya karena berhasil membentuk orientasi gugus fungsi terhadap residu basa ARG 84 yang bermuatan positif. Akan tetapi, DTQ08 berhasil membentuk jaringan ikatan hidrogen paling ekstensif pada tiga residu sekaligus, yaitu THR 70, GLN 72, dan GLY 83. Interaksi elektrostatik ganda ini bertindak sebagai pengikat yang memengaruhi afinitas DTQ08 hingga mencapai nilai *Grid Score* sebesar -49,96 kkal/mol. Hal ini membuktikan bahwa modifikasi gugus fungsi mampu mengoptimalkan interaksi elektrostatik dengan residu bermuatan di sekitar situs pengikatan RNA mengendalikan parameter utama afinitas ligan terhadap *Nucleocapsid Protein Sin Nombre Virus*.

Tabel 4.2 Skor grid dan kunci interaksi ligan terhadap reseptor 5E05

Variasi Ligan	Rmsd (Å)	Skor Grid Total (kkal/mol)	Skor Grid Elektrostatik (kkal/mol)	Residu Ikatan Hidrogen
PO4 (kontrol)	1,997	-79,32991	-66,345879	GLY 1, GLN 2, THR 3, ALA 4
DTQ00	-	-43,948841	-3,808191	GLY 83S
DTQ01	-	-47,582813	-5,052474	ARG 86, ARG 254
DTQ02	-	-46,472301	-8,401620	GLY 83, ARG 84
DTQ03	-	-44,500011	-4,876480	GLY 83

DTQ04	-	-50,600956	-3,771747	TYR 251
DTQ05	-	-48,380966	1,477568	GLY 83
DTQ06	-	-44,308022	-4,936251	ARG 86
DTQ07	-	-47,093086	-1,617218	GLY 83
DTQ08	-	-49,96368	-5,611917	THR 70, GLN 72, GLY 83
DTQ09	-	-49,186295	-4,081902	ARG 86, ASP 199
DTQ10	-	-55,143791	-3,818194	GLY 1, GLY 83
DTQ11	-	-44,199310	-3,098823	ARG 86, ARG 254
DTQ12	-	-46,49298	-4,801325	GLY 83, ARG 86, ARG 254

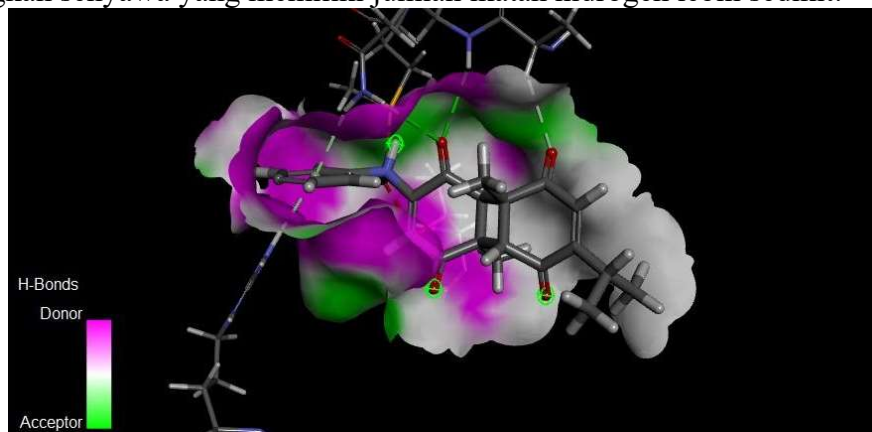
4.3 Analisis Interaksi Molekuler

Analisis lebih lanjut menggunakan BIOVIA Discovery Studio Visualizer menunjukkan bahwa stabilitas kompleks antara senyawa turunan dithymoquinone dengan protein nukleokapsid *Sin Nombre virus* (PDB ID: 5E05) tidak hanya ditentukan oleh nilai afinitas hasil *molecular docking*, tetapi juga oleh terbentuknya jaringan interaksi non-kovalen yang bekerja secara sinergis. Interaksi tersebut meliputi *conventional hydrogen bond*, *carbon hydrogen bond*, π -donor *hydrogen bond*, interaksi Sulfur-X, serta interaksi van der Waals yang berperan dalam mempertahankan orientasi ligan pada kantung pengikatan (*binding pocket*). Analisis ini dilakukan terhadap dua ligan dengan afinitas terbaik, yaitu DTQ08 dan DTQ10, untuk mengevaluasi mekanisme pengikatannya terhadap protein target.

