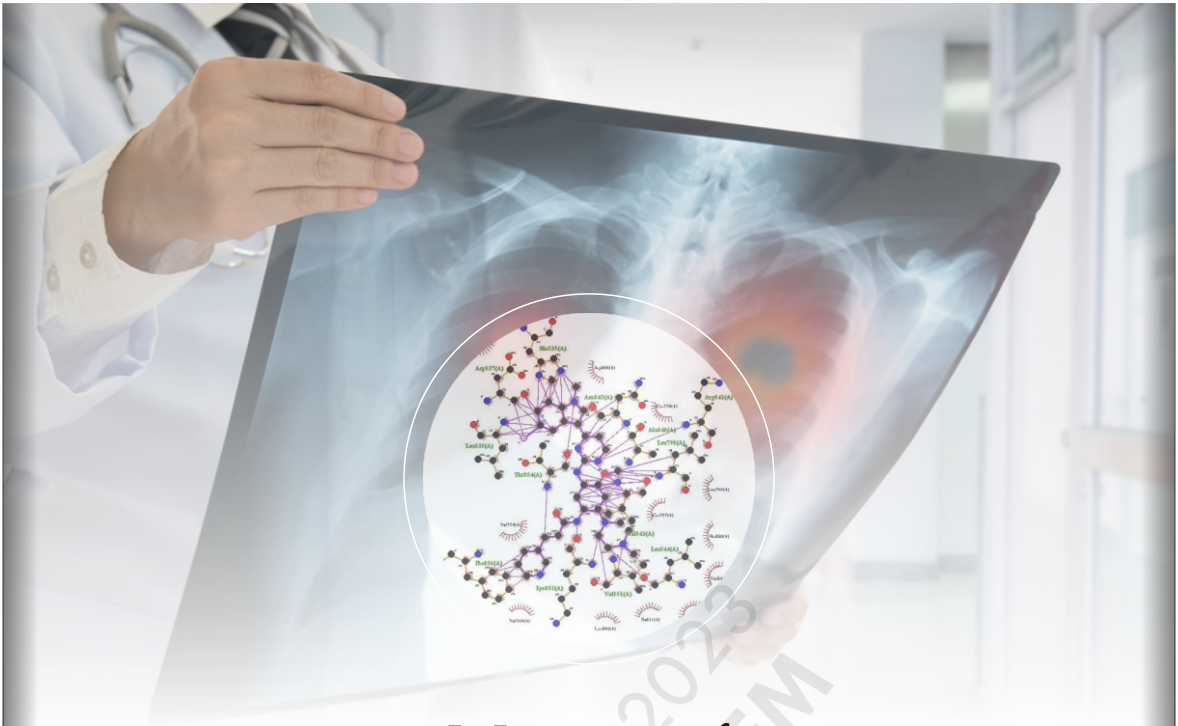




Monograf

Virtual Screening Derivat Osimertinib Terhalogenenasi sebagai Kandidat Inhibitor EGFR Bermutasi pada Kanker Paru Tipe NSCLC



apt. Nurmaya Effendi, S.Si., M.Sc., Ph.D.
Anil Aryandi, S.Farm.
Aminah, S.Farm., M.Sc.



**Virtual Screening Derivat Osimertinib Terhalogenasi
sebagai Kandidat Inhibitor EGFR Bermutasi
pada Kanker Paru Tipe NSCLC**

KUTIPAN PASAL 72:
Ketentuan Pidana Undang-Undang Republik
Indonesia
Nomor 19 Tahun 2002 tentang HAK CIPTA

1. Barang siapa dengan sengaja dan tanpa hak melakukan perbuatan sebagaimana dimaksud dalam Pasal 2 ayat (1) atau Pasal 49 ayat (1) dan ayat (2) dipidana dengan pidana penjara masing-masing paling singkat 1 (satu) bulan dan/atau denda paling sedikit Rp1.000.000,00 (satu juta rupiah), atau pidana penjara paling lama 7 (tujuh) tahun dan/atau denda paling banyak Rp5.000.000.000,00 (lima miliar rupiah).
2. Barang siapa dengan sengaja menyiarkan, memamerkan, mengedarkan, atau menjual kepada umum suatu Ciptaan atau barang hasil pelanggaran Hak Cipta atau Hak Terkait sebagaimana dimaksud dalam ayat 1, dipidana dengan pidana penjara paling lama 5 (lima) tahun dan/atau denda paling banyak Rp500.000.000,00 (lima ratus juta rupiah).

apt. Nurmaya Effendi, S.Si., M.Sc., Ph.D.
Anil Aryandi, S.Farm.
Aminah, S.Farm., M.Sc.

Virtual Screening Derivat Osimertinib Terhalogenasi sebagai Kandidat Inhibitor EGFR Bermutasi pada Kanker Paru Tipe NSCLC



Pekalongan - Indonesia

Virtual Screening Derivat Osimertinib Terhalogenasi sebagai Kandidat Inhibitor EGFR Bermutasi pada Kanker Paru Tipe NSCLC

Copyright © 2023

Penulis:

apt. Nurmaya Effendi, S.Si., M.Sc., Ph.D.
Anil Aryandi, S.Farm.
Aminah, S.Farm., M.Sc.

Editor:

Moh. Nasrudin
(SK BNSP: No. Reg. KOM.1446.01749 2019)

Setting Lay-out & Cover:

Tim Redaksi

Diterbitkan oleh:

PT Nasya Expanding Management
(Penerbit NEM - Anggota IKAPI)

Jl. Raya Wangandowo, Bojong
Pekalongan, Jawa Tengah 51156
Telp. (0285) 435833, Mobile: 0853-2521-7257
www.penerbitnem.com / penerbitnem@gmail.com

Hak Cipta dilindungi oleh Undang-Undang.
Dilarang memperbanyak sebagian
atau seluruh isi buku ini tanpa izin tertulis dari Penerbit

Cetakan ke-1, April 2023

ISBN: 978-623-423-766-5

Terima kasih kepada
DRTPM Kemenristek DIKTI

Melalui Hibah
Penelitian Dasar Kompetitif Nasional (PDKN)
(SK No. 023.17.1.690523/2022,
yang diturunkan pada nomor kontrak:
033/E5/PG.02.00/2022;
253/LL.00.PG/2022;
2324d/B.07/UMI/VII/2022)

Prakata

Segala puji bagi Allah Swt. karena atas berkah rahmat dan hidayah-Nyalah sehingga kami penulis dapat menyelesaikan buku ini. Salawat serta salam atas junjungan kami Nabi Muhammad saw., semoga kita semua mendapatkan syafaat beliau di hari akhir.

Buku berjudul **“Virtual Screening Derivat Osimertinib Terhalogenasi sebagai Kandidat Inhibitor EGFR Bermutasi pada Kanker Paru Tipe NSCLC”** ini menyajikan metode eksplorasi kandidat inhibitor *Epidermal Growth Factor Receptor* (EGFR) bermutasi, derivat Osimertinib terhalogenasi, menggunakan pendekatan komputasi yang dikenal dengan istilah *in silico*. Osimertinib merupakan inhibitor tirosin kinase yang telah mendapatkan *approval* dari FDA (*Food and Drug Administration*) sebagai lembaga resmi di Amerika Serikat sejak tahun 2017 dengan nama dagang TAGRISSO® untuk pengobatan kanker paru tipe NSCLC dengan metastasis EGFR dengan jenis mutasi T790M.

Buku ini tersaji dalam lima bab, yaitu pendahuluan yang terurai pada bab 1, uraian tentang *Molekular Docking* dalam *Drug Discovery* dapat dibaca secara detail pada bab 2, diikuti bab 3 yang membahas *Molecular Docking* Derivat Osimertinib Terhalogenasi, sedangkan di bab 4 kami mengurai tentang *Molecular Docking* Derivat Osimertinib Terhalogenasi sebagai Kandidat Inhibitor EGFR Bermutasi L858R/T790M, dan ditutup di bab 5 dengan penutup. Dengan diterbitkannya buku

monograf ini diharapkan dapat menjadi motivasi positif bagi mahasiswa, dosen, maupun insan peneliti Indonesia dalam mengembangkan senyawa-senyawa kandidat melalui pendekatan *in silico* agen diagnosa dan terapi penyakit kanker paru dalam rangka membantu program pemerintah mewujudkan kemandirian industri obat dan alat kesehatan di Indonesia.

Semoga buku monograf ini bermanfaat bagi perkembangan riset dan teknologi dalam rangka penemuan obat baru (*drug discovery*) menargetkan EGFR bermutasi pada Kanker Paru tipe NSCLC dan dapat bermanfaat buat kemaslahatan kita semua. Demi kesempurnaan buku monograf ini ke depannya, maka penulis tetap mengharapkan kritik dan saran yang membangun demi kesempurnaan penulisan buku monograf ini. **Selamat Membaca.**

Makassar, April 2023

Penulis

Daftar Isi

PRAKATA __ vi

DAFTAR ISI __ vii

DAFTAR GAMBAR __ ix

DAFTAR TABEL __ xii

BAB 1 PENDAHULUAN __ 1

BAB 2 *MOLECULAR DOCKING* DALAM *DRUG DISCOVERY* __ 5

- A. Studi *In Silico* dan *Molecular Docking* __ 5
- B. Prediksi Adsorpsi, Distribusi, Metabolisme, Eksresi, dan Toksisitas (ADME-T) __ 6
- C. *Epidermal Growth Factor Receptor* (EGFR) __ 8
- D. Kanker Paru __ 8
- E. Osimertinib __ 11

BAB 3 *MOLECULAR DOCKING* DERIVAT OSIMERTINIB TERHALOGENASI __ 14

BAB 4 *MOLECULAR DOCKING* DERIVAT OSIMERTINIB TERHALOGENASI SEBAGAI KANDIDAT INHIBITOR EGFR BERMUTASI L858R/T790M __ 20

BAB 5 PENUTUP __ 53

DAFTAR PUSTAKA __ 56
TENTANG PENULIS

Daftar Gambar

Nomor	Judul Gambar	Hal.
Gambar 2.1	Struktur Osimertinib	12
Gambar 3.1	Struktur 3D Reseptor EGFR L858R/T790M (PDB ID 5EDR)	15
Gambar 4.1	<i>Overlay</i> Posisi Ligan Hasil Validasi dengan Ligan Alami	23
Gambar 4.2	Visualisasi 2D Interaksi Reseptor EGFR Mutasi L858R/T790M dengan Ligan Alami , <i>N</i> -[7,7-Dimethyl-2-(1-methyl-1 <i>H</i> -pyrazol-5-yl)-5 <i>H</i> ,7 <i>H</i> -furo[3,4- <i>d</i>]pyrimidin-4-yl]-1 <i>H</i> -indazol-3-amine	30
Gambar 4.3	Visualisasi 2D Interaksi Reseptor EGFR Mutasi L858R/T790M dengan Ligan Osimertinib	31
Gambar 4.4	Visualisasi 2D Interaksi Reseptor EGFR Mutasi L858R/T790M dengan Ligan 1 , <i>N</i> -(2-([2-(Dimethylamino)ethyl](methyl)amino)-5-([4-(5-fluoro-1-methyl-1 <i>H</i> -indol-3-yl)pyrimidin-2-yl]amino)-4-methoxyphenyl)prop-2-enamide	32
Gambar 4.5	Visualisasi 2D Interaksi Reseptor EGFR Mutasi L858R/T790M dengan Ligan 2 , <i>N</i> -(5-([4-(5-Bromo-1-methyl-	33

	1H-indol-3-yl)pyrimidin-2-yl]amino}-2-[[2-(dimethylamino)ethyl](methyl)amino]-4-methoxyphenyl)prop-2-enamide	
Gambar 4.6	Visualisasi 2D Interaksi Reseptor EGFR Mutasi L858R/T790M dengan Ligan 3 , N-(2-[[2-(Dimethylamino)ethyl](methyl)amino]-5-[[4-(5-iodo-1-methyl-1H-indol-3-yl)pyrimidin-2-yl]amino]-4-methoxyphenyl)prop-2-enamide	34
Gambar 4.7	Visualisasi 2D Interaksi Reseptor EGFR Mutasi L858R/T790M dengan Ligan 4 , (2E)-N-(2-[[2-(Dimethylamino)ethyl](methyl)amino]-5-[[4-(5-fluoro-1-methyl-1H-indol-3-yl)pyrimidin-2-yl]amino]-4-methoxyphenyl)-3-(pyridin-3-yl)prop-2-enamide	35
Gambar 4.8	Visualisasi 2D Interaksi Reseptor EGFR Mutasi L858R/T790M dengan Ligan 5 , (2E)-N-(5-[[4-(5-Bromo-1-methyl-1H-indol-3-yl)pyrimidin-2-yl]amino]-2-[[2-(dimethylamino)ethyl](methyl)amino]-4-methoxyphenyl)-3-(pyridin-3-yl)prop-2-enamide	36
Gambar 4.9	Visualisasi 2D Interaksi Reseptor EGFR Mutasi L858R/T790M dengan Ligan 6 , (2E)-N-(2-[[2-	37

	(Dimethylamino)ethyl](methyl)amino}-5-{{4-(5-iodo-1-methyl-1 <i>H</i> -indol-3-yl)pyrimidin-2-yl]amino}-4-methoxyphenyl)-3-(pyridin-3-yl)prop-2-enamide	
Gambar 4.10	Visualisasi 2D Interaksi Reseptor EGFR Mutasi L858R/T790M dengan Ligan 7 , 2-[(2-{{2-(Dimethylamino)ethyl](methyl)amino}-5-{{4-(5-fluoro-1-methyl-1 <i>H</i> -indol-3-yl)pyrimidin-2-yl]amino}-4-methoxyphenyl)carbamoyl]ethyl prop-2-enoate	38
Gambar 4.11	Visualisasi 2D Interaksi Reseptor EGFR Mutasi L858R/T790M dengan Ligan 8 , 2-[(5-{{4-(5-Bromo-1-methyl-1 <i>H</i> -indol-3-yl)pyrimidin-2-yl]amino}-2-{{2-(dimethylamino)ethyl](methyl)amino}-4-methoxyphenyl)carbamoyl]ethyl prop-2-enoate	39
Gambar 4.12	Visualisasi 2D Interaksi Reseptor EGFR Mutasi L858R/T790M dengan Ligan 9 , 2-[(2-{{2-(Dimethylamino)ethyl](methyl)amino}-5-{{4-(5-iodo-1-methyl-1 <i>H</i> -indol-3-yl)pyrimidin-2-yl]amino}-4-methoxyphenyl)carbamoyl]ethyl prop-2-enoate	40

Daftar Tabel

Nomor	Judul Tabel	Hal.
Tabel 3.1	Ligan Uji Osimertinib dan Derivat Osimertinib Terhalogenasi	15
Tabel 4.1	Hasil Validasi Metode Docking dengan <i>Software</i> YASARA	22
Tabel 4.2	Hasil Simulasi <i>Molecular Docking</i> Dengan <i>Software</i> PLANTS	24
Tabel 4.3	Interaksi Ligan dengan Asam Amino EGFR Menggunakan Ligplot	25
Tabel 4.4	Prediksi Sifat Fisikokimia Derivat Osimertinib (<i>pkCSM Online Tools</i>)	42
Tabel 4.5	Prediksi Sifat Fisikokimia Derivat Osimertinib (<i>SwissADME Online Tools</i>)	43
Tabel 4.6	Hasil Analisis Profil Absorpsi (<i>pkCSM Online Tools</i>)	44
Tabel 4.7	Hasil Analisis Profil Absorpsi (<i>SwissADME Online Tools</i>)	45
Tabel 4.8	Hasil Analisis Profil Distribusi (<i>pkCSM dan SwissADME Online Tools</i>)	46
Tabel 4.9	Hasil Analisis Metabolisme Ligan Uji (<i>pkCSM dan SwissADME Online Tools</i>)	48
Tabel 4.10	Hasil Analisis Profil Ekskresi (<i>pkCSM Online Tools</i>)	49

Tabel 4.11	Prediksi Toksisitas Ligan Uji (<i>pkCSM Online Tools</i>)	51
------------	---	----

Copyright © 2023
PENERBIT NEM

Bab 1

PENDAHULUAN

Kanker paru merupakan penyakit kanker yang menyerang pria maupun wanita di seluruh dunia dengan angka kematian cukup tinggi. Pada tahun 2020, tingkat kematian akibat kanker paru mencapai 11,4% dari semua kematian terkait kanker (Siegel et al., 2020; Sung et al., 2021). Beberapa penyebabnya adalah terbatasnya kapasitas deteksi dini di layanan kesehatan primer, masih rendahnya akses pasien terhadap pengobatan yang spesifik sesuai tipe kanker paru dan keterbatasan akses ke pemeriksaan biomarker kanker paru (Dewi et al., 2021). Kanker paru biasanya tidak memiliki gejala yang spesifik, hal ini menjadi salah satu penyebab buruknya prognosis kanker paru ini. Pengobatan kanker paru stadium lanjut biasanya hanya bertujuan untuk meringankan gejala atau sakit yang diderita pasien tanpa mampu memperpanjang kelangsungan hidup mereka sehingga tingkat kelangsungan hidup mereka hanya sebesar 19% (Sung et al., 2021). Sementara studi menunjukkan bahwa penegakan diagnosa kanker paru stadium awal mampu meningkatkan kelangsungan hidup pasien (Alexander et al., 2020). Sehingga perlu dikembangkan metode dan atau agen diagnosa baru yang dapat digunakan untuk penegakan diagnosa kanker paru pada stadium awal sekaligus mengembangkan sistem pengobatannya yang dapat berkontribusi dalam mewujudkan pelaksanaan *personalized*

medicine sehingga dapat menurunkan angka kematian sekaligus meningkatkan *survival rate* pasien kanker paru di Indonesia khususnya dan dunia umumnya.

Mutasi gen yang melibatkan perubahan urutan kromosom pada *Epidermal Growth Factor Receptor* (EGFR) terdeteksi dalam beberapa kasus kanker paru yang mempengaruhi transmisi sinyal pertumbuhan sel sehingga proliferasi sel menjadi tidak terkendali (Wulandari et al., 2021). EGFR merupakan reseptor yang diekspresikan secara berlebih pada kanker paru tipe *Non Small Cell Lung Cancer* (NSCLC). Inhibitor EGFR (EGFR TKIs) generasi pertama (gefitinib dan erlotinib) banyak diresepkan oleh dokter untuk pasien kanker paru. Obat ini hanya efektif pada awal pengobatan kanker paru, namun selanjutnya akan menimbulkan resistensi setelah pengobatan selama 10 - 14 bulan diakibatkan oleh mutasi EGFR. EGFR inhibitor generasi kedua yaitu afatinib, neratinib, dan dacomitinib mampu mengatasi resistensi akibat mutasi EGFR *wild type*. Namun, model resistensi lain dari EGFR kembali ditemukan setelah pengobatan jangka panjang NSCLC menggunakan inhibitor EGFR generasi kedua, yaitu mutasi T790M yang terjadi pada 50-60% kasus pasien kanker paru. Mutasi ini memperparah efek samping akibat penggunaan obat-obat EGFR inhibitor generasi kedua (Effendi et al., 2022).

Osimertinib, EGFR-TKI generasi ketiga paling sukses untuk pengobatan lokal NSCLC stadium lanjut atau metastatik lokal dengan mutasi EGFR T790M. Osimertinib secara ireversibel berikatan dengan Cys797 dalam domain EGFR kinase dan memiliki aktivitas antitumor yang kuat dibandingkan dengan TKI EGFR lainnya (Du et al., 2021).

Pemodelan molekul untuk mendesain obat menggunakan *in silico* dengan bantuan komputer memiliki keunggulan yaitu tidak mahal dan hasilnya dapat diperoleh dengan cepat. Salah satu metode *in silico* yang digunakan yaitu *molecular docking* yang dapat menggambarkan stabilitas kompleks ligan (molekul kandidat obat) dengan reseptor target melalui beberapa konformasi dan orientasi kompleks. beberapa alat *docking molekul* yang tersedia termasuk ArgusDock, DOCK, FRED, eHITS, AutoDock dan FTDock (Wadood et al., 2013). Perubahan struktur ligan dapat mempengaruhi sifat fisikokimianya seperti lipofilik, elektronik, dan sterik. Sifat fisika kimia ini juga akan menyebabkan perubahan aktivitas biologis dari ligan tersebut (Kesuma et al., 2018). Selanjutnya dengan beberapa *software* online yang dapat diakses secara gratis dapat digunakan untuk memprediksi profil absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi, dan toksisitas (ADME-T) pemodelan molekul tersebut sebagai kandidat obat ketika masuk ke dalam tubuh (Adianingsih et al., 2022).

Karena seringnya ditemukannya kasus mutasi akibat penggunaan EGFR TKI jangka panjang sehingga dirasa perlu dilakukan eksplorasi kandidat ligan baru yang dimanfaatkan sebagai agen diagnosa atau terapi kanker paru NSCLC dengan status mutasi EGFR. Tujuan riset yang dipaparkan dalam monograf ini adalah untuk mendesain dan menginvestigasi interaksi molekular desain analog Osimertinib terhalogenasi dengan molekular target EGFR mutasi L858R/T790M menggunakan pendekatan *in silico* dengan *software* PLANTS beserta memprediksi sifat farmakokinetik dan toksisitas desain analog Osimertinib

terhalogenasi tersebut, yaitu absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi, dan toksisitasnya (ADME-T) ketika kandidat obat tersebut masuk ke dalam tubuh.

Rumusan masalah kajian dalam monograf ini di antaranya: bagaimana afinitas dan molekular interaksi desain analog Osimertinib terhalogenasi dengan EGFR mutasi L858R/T790M menggunakan pendekatan *in silico* dengan *software* PLANTS dan bagaimana prediksi sifat sifat farmakokinetik dan toksisitas (ADME-T) desain analog Osimertinib terhalogenasi tersebut ketika kandidat obat tersebut masuk ke dalam tubuh.

~oOo~

Bab 2
**MOLECULAR DOCKING
DALAM DRUG DISCOVERY**

A. Studi *In Silico* dan Molecular Docking

Kimia komputasi merupakan cabang ilmu kimia yang menggunakan hasil kimia teori, yang kemudian diubah menjadi program komputer untuk menghitung sifat molekul dan perubahannya mensimulasikan sistem besar seperti makromolekul (protein dan asam nukleat), sistem besar struktur molekul dan perubahannya, seperti proses denaturasi protein dan perubahan fase, kajian dan evaluasi sifat makroskopik seperti panas spesifik perilaku atom dan molekul. Struktur senyawa yang diperoleh dapat berupa gambar struktur elektronik yang diperoleh dengan perhitungan kimia komputer. Meskipun metode kimia komputasi ini dapat diprediksi, namun tidak dapat langsung diterapkan karena aspek kimianya dapat dihitung dengan tepat. Adanya komputer dengan aplikasi kimia komputasi memungkinkan ahli kimia obat untuk mendeskripsikan senyawa obat secara tiga dimensi (3D) dan membuat perbandingan berdasarkan kemiripan dan energi dengan senyawa lain yang diketahui memiliki aktivitas tinggi (*pharmacophore query*) (Wardani et al., 2018).

In silico adalah metode komputasi yang dapat digunakan untuk memprediksi interaksi dua molekul untuk membuat model penambatan ligan terhadap molekular

target misalnya reseptor. Metode *in silico* memiliki keunggulan yaitu tidak mahal dan hasilnya dapat diperoleh dengan cepat (Makatita et al., 2020).

Prinsip penambatan molekuler adalah memperbanyak substrat atau ligan untuk membentuk konformasi molekul dengan melokul target yang memperhatikan aspek kestabilan interaksinya. *Software* penambatan secara molekuler salah satunya adalah *PLANTS (Protein-Ligand ANT System)* yang menggunakan algoritma optimasi stokastik yang disebut *Ant Colony Optimization (ACO)*. ACO terinspirasi dari perilaku semut asli yang menemukan rute terpendek antara sarang dan sumber makanannya. ACO meniru perilaku semut asli dalam menandai konformasi ligan berenergi rendah sebagai pelacak feromon. Informasi pelacak feromon buatan ini dimodifikasi pada iterasi berikutnya untuk menghasilkan konformasi berenergi lebih rendah dengan probabilitas lebih tinggi (Mulyati & Panjaitan, 2021).