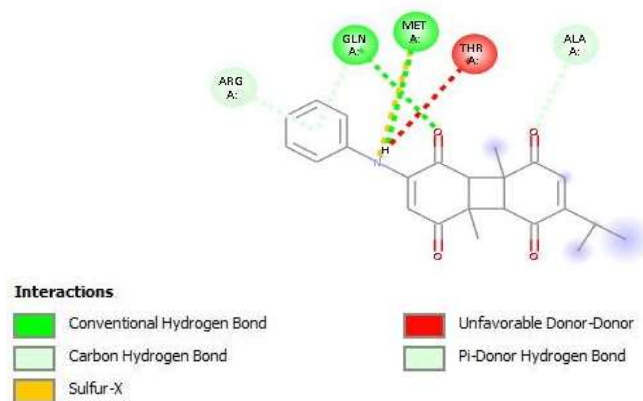
Senyawa DTQ08 menunjukkan kemampuan membentuk beberapa interaksi hidrogen dengan residu yang berada di sekitar sisi aktif protein. Berdasarkan visualisasi dua dimensi Discovery Studio (Gambar 4.1), DTQ08 membentuk *conventional hydrogen bond* dengan residu GLN dan MET, serta interaksi Sulfur-X dengan residu Met. Selain itu, terdapat *carbon hydrogen bond* dengan residu ARG dan ALA, serta π -donor *hydrogen bond* dengan residu ARG. Kombinasi interaksi tersebut menunjukkan bahwa substituen aminofenil pada DTQ08 mampu meningkatkan kontak polar dengan protein sehingga membantu mempertahankan orientasi ligan di dalam kantung pengikatan. Namun demikian, pada DTQ08 juga teridentifikasi adanya *unfavorable donor-donor interaction* dengan residu THR, yang mengindikasikan adanya orientasi donor hidrogen yang kurang menguntungkan. Meskipun demikian, keberadaan beberapa ikatan hidrogen konvensional diperkirakan masih mampu mempertahankan kestabilan kompleks protein-ligan secara keseluruhan.

Berbeda dengan DTQ08, senyawa DTQ10 memperlihatkan pola interaksi hidrogen yang lebih ekstensif (Gambar 4.2). Gugus karboksilat pada substituen aminokarboksifenil membentuk dua *conventional hydrogen bond* dengan residu ARG, sedangkan gugus karbonil pada kerangka dithymoquinone membentuk *conventional hydrogen bond* dengan residu GLY. Selain itu, DTQ10 juga membentuk *carbon hydrogen bond* dengan residu ARG serta π -donor *hydrogen bond* dengan residu Pro. Jumlah ikatan hidrogen yang lebih banyak menunjukkan bahwa penambahan gugus karboksilat mampu meningkatkan kemampuan ligan dalam berinteraksi dengan residu polar pada sisi aktif protein. Banyaknya interaksi polar tersebut diperkirakan berkontribusi terhadap

peningkatan stabilitas kompleks dan mendukung afinitas pengikatan yang lebih baik dibandingkan senyawa yang memiliki jumlah ikatan hidrogen lebih sedikit.

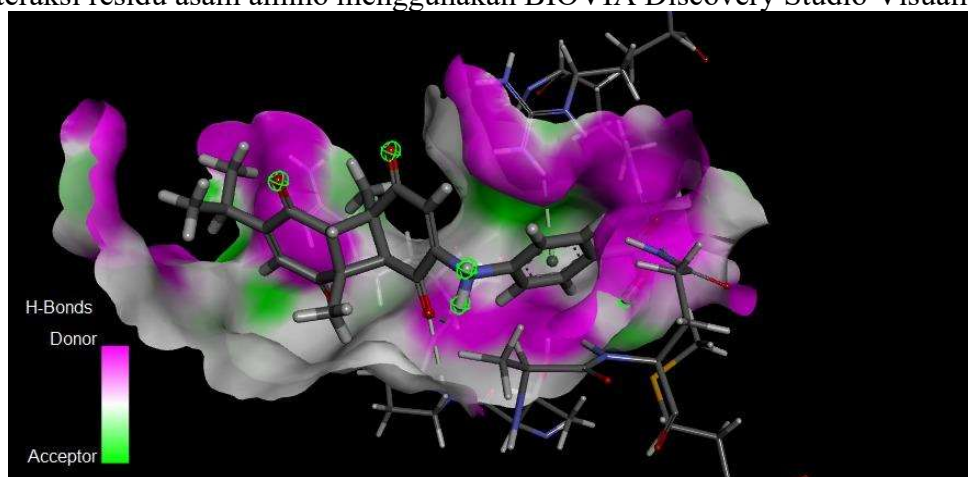


(a)