B. Prediksi Adsorpsi, Distribusi, Metabolisme, Eksresi, dan Toksisitas (ADME-T)

Software pkCSM dan SwissADME dapat digunakan untuk memprediksi Absorpsi, Distribusi, Metabolisme, Ekskresi, dan Toksisitas suatu senyawa baru. Dalam pengujian suatu senyawa dengan nilai absorpsi >80% dinyatakan memiliki nilai absorpsi yang baik dan dibawah <30% dinilai buruk. Suatu senyawa dengan nilai permeabilitas kulit yang baik berkisar antara -2,7 sampai -3,4. Hasil distribusi yang dapat diprediksi melalui *software* tersebut di antaranya Volume Distribusi *at steady state* (VDss), *Blood Brain Barrier* (BBB) dan *Central Nervous System*

(CNS). VDss adalah volume yang menggambarkan dosis total obat perlu didistribusikan dengan merata agar memiliki kesamaan konsentrasi pada plasma darah. Nilai VDss yang besar menandakan jumlah obat terdistribusi di jaringan dibandingkan plasma. Volume distribusi nilainya rendah, jika $\text{Log VD} < 0,15$ dan nilai tinggi $> 0,45$. Didalam tubuh terdapat enzim untuk proses detoksifikasi atau dikenal dengan sitokrom P450, bekerja mengoksidasi senyawa organik yang masuk ke tubuh dan mempunyai inhibitor untuk mempengaruhi proses metabolisme obat. Senyawa aktif diuji dalam memprediksi kecepatannya dalam ekskresi melalui *Total Clearance* (CL_{tot}). CL_{tot} ini erat kaitannya dengan biavailabilitas tubuh. Penentuan uji toksisitas senyawa dilakukan dengan uji *Ames Toxicity* yang merupakan metode menilai potensi mutagenik senyawa menggunakan bakteri. Hasil uji dinyatakan positif jika senyawa memiliki sifat mutagenik maka diprediksi senyawa tersebut dapat bertindak sebagai karsinogen (Pires et al., 2015).

Pemanfaatan radionuklida dalam bidang kedokteran nuklir dapat digunakan untuk tujuan diagnostic *In-vivo*, *in vitro* dan terapi. Pelayanan diagnostik *in vivo* adalah pemeriksaan radionuklida dan radiofarmaka, lalu menggunakan alat pencacah atau kamera gamma dilakukan pengamatan terhadap radionuklida atau radiofarmaka selama dalam tubuh. Dalam hal ini peneliti melakukan kajian *In silico* molecular docking dan ADME-T dengan harapan hasil docking terbaik nantinya dapat diteruskan pada pemeriksaan radiofarmaka untuk diradiolabel dengan I-123, I-124 atau I-131 untuk diagnosa dan terapi kanker paru (Rosilawati et al., 2017).

C. *Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR)*

EGFR adalah kelas glikoprotein reseptor transmembran. Aktivasi protein pengikat tirosin kinase EGFR memediasi sinyal untuk proliferasi dan diferensiasi sel. Mutasi EGFR menyebabkan ekspresi EGFR yang berlebihan, sehingga merangsang percepatan perkembangan sel kanker. Jenis kanker ini, NSCLC, mengungkapkan mutasi EGFR 50-90% dari waktu. Oleh karena itu, inhibitor tirosin kinase (TKI) sering menjadi terapi lini pertama untuk NSCLC dan dapat mencapai respons yang lebih baik pada pasien kanker paru dengan mutasi EGFR pada ekson 18, ekson 19, dan ekson 21 L858R. TKI EGFR juga digunakan pada pasien kanker paru-paru yang tidak membaik atau tidak responsif terhadap kemoterapi lini pertama (Wulandari et al., 2021).

Meskipun respons klinis awal dan tingkat pengendalian penyakit yang sangat baik, pemakaian TKI jangka panjang dalam waktu rata-rata satu tahun tetap akan menimbulkan resistensi melalui mutasi pada EGFR sehingga menyebabkan menurunnya efektivitas pengobatan. Osimertinib adalah EGFR TKI generasi ketiga yang irreversible dan selektif terhadap mutasi T790M EGFR. Osimertinib memberikan efek minimal pada EGFR *wildtype* (wtEGFR) sehingga efek sampingnya lebih sedikit dan menunjukkan aktivitas antikanker yang kuat pada pasien NSCLC dengan EGFR mutasi T790M (Wu et al., 2021).

D. *Kanker Paru*

Beban kanker paru tertinggi di Asia terdapat di negara-negara Asia Tenggara. *Global Cancer Statistics* (GLOBOCAN) terbaru yang diterbitkan oleh *International Agency for Research*

on Cancer (IARC) menunjukkan jumlah kasus kanker akan terus meningkat pada tahun 2020: 19,3 juta kasus baru dan 10 juta kematian akibat kanker. Lebih dari separuh kasus kanker dan kematian ini terjadi di Asia. Tingginya insiden kanker paru-paru telah dikaitkan dengan merokok, yang merupakan faktor resiko yang signifikan untuk kanker paru-paru. Selain itu, faktor lain seperti paparan lingkungan terhadap bahan kimia penyebab kanker seperti polusi udara (perokok pasif), dan juga faktor genetik, asupan makanan serta infeksi pernafasan mempengaruhi 10-15% kasus kanker paru (Purnamawati et al., 2021).

Secara histopatologi, kanker paru terdiri dari kanker paru bukan sel kecil, *non small cell lung cancer* (NSCLC), yang jumlahnya sekitar 75-85% dari seluruh kasus kanker paru, kanker paru sel kecil, *small cell lung cancer* (SCLC), yang jumlahnya sekitar 20%, dan tipe campuran sekitar 5%. NSCLC dibagi lagi menjadi beberapa subkategori: adenokarsinoma, karsinoma sel skuamosa, dan jenis varian kecil lainnya. Dari jumlah tersebut, adenokarsinoma adalah bentuk yang paling umum. Pada perokok, perkembangan kanker paru-paru disebabkan oleh paparan zat, termasuk karsinogen benzo(a)pyrene (BaP). BaP adalah senyawa lipofilik yang dapat menembus membran sel lipid bilayers. Selanjutnya, BaP memasuki sel epitel bronkial dan dimetabolisme oleh enzim metabolisme xenobiotik. Metabolisme BaP menghasilkan produksi senyawa mutagenik, yaitu BP-7,8-dihydrodial-9,10-epoksida (BPDE) senyawa yang reaktif dan dapat berikatan dengan DNA membentuk DNA *adduct* dan menyebabkan mutasi genetik (Purnamawati et al., 2021).

Sebagian besar pasien kanker paru didiagnosis pada stadium lanjut (stadium III dan IV). Pasien yang ditemukan pada stadium ini biasanya memiliki banyak penyakit dan komplikasi akibat kanker yang dialaminya. Keluhan ini disebabkan adanya gangguan sel kanker pada bagian tubuh lain (65% kasus). Gejala pada penderita kanker paru dapat berupa batuk, sesak napas, nyeri dada, batuk darah, mual, nyeri, mudah lelah dan berbagai gejala lainnya (Rizki & Ermayanti, 2018). Pemeriksaan penunjang yang sesuai untuk diagnosis kanker paru meliputi pemeriksaan laboratorium, radiologi, *Trans Thoracal Biopsy* (TTB), *Fine Needle Aspiration Biopsy* (FNAB), dan pemeriksaan histopatologi. Pengobatan kanker paru-paru tersebut dilakukan berdasarkan tipenya, yaitu NSCLC dan SCLC. Pengobatan biasanya diberikan sesuai dengan stadium kanker itu sendiri, yang meliputi pembedahan, radioterapi dan kemoterapi. Kemoterapi digunakan sebagai pengobatan standar untuk pasien kanker paru stadium IIIA dan untuk perawatan paliatif (Joseph & Rotty, 2020).

Pemeriksaan radiologi merupakan bagian penting dalam mendiagnosis penyakit paru, yang meliputi foto toraks, *Computed Tomography* (CT) scan toraks, dan *Magnetic Resonance Imaging* (MRI) toraks paru-paru yang merupakan metode skrining non-konvensional pertama untuk penyakit paru-paru. Metode diagnosis kanker paru berdasarkan patofisiologi penyakit merupakan metode penegakan diagnosa yang dilakukan oleh kedokteran nuklir melalui radionuklir baik *Positron Emission Tomography* (PET) maupun *Single Photon Emission Computerized Tomography* (SPECT). Modalitas ini menggunakan sumber radiasi terbuka dari inti

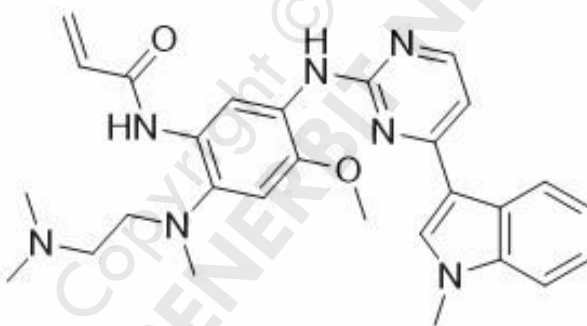
radionuklida untuk mempelajari perubahan fisiologis dan biokimia sehingga dapat digunakan untuk tujuan diagnostik, terapeutik, dan kajian. Pencitraan dengan radionuklir ini dapat memberikan informasi penting tentang lesi secara molekular berdasarkan aktivitas jaringan atau tumor pasien yang juga dapat memberikan gambaran yang akurat tentang fungsi paru pasien, terutama pada pasien kanker paru yang menjalani operasi sehingga efektivitas metode pengobatan dapat terukur dengan akurat. Modalitas PET terbukti mampu untuk mendeteksi tumor ganas pada paru melalui *Nodul Soliter Paru* (NSP) pada rontgen dada, sedangkan SPECT dapat digunakan untuk penegakan diagnosa emboli paru (Hasibuan et al., 2021).

Pengembangan radiofarmaka untuk penegakan diagnosa kanker beserta pengobatannya terus dikembangkan oleh kelompok peneliti kesehatan dan kedokteran (Effendi et al., 2018; Effendi et al., 2019; Effendi et al., 2017; Mishiro et al., 2022; Sun et al., 2018; Wang et al., 2019; Yeh et al., 2021). Meskipun terbilang baru di Indonesia tetapi sediaan radiofarmaka untuk diagnosa dan pengobatan berbagai penyakit termasuk kanker dengan memanfaatkan radiasi radioaktif yang diemisikan oleh radioisotope untuk diagnosa dan pengobatan terus berkembang bahkan beberapa di antaranya sudah diproduksi di skala industri dan telah mendapat ijin edar, misalnya ^{131}I -MIBG (2014), ^{153}Sm -EDTMP (2016), kit MDP (2014).

E. Osimertinib

Osimertinib (**Gambar 2.1**) adalah sistem saraf pusat (SSP) aktif, EGFR-TKI generasi ke tiga yang selektif untuk mutase EGFR-TKI sensitizing (EGFRm). Pengobatan

Osimertinib pada pasien yang memiliki T790M-positif, NSCLC lanjut dan perkembangan penyakit setelah terapi EGFR-TKI sebelumnya memberikan tingkat respon objektif (ORR) yang tinggi (masing-masing 62% dan 70%) dan kelangsungan hidup bebas perkembangan median yang berkepanjangan 12,3 dan 9,9 bulan. Osimertinib telah disetujui secara klinis sebagai pengobatan lini pertama pasien NSCLC mutEGFR tingkat lanjut terlepas dari status mutase T790M. Sementara penemuan Osimertinib merupakan terobosan dalam pengobatan NSCLC, semua pasien kambuh dan mengembangkan resistensi terhadap pengobatan (Wu et al., 2021).



Gambar 2.1 Struktur Osimertinib

Food and Drug Administration (FDA) Amerika Serikat dan *Pharmaceuticals and Medical Devices Agency* (PMDA) di Jepang telah menyetujui penggunaan Osimertinib sebagai obat antikanker golongan penghambat EGFR generasi ketiga untuk mengobati kanker paru NSCLC dengan mutasi tipe L858R/T790M yang telah resisten terhadap Gefitinib karena terbukti efisien sebagai obat pilihan pertama bagi pasien yang kanker paru tipe *mutated*-NSCLC (Ramalingam et al.,

2020). Ini berarti pemanfaatan Osimertinib yang spesifik untuk NSCLC bermutasi sebagai pembawa radionuklida dapat digunakan untuk mendiagnosa pasien kanker paru yang tentunya akan sangat bermanfaat untuk pemilihan jenis pengobatan dan memprediksi efek terapi pengobatan yang dipilih untuk sang pasien untuk menerapkan konsep pengobatan *personalized medicine*.