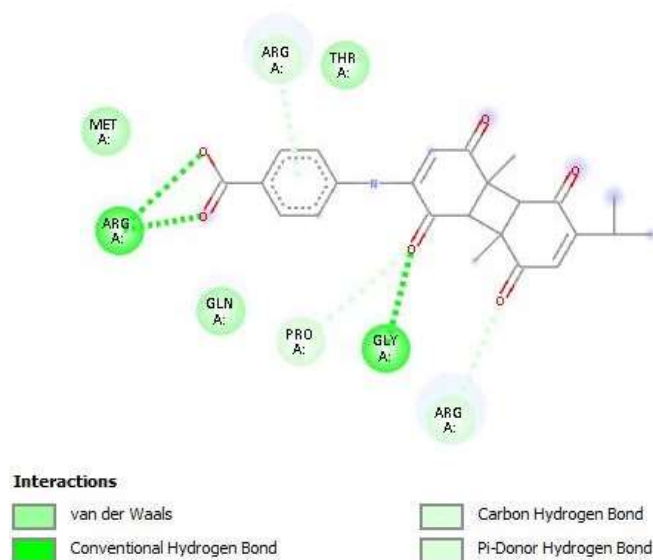


(b)

Gambar 4.1 Visualisasi kompleks dan interaksi molekuler senyawa DTQ08 terhadap protein nukleokapsid Sin Nombre virus (PDB ID: 5E05): (a) visualisasi tiga dimensi interaksi ikatan hidrogen pada kantung pengikatan protein; (b) visualisasi dua dimensi interaksi residu asam amino menggunakan BIOVIA Discovery Studio Visualizer.



(a)



(b)

Gambar 4.2 Visualisasi kompleks dan interaksi molekuler senyawa DTQ10 terhadap protein nukleokapsid *Sin Nombre virus* (PDB ID: 5E05): (a) visualisasi tiga dimensi interaksi ikatan hidrogen pada kantung pengikatan protein; (b) visualisasi dua dimensi interaksi residu asam amino menggunakan BIOVIA Discovery Studio Visualizer.

Selain interaksi hidrogen, kestabilan kompleks protein-ligan juga dipengaruhi oleh interaksi hidrofobik yang terjadi di dalam kantung pengikatan. Visualisasi tiga dimensi menunjukkan bahwa baik DTQ08 maupun DTQ10 menempati rongga pengikatan secara optimal sehingga memungkinkan terbentuknya kontak hidrofobik antara kerangka aromatik ligan dengan residu di sekitarnya. Interaksi ini bekerja melalui mekanisme *hydrophobic packing*, yaitu pengisian rongga hidrofobik protein oleh gugus aromatik ligan sehingga mengurangi keberadaan molekul air di dalam *binding pocket* dan meningkatkan kestabilan kompleks.

Pada DTQ08, cincin aromatik aminofenil berkontribusi terhadap pembentukan kontak hidrofobik dengan residu di sekitar sisi aktif yang didukung oleh interaksi van der Waals dan *carbon hydrogen bond*. Sementara itu, DTQ10 memperlihatkan kontak hidrofobik yang lebih luas karena keberadaan substituen aminokarboksifenil tidak hanya mempertahankan gugus aromatik, tetapi juga menambahkan gugus karboksilat yang memungkinkan terbentuknya interaksi polar tambahan tanpa mengurangi kemampuan ligan mengisi kantung pengikatan. Kombinasi antara interaksi hidrogen, interaksi hidrofobik, serta kontak van der Waals pada DTQ10 diperkirakan menghasilkan kompleks yang lebih stabil dibandingkan DTQ08, sehingga modifikasi struktur melalui penambahan gugus aminokarboksifenil berpotensi meningkatkan kemampuan penghambatan terhadap protein nukleokapsid *Sin Nombre virus*.

5. KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil analisis *molecular docking* terhadap tiga belas senyawa turunan dithymoquinone (DTQ) sebagai kandidat inhibitor protein nukleokapsid *Sin Nombre Virus* (PDB ID: 5E05), dapat disimpulkan bahwa modifikasi struktur pada posisi R1 dan R2 mampu meningkatkan afinitas pengikatan senyawa terhadap protein target dibandingkan senyawa induk DTQ00. DTQ10 (dengan substituen -NH-C₆H₄-COOH) memiliki *grid score* total terbaik (-55,14 kkal/mol) yang didukung oleh ukuran molekul lebih besar dan berat molekul lebih tinggi, sehingga meningkatkan interaksi van der

Waals di dalam kantung pengikatan. Sementara itu, DTQ08 (dengan substituen -NH-C₆H₅) menunjukkan *grid electrostatic* terbaik (-5,61 kkal/mol) dengan *grid score* total yang kompetitif (-49,96 kkal/mol), menjadikannya kandidat unggul karena kemampuannya membentuk jaringan ikatan hidrogen yang ekstensif dengan residu THR 70, GLN 72, dan GLY 83. Analisis interaksi molekuler menunjukkan bahwa kedua senyawa membentuk ikatan hidrogen dan interaksi hidrofobik yang berkontribusi terhadap stabilitas kompleks protein-ligan, dengan DTQ10 menunjukkan interaksi polar yang lebih luas karena keberadaan gugus karboksilat. Dengan demikian, turunan DTQ, khususnya DTQ08 dan DTQ10, berpotensi dikembangkan sebagai kandidat inhibitor protein nukleokapsid *Sin Nombre Virus*.

Penelitian ini masih terbatas pada pendekatan komputasi sehingga diperlukan validasi lebih lanjut melalui uji *in vitro* dan *in vivo* untuk mengonfirmasi aktivitas biologis dan keamanan senyawa. Penelitian lanjutan juga dapat dilakukan dengan simulasi dinamika molekuler untuk mengevaluasi stabilitas kompleks protein-ligan dalam kondisi fisiologis serta uji sitotoksitas untuk menilai keamanan senyawa terhadap sel inang. Selain itu, eksplorasi turunan lain dengan variasi substituen yang lebih beragam dapat dilakukan untuk mengidentifikasi kandidat dengan afinitas dan selektivitas yang lebih baik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Program Studi Rekayasa Nanoteknologi, Fakultas Teknologi Maju dan Multidisiplin, Universitas Airlangga atas dukungan akademik yang diberikan selama proses penyusunan artikel ini. Penulis juga menyampaikan apresiasi kepada dosen pembimbing, rekan peneliti, serta berbagai pihak yang telah memberikan masukan dan dukungan sehingga penelitian ini dapat diselesaikan dengan baik. Artikel ini disusun sebagai bagian dari pengembangan penelitian di bidang bioinformatika dan penemuan kandidat antivirus berbasis senyawa alam melalui pendekatan komputasi *in silico*.

DAFTAR REFERENSI

- Afzal, S., Ali, L., Batool, A., Afzal, M., Kanwal, N., Hassan, M., Safdar, M., Ahmad, A., & Yang, J. (2023). Hantavirus: An overview and advancements in therapeutic approaches for infection. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1233433. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1233433>
- Agamah, F. E., Mazandu, G. K., Hassan, R., Bope, C. D., Thomford, N. E., Ghansah, A., & Chimusa, E. R. (2020). Computational/in silico methods in drug target and lead prediction. *Briefings in Bioinformatics*, 21(5), 1663–1675. <https://doi.org/10.1093/bib/bbz103>
- Agnihotry, S., Pathak, R. K., Srivastav, A., Shukla, P. K., & Gautam, B. (2020). Molecular Docking and Structure-Based Drug Design. In D. B. Singh (Ed.), *Computer-Aided Drug Design* (pp. 115–131). Springer Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-15-6815-2_6
- Ahmad, A., Husain, A., Mujeeb, M., Khan, S. A., Najmi, A. K., Siddique, N. A., Damanhour, Z. A., & Anwar, F. (2013). A review on therapeutic potential of *Nigella sativa*: A miracle herb. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3(5), 337–352. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(13\)60075-1](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(13)60075-1)
- Ahmed, Z., Farzana, B., & Kazi, M. (2026). In silico investigation of therapeutic activities of biochemical constituents found in *nigella sativa* against *Sin nombre virus*: A nucleocapsid