~oOo~

Copyright © 2023
PENERBIT NEM

Bab 3

MOLECULAR DOCKING

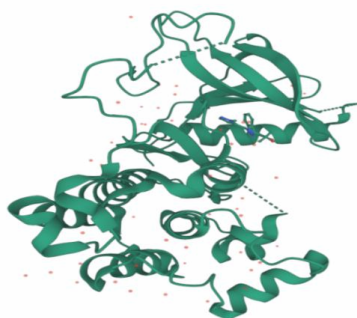
DERIVAT OSIMERTINIB TERHALOGENASI

Hardware. Laptop-SCSHPBC9 dengan spesifikasi processor AMD Athlon Silver 3050U with Radeon Graphics (2 CPUs) 2,3GHz, Ram 4,00 GB, 64-bit operating system, x64-based Processor.

Software. Perangkat lunak yang digunakan dalam kajian ini yaitu *Plants*, *Yasara*, *LigPlot*, *Marvinsketch 5.2*, *Marvinspace*, *Marvinview*, *pkCSM*, *SwissADME* dan Sistem Operasi Windows 10.

Penyiapan Protein EGFR mutasi L858L/T790M. Reseptor EGFR mutasi L858R/T790M diunduh pada *Protein Data Banking* (PDB) pada situs <http://www.rcsb.org/pdb> dengan kode PDBID: 5EDR. File yang telah diunduh kemudian dibuka menggunakan perangkat lunak YASARA. Hilangkan ligan alami (*native ligand*) dan molekul airnya kemudian disimpan dalam bentuk format *.pdb (Faridah et al., 2019).

Penyiapan Native Ligand (Ligan Alami). Ligan alami atau *native ligand* diperoleh dengan cara reseptor EGFR mutasi L858R/T790M yang telah diunduh sebelumnya dibuka dengan menggunakan program YASARA, Caranya buat *yasara object* lalu buat protein, buat *ref_ligand* lalu buat ligan. Molekul airnya dihilangkan dan dipisahkan dengan reseptornya kemudian disimpan dalam bentuk format *.pdb (Hartanti et al., 2022).

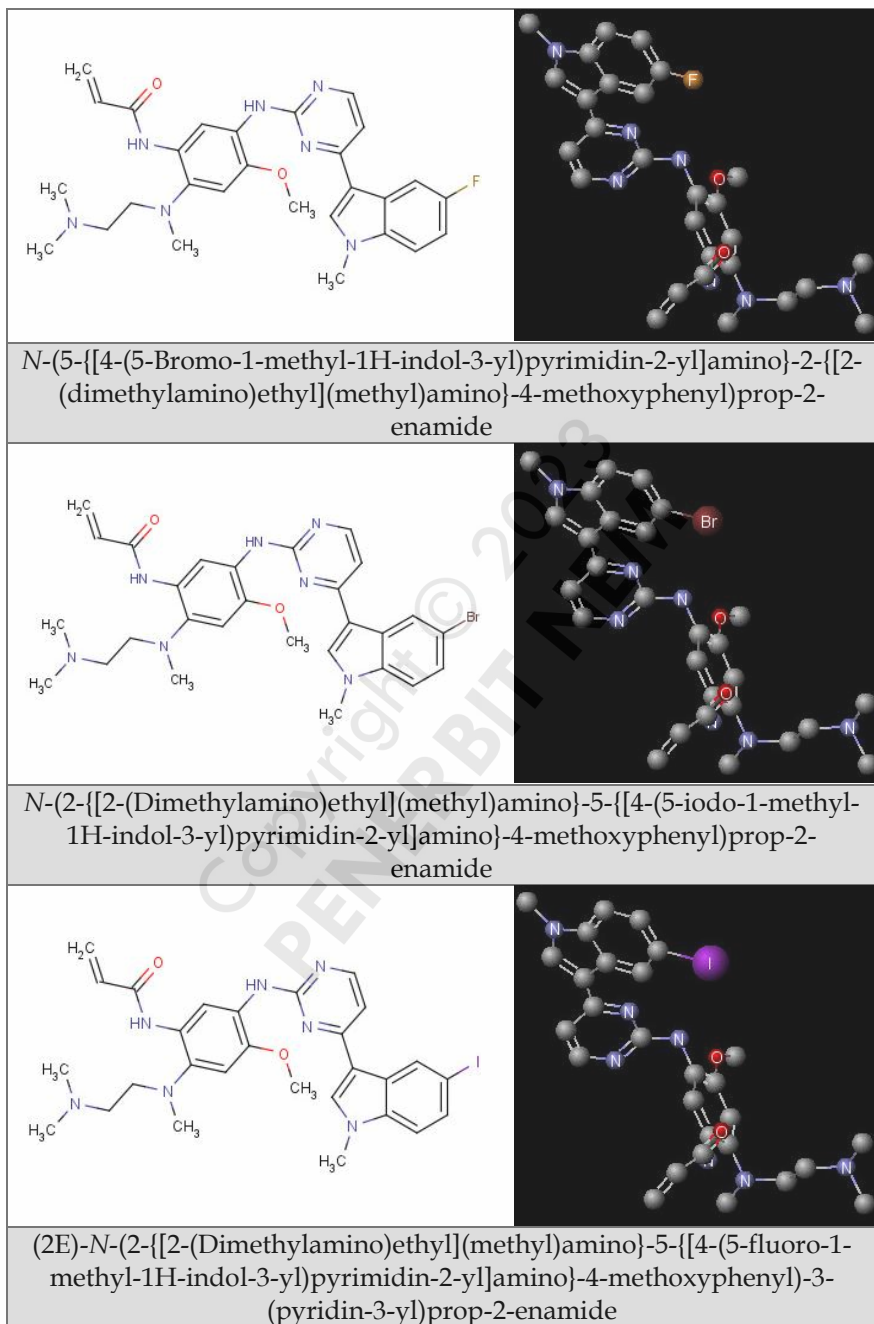


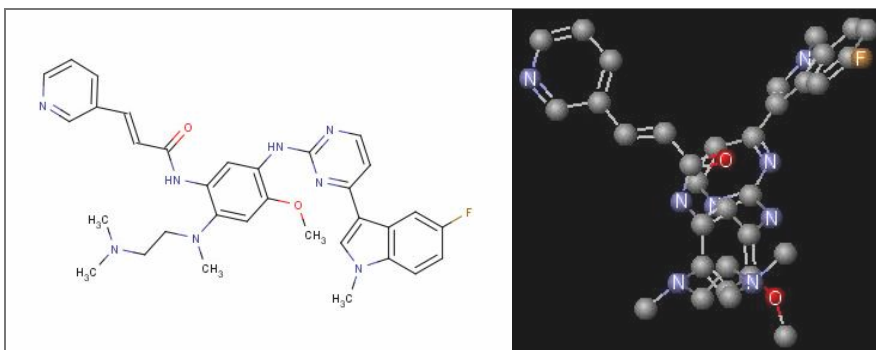
Gambar 3.1 Struktur 3D Reseptor EGFR L858R/T790M (PDB ID 5EDR)

Penyiapan Ligan Osimertinib Derivatnya. Ligan digambar dengan menggunakan *software marvin sketch 5.2* kemudian protonasi pada pH 7,4. Selanjutnya disimpan dalam format .mrv. Setelah itu dilakukan *Conformational conformer* sebanyak 10 konformer dan *save as file* dalam bentuk mol2 (Hartanti et al., 2022).

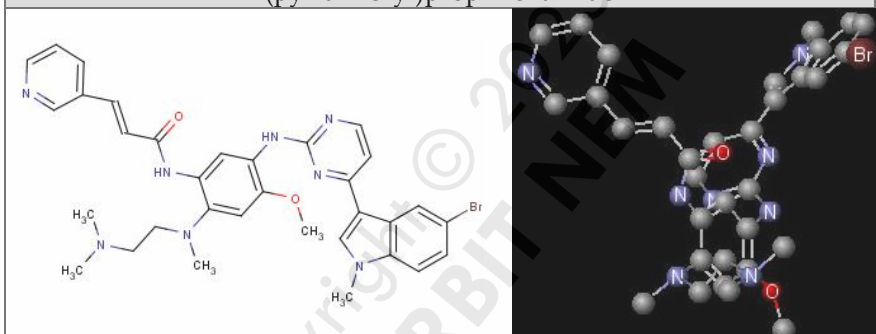
Tabel 3.1 Ligan Uji Osimertinib dan Derivat Osimertinib Terhalogenasi

Struktur 2D	Struktur 3D
Osimertinib	
<i>N</i>-(2-[[2-(Dimethylamino)ethyl](methyl)amino]-5-[[4-(5-fluoro-1-methyl-1H-indol-3-yl)pyrimidin-2-yl]amino]-4-methoxyphenyl)prop-2-enamide	

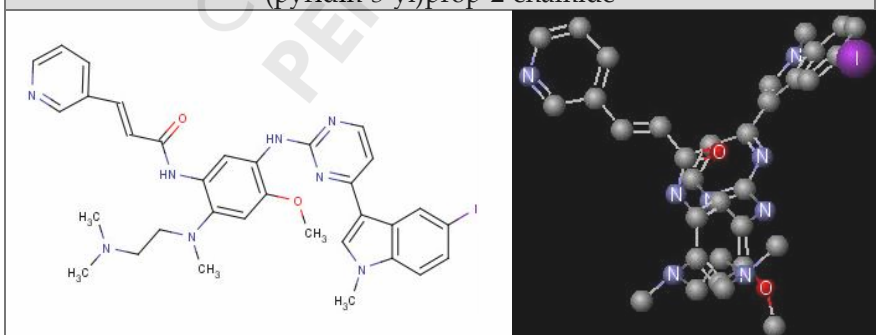




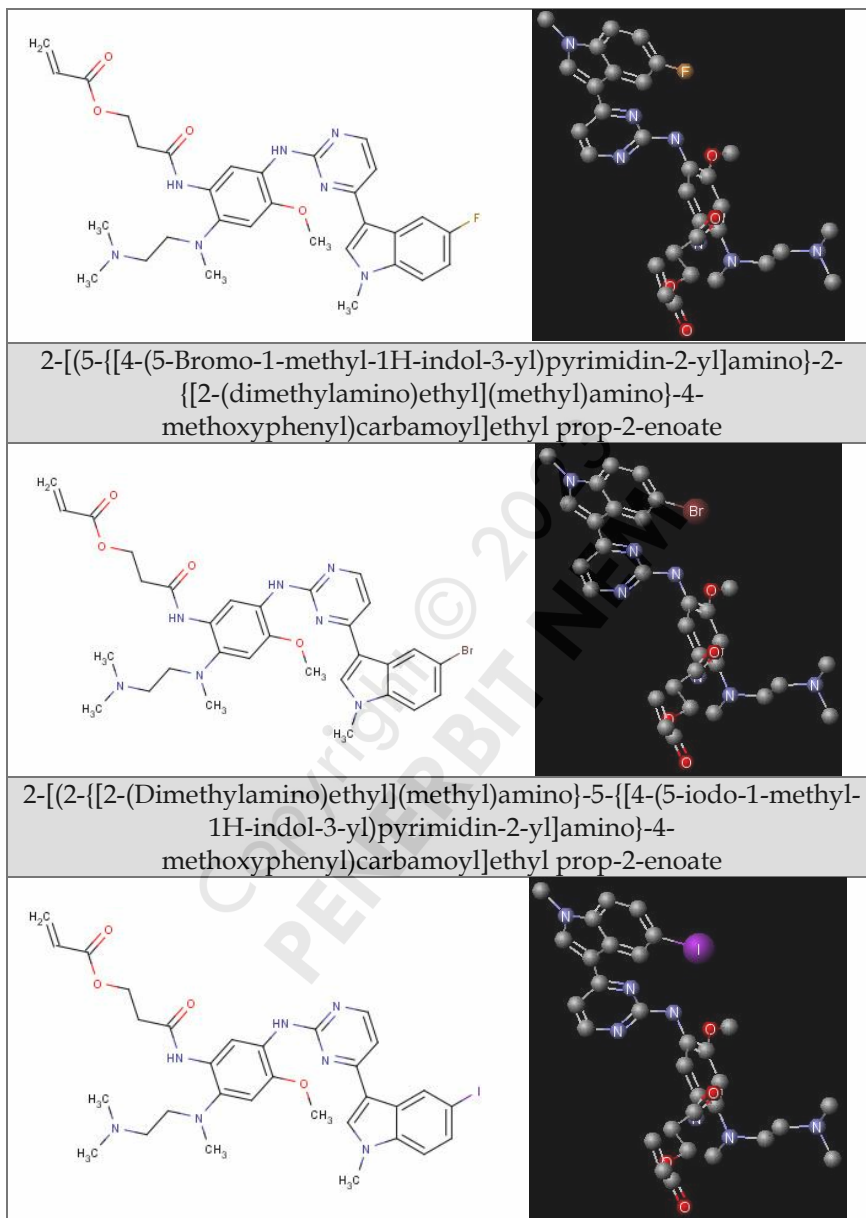
(2E)-N-(5-([4-(5-Bromo-1-methyl-1H-indol-3-yl)pyrimidin-2-yl]amino)-2-([2-(dimethylamino)ethyl](methyl)amino)-4-methoxyphenyl)-3-(pyridin-3-yl)prop-2-enamide