- inhibition approach. *In Silico Research in Biomedicine*, 2, 100301. <https://doi.org/10.1016/j.insr.2026.100301>
- Boudko, S. P., Kuhn, R. J., & Rossmann, M. G. (2007). The Coiled-coil Domain Structure of the Sin Nombre Virus Nucleocapsid Protein. *Journal of Molecular Biology*, 366(5), 1538–1544. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2006.12.046>
- Brocato, R. L., & Hooper, J. W. (2019). Progress on the Prevention and Treatment of Hantavirus Disease. *Viruses*, 11(7), 610. <https://doi.org/10.3390/v11070610>
- Cyril, A. C., Ali, N. M., Nellyyulla Parambath, A., Vazhappilly, C. G., Jan, R. K., Karuvantevida, N., Aburamadan, H., Lozon, Y., & Radhakrishnan, R. (2024). Nigella sativa and its chemical constituents: Pre-clinical and clinical evidence for their potential anti-SARS-CoV-2 effects. *Inflammopharmacology*, 32(1), 273–285. <https://doi.org/10.1007/s10787-023-01385-9>
- Dos Santos, R. N., Ferreira, L. G., & Andricopulo, A. D. (2018). Practices in Molecular Docking and Structure-Based Virtual Screening. In M. Gore & U. B. Jagtap (Eds.), *Computational Drug Discovery and Design* (Vol. 1762, pp. 31–50). Springer New York. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7756-7_3
- Echterdiek, F., Kitterer, D., Alscher, M. D., Schwenger, V., Ruckebrod, B., Bald, M., & Latus, J. (2019). Clinical course of hantavirus-induced nephropathia epidemica in children compared to adults in Germany—Analysis of 317 patients. *Pediatric Nephrology*, 34(7), 1247–1252. <https://doi.org/10.1007/s00467-019-04215-9>
- Gray, J. P., Zayasbaza Burgos, D., Yuan, T., Seeram, N., Rebar, R., Follmer, R., & Heart, E. A. (2016). Thymoquinone, a bioactive component of *Nigella sativa*, normalizes insulin secretion from pancreatic β -cells under glucose overload via regulation of malonyl-CoA. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 310(6), E394–E404. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00250.2015>
- Kuhn, J. H., & Schmaljohn, C. S. (2023). A Brief History of Bunyaviral Family Hantaviridae. *Diseases*, 11(1), 38. <https://doi.org/10.3390/diseases11010038>
- Lee, A., Lee, K., & Kim, D. (2016). Using reverse docking for target identification and its applications for drug discovery. *Expert Opinion on Drug Discovery*, 11(7), 707–715. <https://doi.org/10.1080/17460441.2016.1190706>
- Levine, J. R., Prescott, J., Brown, K. S., Best, S. M., Ebihara, H., & Feldmann, H. (2010). Antagonism of Type I Interferon Responses by New World Hantaviruses. *Journal of Virology*, 84(22), 11790–11801. <https://doi.org/10.1128/JVI.00916-10>
- Liu, R., Ma, H., Shu, J., Zhang, Q., Han, M., Liu, Z., Jin, X., Zhang, F., & Wu, X. (2020). Vaccines and Therapeutics Against Hantaviruses. *Frontiers in Microbiology*, 10, 2989. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02989>
- Lukman, N., Kosasih, H., Ibrahim, I. N., Pradana, A. A., Neal, A., & Karyana, M. (2019). A Review of Hantavirus Research in Indonesia: Prevalence in Humans and Rodents, and the Discovery of Serang Virus. *Viruses*, 11(8), 698. <https://doi.org/10.3390/v11080698>
- Meng, X.-Y., Zhang, H.-X., Mezei, M., & Cui, M. (2011). Molecular Docking: A Powerful Approach for Structure-Based Drug Discovery. *Current Computer Aided-Drug Design*, 7(2), 146–157. <https://doi.org/10.2174/157340911795677602>
- Pinzi, L., & Rastelli, G. (2019). Molecular Docking: Shifting Paradigms in Drug Discovery. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(18), 4331. <https://doi.org/10.3390/ijms20184331>
- Roney, M., Dubey, A., Nasir, M. H., Huq, A. M., Tufail, A., Tajuddin, S. N., Zamri, N. B., & Mohd Aluwi, M. F. F. (2024). Computational evaluation of quinones of *Nigella sativa* L. as potential inhibitor of dengue virus NS5 methyltransferase. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 42(16), 8701–8711. <https://doi.org/10.1080/07391102.2023.2248262>