(2E)-N-(2-([2-(Dimethylamino)ethyl](methyl)amino)-5-([4-(5-iodo-1-methyl-1H-indol-3-yl)pyrimidin-2-yl]amino)-4-methoxyphenyl)-3-(pyridin-3-yl)prop-2-enamide



2-([2-([2-(Dimethylamino)ethyl](methyl)amino)-5-([4-(5-fluoro-1-methyl-1H-indol-3-yl)pyrimidin-2-yl]amino)-4-methoxyphenyl]carbamoyl]ethyl prop-2-enoate



Validasi Metode Docking. Validasi dilakukan dengan *re-docking* atau menambahkan Kembali ligan alami yang telah dipindahkan sebelumnya dengan reseptor target.

Proses re-docking dilakukan dengan menggunakan *gird box* $x = 31.57.4552$; $y = -1.590379$; $z = 25.599483$, *gird side* = $40 \times 40 \times 40$ Å . Dihitung nilai RMSD dengan program YASARA. Metode *docking* dikatakan valid jika memiliki nilai $\text{RMSD} \leq 2$ (Faridah et al., 2019; Hartanti et al., 2022; Ruswanto, 2015).

Simulasi Docking Reseptor EGFR-TKI dan Ligan Uji.

Simulasi docking dilakukan masing-masing ligan uji menggunakan program *PLANTS*. Hasil docking diperoleh *score docking* ligan senyawa uji (Faridah et al., 2019).

Visualisasi Hasil Docking. File hasil docking dari masing-masing ligan senyawa uji menggunakan program *ligplot*. File docking divisualisasikan dan diinterpretasikan untuk diketahui interaksi yang terjadi (Faridah et al., 2019).

Analisis Data. Data dianalisis berdasarkan hasil energi ikatan (ΔG) yang diperoleh dari molecular docking. Nilai energi ikatan menunjukkan kekuatan ikatan (afinitas) antara ligan uji dengan reseptor. Mekanisme aktivitas senyawa uji dapat diketahui dari jenis interaksi yang terbentuk antara ligan uji dengan reseptor (Krihariyani et al., 2021).

Prediksi ADME dan Toksisitas Senyawa. Prediksi ADME (Absorpsi, Distribusi, Metabolisme dan Ekskresi) dari senyawa analog Osimertinib dilakukan dengan menggunakan *pkCSM online tool* dengan cara *copy Canonical SMILES* struktur ligan uji lalu diinput ke dalam *pkCSM online tools* (Pires et al., 2015; Ruswanto, 2015).

Bab 4
MOLECULAR DOCKING
DERIVAT OSIMERTINIB TERHALOGENASI
SEBAGAI KANDIDAT INHIBITOR EGFR
BERMUTASI L858R/T790M

Penyiapan reseptor dilakukan dengan pemisahan molekul air dengan ligan alaminya (*native ligand*) menggunakan *Software* YASARA. Molekul air dan ligan alaminya dapat mengganggu proses *docking* (penambatan). Pada penyiapan ligan alami, reseptor yang berikatan dihilangkan agar ligan pembanding dapat digunakan pada proses validasi. Ligan pembanding yang digunakan merupakan ligan alami yang berikatan dengan reseptor EGFR mutasi L858R/T790M dengan kode PDB ID 5EDR (Rena et al., 2022).

Pemilihan reseptor PDB ID 5EDR dengan alasan, data *organism(s)* yang digunakan berasal dari *homo sapiens* (manusia) dengan nilai resolusi sebesar 2,60 Å. Nilai resolusi menjadi salah satu parameter dalam pemilihan reseptor karena dapat mempengaruhi kestabilan ikatan ligan-reseptor. Semakin rendah nilai resolusi reseptor, maka stabilitasnya semakin baik. Nilai resolusi pada PDB ID menyatakan pose struktur protein mempunyai kesamaan dengan *X-ray* struktur protein asli (Dwitiyanti et al., 2019).

Pengunduhan file PDB ID 5EDR dalam format .pdb dapat memudahkan dalam preparasi struktur. Hasil unduhan dipreparasi menggunakan YASARA dengan pemisahan residu dan ligan alami yang terdapat pada file .pdb, sehingga yang tersisa struktur protein murni (reseptor) beserta *pocket cavity*-nya untuk memudahkan dalam pencarian *binding site* pada protein, setelah dilakukan pemisahan, lalu disimpan dalam bentuk format .mol2 baik struktur protein murni (protein.mol2) maupun *native ligand* (ref_ligand.mol2). Selanjutnya disimpan dalam format .mol2 agar proses penambatan molekul bisa berjalan serta menyesuaikan dengan *software* yang digunakan yaitu *software* PLANTS (Purnomo, 2013).

Ligan yang digunakan sebanyak sebelas ligan yang terdiri dari sembilan ligan derivat Osimertinib terhalogenasi, satu ligan Osimertinib dan satu ligan pembanding yaitu {N}-(1~{H}-indazol-3-yl)-7,7-dimethyl-2-(2-methylpyrazol-3-yl)-5~{H}-furo[3,4-d]pyrimidin-4-amine. Preparasi struktur ligan dalam lingkungan protonasi pada pH 7.4 sesuai dengan pH cairan tubuh manusia (Purnomo, 2013).

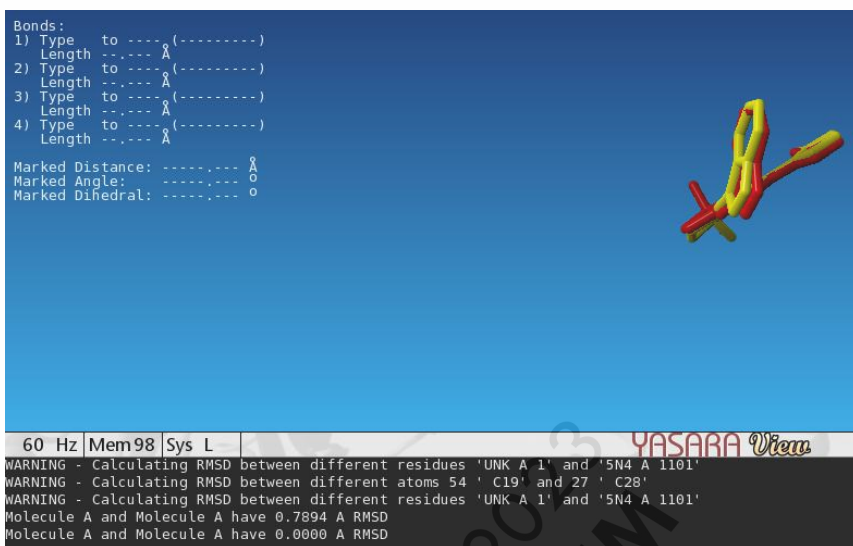
Validasi metode dan *re-docking* PDB ID 5EDR menggunakan *software* PLANTS dengan ligan alami dan reseptornya untuk mengetahui apakah metode dan aplikasi yang digunakan dapat diterima atau tidak (**Tabel 4.1**). Proses *re-docking* mencari *binding site* dari reseptor yang digunakan yang dalam hal ini reseptor EGFR T790M/L858R dengan koordinat x, y, dan z = -52,6183, 0,607815, dan -25,6465 dan radiusnya sebesar 10,1927 Å. Hasil *re-docking* merupakan hasil *default* dari ligan asli

dengan reseptor. Setelah didapatkan *binding site default*, hal tersebut selanjutnya digunakan dalam *virtual screening* untuk sembilan ligan uji derivat Osimertinib yang didesain. Score ChemPLP (ΔG) hasil re-docking adalah sebesar $-97,324$ kkal/mol. Lalu hasilnya dianalisis melalui program YASARA untuk melihat nilai RMSD (*Root Mean Square Deviation*) *heavy atoms* dan didapatkan nilai sebesar $0,7894 \text{ \AA}$ yang artinya dapat diterima karena nilai RMSD-nya kurang dari $2,0 \text{ \AA}$ (Dwitiyanti et al., 2019).

Nilai RMSD *heavy atoms* memperlihatkan hasil penyimpangan antara satu struktur konformasi ligan dengan ligan *x-ray* (ligan asli). Semakin kecil nilai penyimpangannya maka semakin minimal pula kesalahan dalam prediksi interaksi ligan dengan protein dan dapat dikatakan bahwa konformasi ligan dengan ligan asli mempunyai struktur serta atom yang sama dan sejajar sehingga nilai RMSD dapat mencapai $0 \text{ \AA}$ (Dwitiyanti et al., 2019).

Tabel 4.1 Hasil Validasi Metode Docking dengan *Software* YASARA

Reseptor	: EGFR L858R/T790M
PDB-ID	: 5EDR
Ligan alami	: <i>N</i> -[7,7-Dimethyl-2-(1-methyl-1 <i>H</i> -pyrazol-5-yl)-5 <i>H</i> ,7 <i>H</i> -furo[3,4- <i>d</i>]pyrimidin-4-yl]-1 <i>H</i> -indazol-3-amine
Metode Docking	: YASARA
RMSD	: $0,7894 \text{ \AA}$



Gambar 4.1 Overlay Posisi Ligan Hasil Validasi dengan Ligan Alami

Gambar 4.1 merupakan hasil validasi reseptor EGFR mutasi T790M/L858R yang menunjukkan *overlay* ligan hasil validasi dengan ligan alami yang menunjukkan keidentikan yang baik sehingga menghasilkan nilai RMSD kecil yaitu 0,7894 Å.

Simulasi *molecular docking* yaitu *virtual screening*. Tahap ini bertujuan untuk mendapatkan skor ChemPLP (ΔG) berdasarkan interaksi antara ligan dengan reseptor (Dwitiyanti et al., 2019). Reseptor yang digunakan sama saat validasi dengan *binding site* yang digunakan adalah *binding site* yang sama dari hasil validasi dan ligan yang digunakan adalah derivat Osimertinib yang didesain berjumlah sembilan ligan uji, senyawa Osimertinib, serta satu senyawa pembanding.

Tabel 4.2 Hasil Simulasi Molecular Docking dengan Software PLANTS

No.	Ligan	Skor ChemPLP/ ΔG (kkal/mol)
1	N-[7,7-Dimethyl-2-(1-methyl-1H-pyrazol-5-yl)-5H,7H-furo[3,4-d]pyrimidin-4-yl]-1H-indazol-3-amine	-97,324
2	Osimertinib	-103,797
3	Ligan 1	-103,416
4	Ligan 2	-102,903
5	Ligan 3	-103,016
6	Ligan 4	-118,163
7	Ligan 5	-118,313
8	Ligan 6	-119,845
9	Ligan 7	-114,668
10	Ligan 8	-114,228
11	Ligan 9	-114,770

Tabel 4.2 memperlihatkan nilai skor ChemPLP/ ΔG yang dievaluasi dan merupakan hasil simulasi docking dengan menggunakan reseptor EGFR mutasi L858R/T790M. Nilai skor yang digunakan adalah nilai yang paling rendah, dikarenakan nilai score ChemPLP/ ΔG rendah menunjukkan afinitas yang tinggi dari proses penambatan molekul. Berdasarkan hasil data yang diperoleh dari sembilan ligan uji, nilai skor terendah berada pada **ligan 6** dengan nilai sebesar -119,845 kkal/mol sedangkan nilai skor chemPLP ligan asli Osimertinib sebesar -103,797 kkal/mol dan nilai skor ligan pembandingnya hanya sebesar -97,324 kkal/mol. Hal tersebut menunjukkan bahwa interaksi antara **ligan 6** dengan reseptor EGFR mutasi L858R/T790M lebih baik dibandingkan ligan asli dan juga ligan pembanding.

Sehingga, **ligan 6** memiliki potensi sebagai kandidat inhibitor EGFR dengan mutasi L858R/T790M pada kanker paru tipe NSCLC.

Visualisasi hasil *molecular docking* ditunjukkan dengan *software* Ligplot. Visualisasi memperlihatkan interaksi yang terjadi pada kompleks ligan-protein. Interaksi yang terjadi pada ligan-reseptor dapat berupa kovalen, ionik, hidrogen, ion-dipol, dipol-dipol, *van der wall's*, interaksi hidrofobik, dan transfer muatan (Dwitiyanti et al., 2019).

Tabel 4.3 Interaksi Ligan dengan Asam Amino EGFR Menggunakan Ligplot

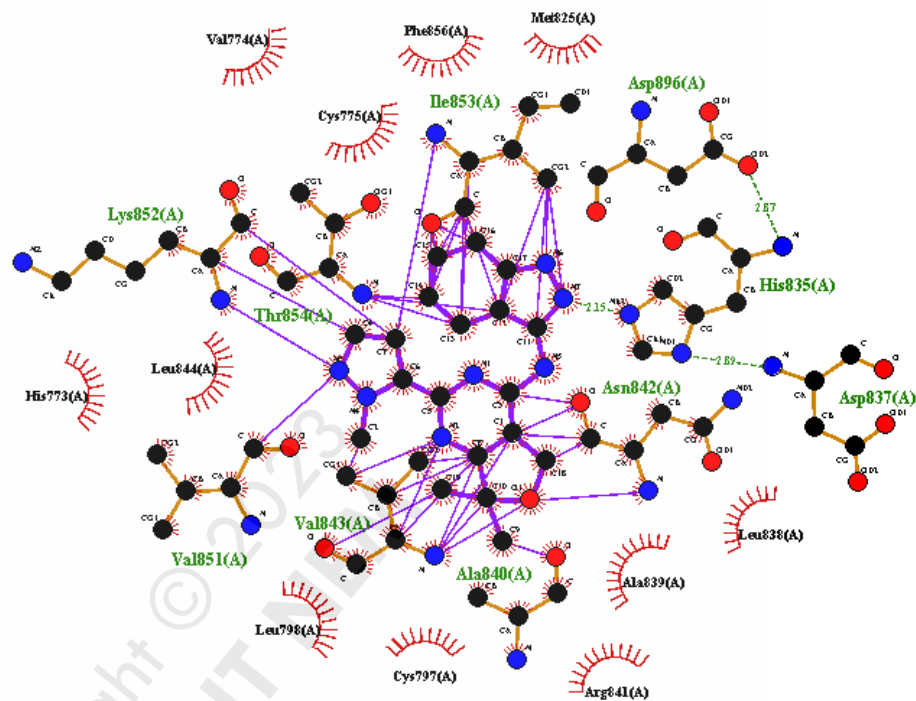
No	Nama ligan	Ikatan hidrogen	Interaksi hidrofobik	Jarak ikatan hidrogen (Å)
1.	N-[7,7-Dimethyl-2-(1-methyl-1H-pyrazol-5-yl)-5H,7H-furo[3,4-d]pyrimidin-4-yl]-1H-indazol-3-amine (Gambar 4.2)	ASP896 ASP837 HIS835 ASN842 ALA840 VAL843 VAL851 LYS852 THR854 ILE853	LEU838 LEU798 LEU844 ALA839 CYS797 CYS775 HIS773 VAL774 PHE856 ARG841 MET825	2,87; 2,89; 2,15
2.	Osimertinib (Gambar 4.3)	LEU844 ALA839 ALA840 ASN842 THR854 HIS835 VAL851	ASP837 ASP855 VAL774 VAL845 HIS773 HIS850 ILE821	1,90

		CYS775	ARG841	
			MET793	
			PHE856	
			LEU838	
3.	Ligan 1 (Gambar 4.4)	LEU844	MET793	2,08
		CYS775	VAL774	
		ALA839	VAL845	
		ALA840	LEU838	
		VAL851	ARG841	
		ASN842	ASP855	
		THR854	PHE856	
			ASP837	
			ILE821	
			LEU798	
			HIS773	
4.	Ligan 2 (Gambar 4.5)	LEU844	ASP837	2,09
		ASN842	ARG841	
		VAL851	VAL845	
		ALA840	MET793	
		ALA839	HIS773	
		CYS775	LEU798	
		HIS835	LEU838	
		THR854	ASP855	
			PHE856	
			VAL774	
5.	Ligan 3 (Gambar 4.6)	ASN842	ALA839	1,60;
		ASP837	ALA840	3,35
		CYS775	HIS835	
		THR845	HIS773	
		VAL851	HIS850	
		VAL845	PHE856	
		LEU798	ILE821	
		LEU844	VAL774	

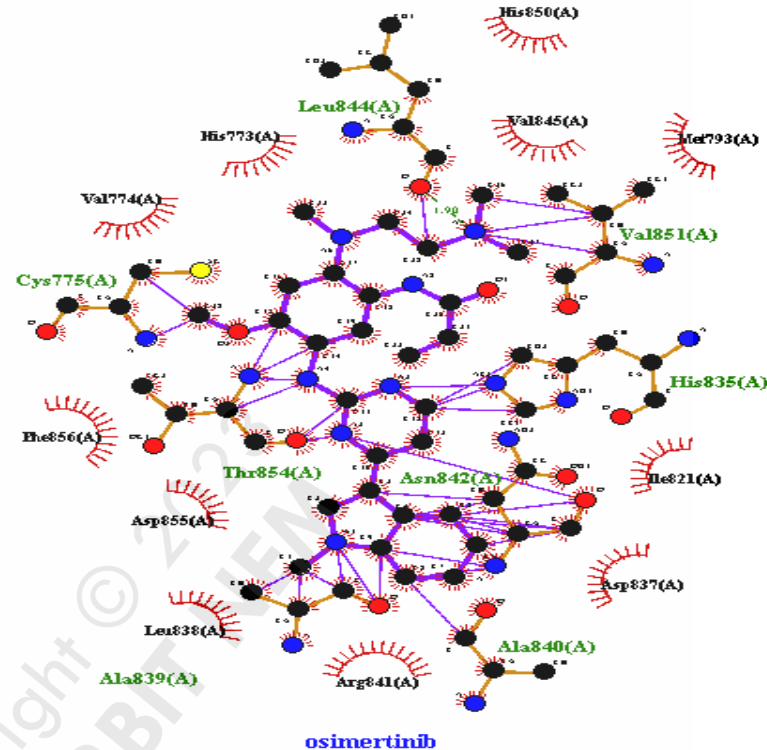
		LEU838	MET825	
			LEU799	
			CYC797	
			ARG841	
6.	Ligan 4	ASP837	MET825	2,09;
	(Gambar 4.7)	HIS835	MET793	2,07;
		ASP896	ASP855	2,75
		THR854	ILE821	
		CYS775	LEU799	
		PHE856	CYC797	
		VAL851	THR847	
		VAL843	VAL845	
		LEU844	VAL774	
		LEU798	LYS846	
		LEU839	HIS850	
		ALA840	ARG776	
		ALA839		
		ARG841		
7.	Ligan 5	THR854	ASP855	1,93
	(Gambar 4.8)	LEU838	ASP837	
		VAL843	HIS835	
		LEU798	HIS850	
		LEU844	ALA839	
		VAL845	ALA840	
		CYS775	ILE821	
			THR847	
			THR903	
			VAL851	
			VAL774	
			LYS846	
			MET793	
			MET825	
			ARG778	

8.	Ligan 6 (Gambar 4.9)	LEU844	PHE856 ARG855	2,16
		LEU838	ARG836	
		VAL843	CYS775	
		VAL851	CYS797	
		LYS852	LEU799	
		PHE856	LEU799	
		THR854	HIS850	
		ASP837	VAL845	
		HIS835	VAL769	
		ASN842	VAL774	
		ALA840	THR847	
		LEU798	ILE821	
		ARG841	MET793	
			LYS846	
9.	Ligan 7 (Gambar 4.10)	LYS852	LYS846	-
		VAL843	LEU907	
		ASN842	LEU799	
		ASP837	LEU838	
		HIS835	CYS797	
		THR854	ALA840	
		CYS775	ALA839	
		LEU844	THR903	
			THR847	
			ARG841	
			MET825	
			ASP855	
			VAL845	
			VAL774	
			VAL845	
			PHE856	
			HIS850	

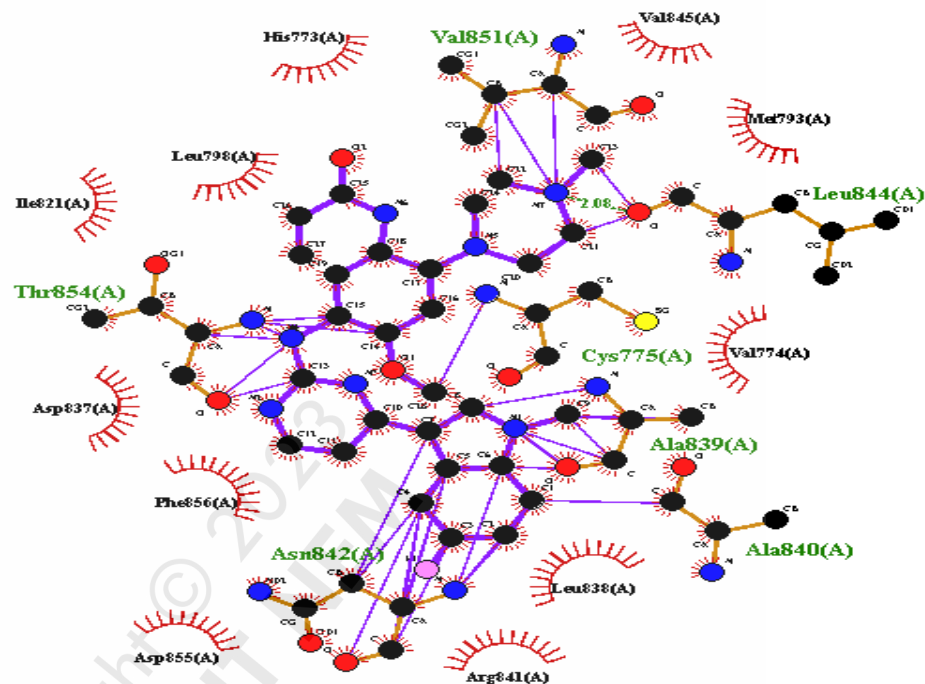
10.	Ligan 8 (Gambar 4.11)	ASP837	MET825	2,09;
		ASP896	MET793	2,07
		HIS835	ASP855	
		LEU838	ILE821	
		LEU798	PHE856	
		LEU844	PHE850	
		ALA839	ARG776	
		ALA840	VAL774	
		ARG841	VAL845	
		VAL851	LYS846	
		ILE853	THR847	
		CYS775	CYS797	
		THR854	LEU799	
11.	Ligan 9 (Gambar 4.12)	LEU844	LEU799	-
		LYS852	LEU907	
		VAL851	VAL845	
		VAL843	VAL774	
		THR854	THR847	
		HIS835	CYC797	
		ASN842	CYS775	
			THR903	
			ALA839	
			ALA840	
			ARG841	
			LYS846	
			HIS850	
			PHE856	
			ASP837	
			ASP855	
			LEU838	
			MET825	
			ARG841	