- Roney, M., & Mohd Aluwi, M. F. F. (2024). Computational studies demonstrating dithymoquinone of *Nigella sativa* as a potential anti-dengue agent: Short review. *Intelligent Pharmacy*, 2(3), 335–338. <https://doi.org/10.1016/j.ipha.2024.02.006>
- Safronetz, D., Falzarano, D., Scott, D. P., Furuta, Y., Feldmann, H., & Gowen, B. B. (2013). Antiviral Efficacy of Favipiravir against Two Prominent Etiological Agents of Hantavirus Pulmonary Syndrome. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 57(10), 4673–4680. <https://doi.org/10.1128/AAC.00886-13>
- Sass, P. (Ed.). (2017). *Antibiotics: Methods and Protocols* (Vol. 1520). Springer New York. <https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6634-9>
- Sethi, A., Joshi, K., Sasikala, K., & Alvala, M. (2020). Molecular Docking in Modern Drug Discovery: Principles and Recent Applications. In V. Gaitonde, P. Karmakar, & A. Trivedi (Eds.), *Drug Discovery and Development—New Advances*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.85991>
- Shrivastava, N., Sharma, B., & Husain, A. (2025). THYMOQUINONE DERIVATIVES AS POTENTIAL ANTICANCER AGENTS: A REVIEW. *J. Chil. Chem. Soc.*
- Shrivastava-Ranjan, P., Lo, M. K., Chatterjee, P., Flint, M., Nichol, S. T., Montgomery, J. M., O'Keefe, B. R., & Spiropoulou, C. F. (2020). Hantavirus Infection Is Inhibited by Griffithsin in Cell Culture. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 10, 561502. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.561502>
- Siddiqui, S., Upadhyay, S., Ahmad, R., Gupta, A., Srivastava, A., Trivedi, A., Husain, I., Ahmad, B., Ahamed, M., & Khan, M. A. (2022). Virtual screening of phytoconstituents from miracle herb *nigella sativa* targeting nucleocapsid protein and papain-like protease of SARS-CoV-2 for COVID-19 treatment. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 40(9), 3928–3948. <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1852117>
- Subhaswaraj, P., & Siddhardha, B. (2022). Molecular docking and molecular dynamic simulation approaches for drug development and repurposing of drugs for severe acute respiratory syndrome-Coronavirus-2. In *Computational Approaches for Novel Therapeutic and Diagnostic Designing to Mitigate SARS-CoV-2 Infection* (pp. 207–246). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-91172-6.00007-8>
- Tan, Y. S., Chakrabarti, M., Stein, R. M., Prentis, L. E., Rizzo, R. C., Kurtzman, T., Fischer, M., & Balias, T. E. (2025). Development of Receptor Desolvation Scoring and Covalent Sampling in DOCK 6: Methods Evaluated on a RAS Test Set. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 65(2), 722–748. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.4c01623>
- Wu, N., Zhang, R., Peng, X., Fang, L., Chen, K., & Jestilä, J. S. (2024). Elucidation of protein–ligand interactions by multiple trajectory analysis methods. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 26(8), 6903–6915. <https://doi.org/10.1039/D3CP03492E>
- Yang, Y., Zhu, Z., Wang, X., Zhang, X., Mu, K., Shi, Y., Peng, C., Xu, Z., & Zhu, W. (2021). Ligand-based approach for predicting drug targets and for virtual screening against COVID-19. *Briefings in Bioinformatics*, 22(2), 1053–1064. <https://doi.org/10.1093/bib/bbaa422>
- Zhao, J., Cao, Y., & Zhang, L. (2020). Exploring the computational methods for protein-ligand binding site prediction. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 18, 417–426. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2020.02.008>