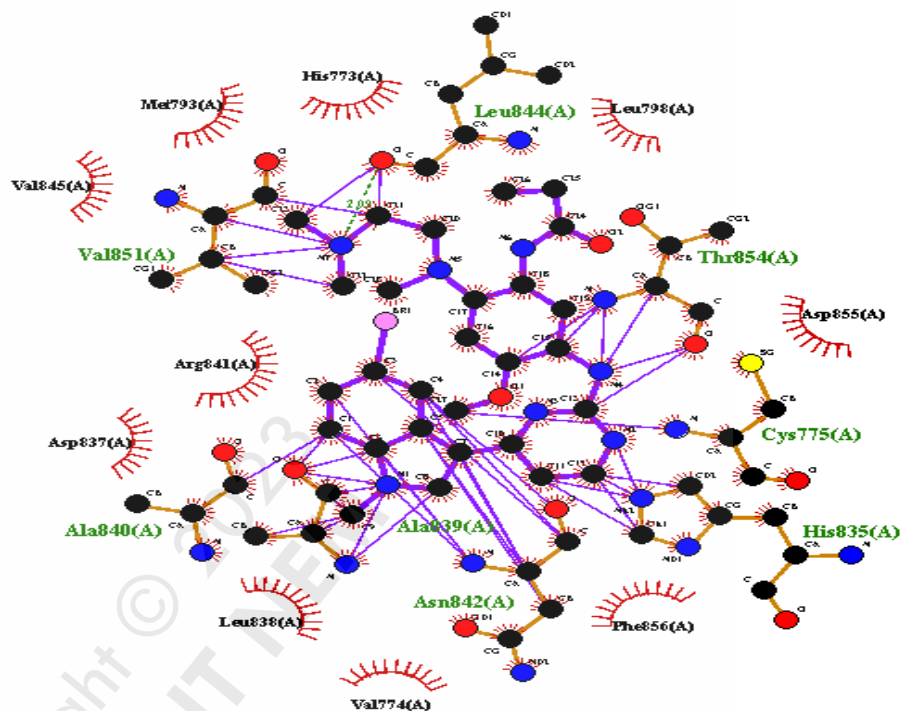
Gambar 4.2 Visualisasi 2D Interaksi Reseptor EGFR Mutasi L858R/T790M dengan **Ligan Alami**, *N*-[7,7-Dimethyl-2-(1-methyl-1*H*-pyrazol-5-yl)-5*H*,7*H*-furo[3,4-*d*]pyrimidin-4-yl]-1*H*-indazol-3-amine.



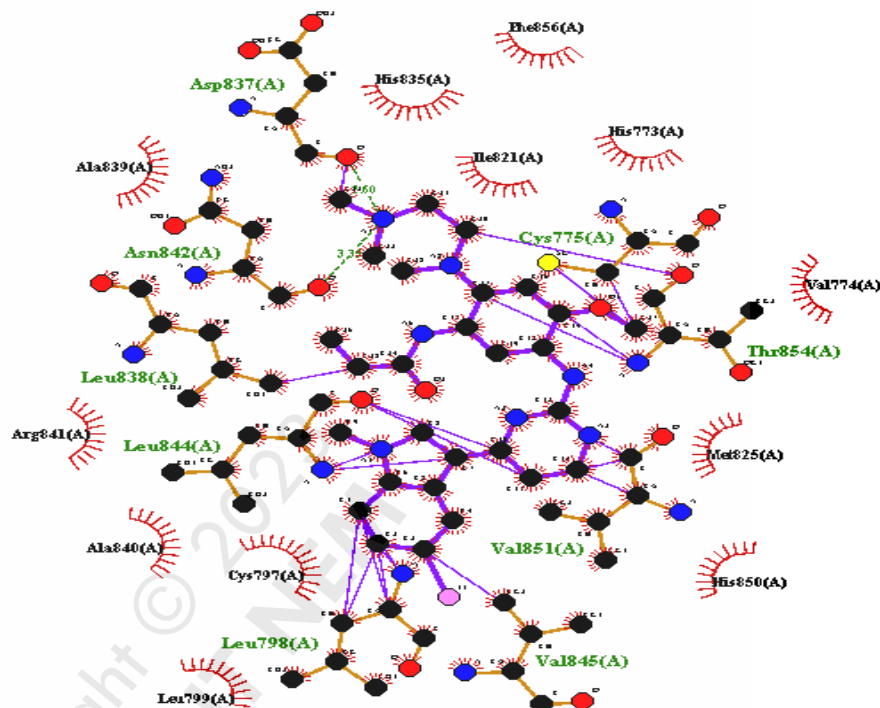
Gambar 4.3 Visualisasi 2D Interaksi Reseptor EGFR Mutasi L858R/T790M dengan Ligan Osimertinib



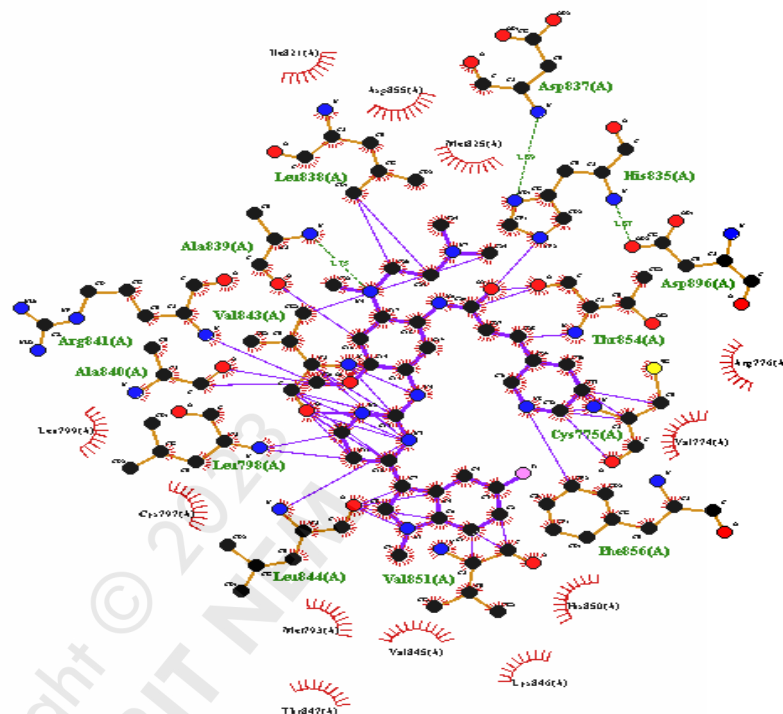
Gambar 4.4 Visualisasi 2D Interaksi Reseptor EGFR Mutasi L858R/T790M dengan **Ligan 1**, *N*-(2-[[2-(Dimethylamino)ethyl](methyl)amino]-5-[[4-(5-fluoro-1-methyl-1H-indol-3-yl)pyrimidin-2-yl]amino]-4-methoxyphenyl)prop-2-enamide



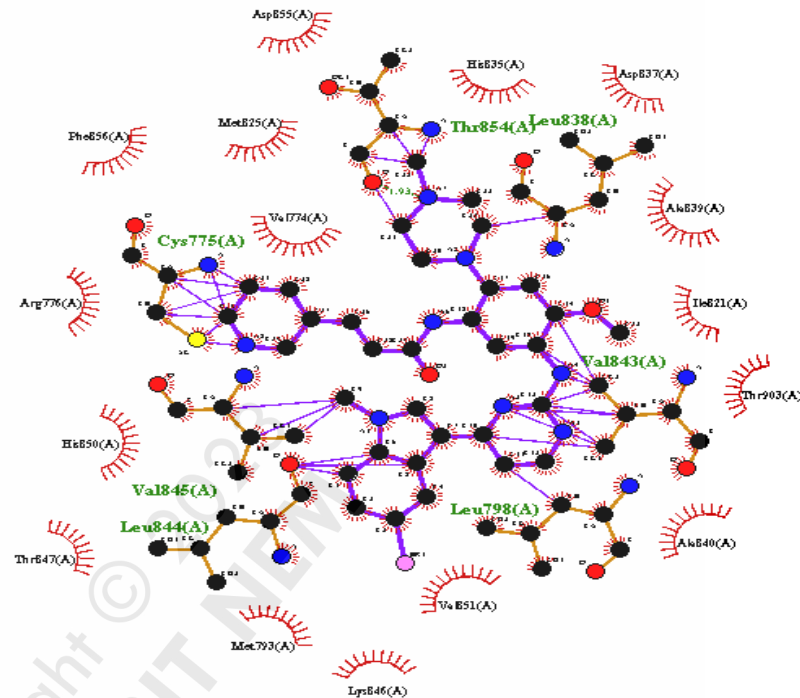
Gambar 4.5 Visualisasi 2D Interaksi Reseptor EGFR Mutasi L858R/T790M dengan **Ligan 2**, *N*-(5-[[4-(5-Bromo-1-methyl-1H-indol-3-yl)pyrimidin-2-yl]amino]-2-[[2-(dimethylamino)ethyl](methyl)amino]-4-methoxyphenyl)prop-2-enamide



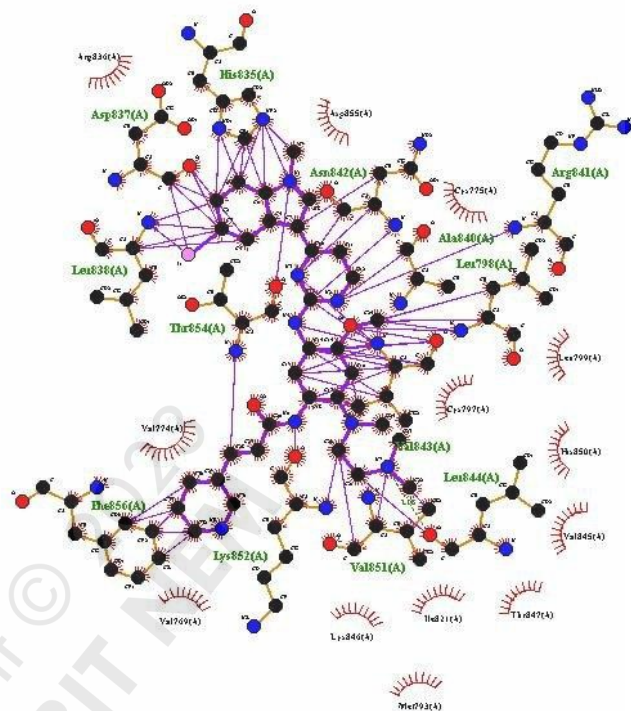
Gambar 4.6 Visualisasi 2D Interaksi Reseptor EGFR Mutasi L858R/T790M dengan **Ligan 3**, *N*-(2-[[2-(Dimethylamino)ethyl](methyl)amino]-5-[[4-(5-iodo-1-methyl-1H-indol-3-yl)pyrimidin-2-yl]amino]-4-methoxyphenyl)prop-2-enamide



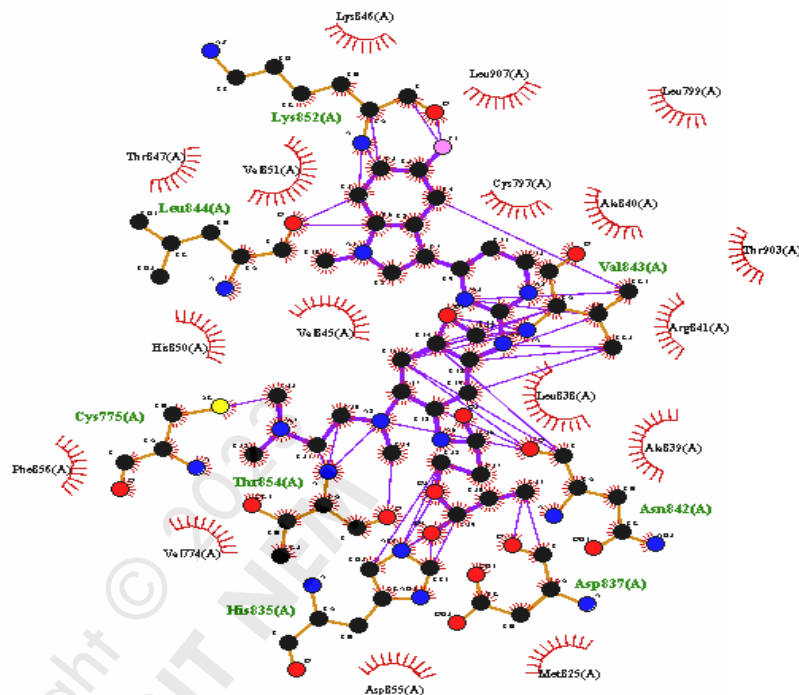
Gambar 4.7 Visualisasi 2D Interaksi Reseptor EGFR Mutasi L858R/T790M dengan **Ligan 4**, (2E)-N-(2-[[2-(Dimethylamino)ethyl](methyl)amino]-5-[[4-(5-fluoro-1-methyl-1H-indol-3-yl)pyrimidin-2-yl]amino]-4-methoxyphenyl)-3-(pyridin-3-yl)prop-2-enamide



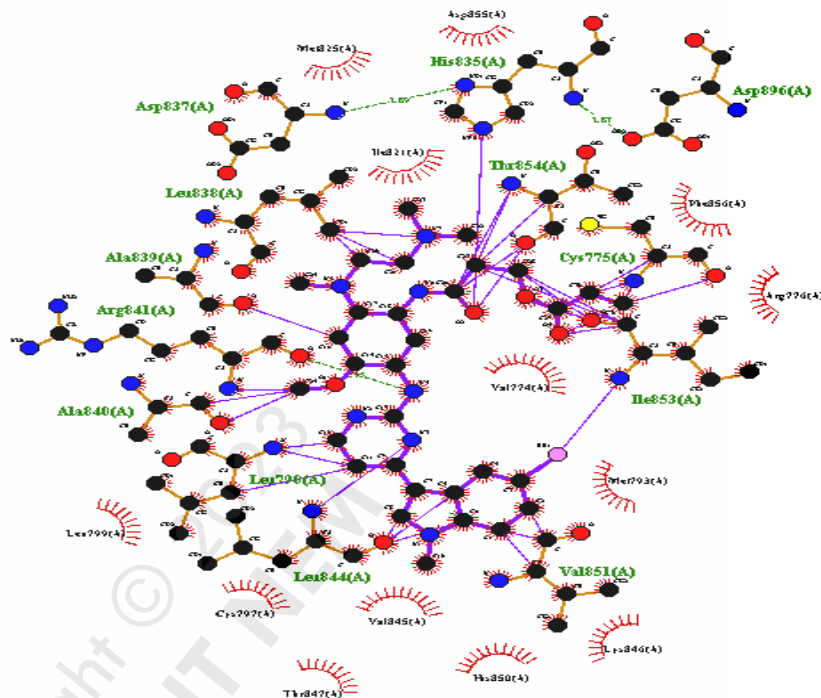
Gambar 4.8 Visualisasi 2D Interaksi Reseptor EGFR Mutasi L858R/T790M dengan **Ligan 5**, (2E)-N-(5-
 {[4-(5-Bromo-1-methyl-1H-indol-3-yl)pyrimidin-2-yl]amino}-2-
 {(dimethylamino)ethyl}(methyl)amino}-4-methoxyphenyl)-3-(pyridin-3-yl)prop-2-enamide



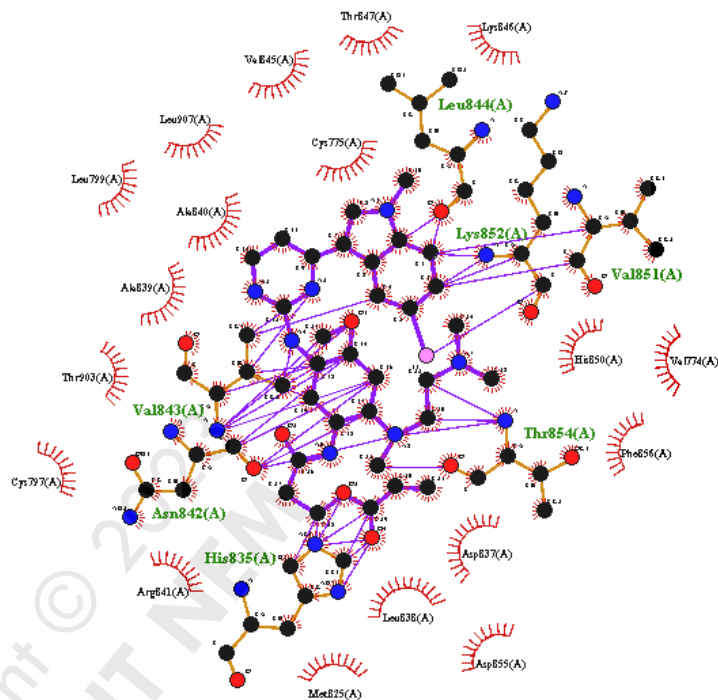
Gambar 4.9 Visualisasi 2D Interaksi Reseptor EGFR Mutasi L858R/T790M dengan **Ligan 6**, (2E)-N-(2-[[2-(Dimethylamino)ethyl](methyl)amino]-5-[[4-(5-iodo-1-methyl-1*H*-indol-3-yl)pyrimidin-2-yl]amino]-4-methoxyphenyl)-3-(pyridin-3-yl)prop-2-enamide



Gambar 4.10 Visualisasi 2D Interaksi Reseptor EGFR Mutasi L858R/T790M dengan **Ligan 7**, 2-[(2-[(2-(Dimethylamino)ethyl)(methyl)amino]-5-[[4-(5-fluoro-1-methyl-1*H*-indol-3-yl)pyrimidin-2-yl]amino]-4-methoxyphenyl)carbamoyl]ethyl prop-2-enoate



Gambar 4.11 Visualisasi 2D Interaksi Reseptor EGFR Mutasi L858R/T790M dengan **Ligan 8**, 2-[(5-[[4-(5-Bromo-1-methyl-1H-indol-3-yl)pyrimidin-2-yl]amino]-2-[[2-(dimethylamino)ethyl](methyl)amino]-4-methoxyphenyl]carbamoyl]ethyl prop-2-enoate



Gambar 4.12 Visualisasi 2D Interaksi Reseptor EGFR Mutasi L858R/T790M dengan **Ligan 9**, 2-[(2-[[2-(Dimethylamino)ethyl](methyl)amino]-5-[[4-(5-iodo-1-methyl-1*H*-indol-3-yl)pyrimidin-2-yl]amino]-4-methoxyphenyl]carbamoyl]ethyl prop-2-enoate

Data pada **Tabel 4.3** terlihat bahwa interaksi antara reseptor EGFR mutasi L858R/T790M dengan ligan alami (**Gambar 4.2**) melalui ikatan hidrogen dengan reseptor pada asam amino ASP896 (2,87 Å), ASP837 (2,89 Å), HIS835 (2,15 Å), ASN842, ALA840, VAL843, VAL851, LYS852, THR854, dan ILE853. Sedangkan interaksi antara reseptor EGFR mutasi L858R/T790M dengan **ligan 6** (**Gambar 4.9**) melalui ikatan hidrogen dengan asam amino LEU844, LEU838, VAL843, VAL851, LYS852, PHE856, THR854, ASP837, HIS835, ASN842, ALA840, LEU798, dan ARG841 dimana pada LEU844 jarak ikatan hidrogennya 2,16 Å dan untuk interaksi antara reseptor EGFR mutasi L858R/T790M dengan senyawa Osimertinib (**Gambar 4.3**) melalui ikatan hidrogen LEU844, ALA839, ALA840, ASN842, THR854, HIS835, VAL851, dan CYS775 dimana pada LEU844 jarak ikatan hidrogennya 1,90 Å. Interaksi kuat bila terbentuk ligan dengan asam amino pada protein dalam range jarak sampai 5,0 Å. Bila berada di atas 5,0 Å interaksi dikatakan lemah (Mulyati & Panjaitan, 2021). Ikatan hidrogen ligan Osimertinib, **ligan 6**, dan ligan alami (*native ligand*) dengan lima asam amino yang sama pada reseptor EGFR mutasi L858R/T790M di antaranya THR845, VAL851, ALA840, ASN842 dan HIS835. Hal ini menandakan bahwa sisi aktif dari ligan alami, Osimertinib, dan ligan 6 menempati sisi aktif yang sama.

Prediksi sifat fisikokimia bertujuan untuk mengetahui sifat fisik dari derivat osimertinib yang merujuk pada aturan 5 lipinski. Prediksi sifat fisikokimia seperti : berat molekul (BM), logaritma koefisien partisi oktanol/air (log P), *Hydrogen Bond Acceptor* (HBA), dan *Hydrogen Bond Donors* (HBD) menggunakan *pkCSM online tools*. Tahun 1971, Lipinski *et al* telah menganalisis 2.245 obat data dasar *World Drugs Index*.

Dimana hasil analisisnya menunjukkan bahwa senyawa akan sulit diabsorpsi dan permeabilitasnya rendah bila memiliki berat molekul lebih besar 500, nilai $\log P$ lebih besar dari +5, ikatan -H donor (HBD) yang dinyatakan dengan jumlah gugus O-H dan N-H tidak lebih besar dari 5, dan ikatan -H aseptor (HBA) dengan jumlah atom O dan N tidak lebih besar dari 10. Analisis ini dikenal dengan hukum 5 *lipinski karne* dengan nilainya kelipatan angka lima (Kesuma et al., 2018).

Tabel 4.4 Prediksi Sifat Fisikokimia Derivat Osimertinib (*pkCSM Online Tools*)

Ligan Uji	BM	Log P	HBA	HBD
Ligan 1	517,609	4,6489	8	2
Ligan 2	578,515	5,2723	8	2
Ligan 3	625,515	5,1144	8	2
Ligan 4	594,695	5,5713	9	2
Ligan 5	655,601	6,1947	9	2
Ligan 6	702,601	6,0368	9	2
Ligan 7	589,672	4,5822	10	2
Ligan 8	650,578	5,2056	10	2
Ligan 9	697,578	5,0477	10	2

BM = Berat Molekul (g/mol);

Log P = logaritma koefisien partisi oktanol/air;

HBA = *Hydrogen Bond Acceptors*;

HBD = *Hydrogen Bond Donors*

Berdasarkan data fisikokimia yang diperoleh ke 9 ligan dapat disimpulkan perbandingan antara *pkCSM* (Tabel 4.4) dan SwissADME (Tabel 4.5) memenuhi hukum 5 *lipinski* walaupun terdapat beberapa ligan dari segi berat molekul (BM) yang menunjukkan berat molekul diatas 500 g/mol. Berat molekul yang kurang dari 500 g/mol lebih mudah

menembus membran sel dibandingkan ligan yang berat molekulnya lebih dari 500 g/mol (Syahputra et al., 2014).

Tabel 4.5 Prediksi Sifat Fisikokimia Derivat Osimertinib (SwissADME Online Tools)

Ligan Uji	BM (g/mol)	Log <i>P</i>	HBA	HBD	Persyaratan Hukum 5 Lipinski
Ligan 1	517,60	3,60	6	2	Ya
Ligan 2	578,50	3,87	5	2	Ya
Ligan 3	625,50	3,95	5	2	Ya
Ligan 4	594,68	4,15	7	2	Ya
Ligan 5	655,59	4,41	6	2	Ya
Ligan 6	702,59	4,45	6	2	Ya
Ligan 7	589,66	3,63	8	2	Ya
Ligan 8	650,57	3,93	7	2	Ya
Ligan 9	697,57	3,98	7	2	Ya

BM = Berat Molekul (g/mol);

Log *P* = logaritma koefisien partisi oktanol/air;

HBA = *Hydrogen Bond Acceptors*;

HBD = *Hydrogen Bond Donors*

Hukum Lipinski selanjutnya yaitu Log *P* dari 9 ligan yang diujikan dengan pkCSM (Tabel 4.4) hanya ligan 2 yang memenuhi karena memiliki nilai log *P* yang tidak lebih dari +5 namun hal tersebut tertutupi dengan pengujian menggunakan SwissADME (Tabel 4.5) dimana hampir semua nilai berada dibawa +5. Semakin besar nilai log *P* maka molekul tersebut semakin hidrofobik, dimana molekul yang terlalu hidrofobik cenderung memiliki toksisitas yang tinggi. Hal ini dikarenakan akan tertahan lebih lama di *lipid bilayer* pada membran sel dan terdistribusi lebih luas dalam tubuh sehingga selektifitas ikatan terhadap enzim berkurang. Dan jika nilai log *P* terlalu negatif

juga tidak baik karena tidak dapat melewati membran *lipid bilayer* (Syahputra et al., 2014).

Hukum Lipinski selanjutnya ialah jumlah donor (HBD) dan akseptor ikatan hidrogen (HBA). Untuk parameter ini semua ligan memenuhi yaitu nilai HBA baik itu dengan *software* pkCSM maupun SwissADME antara 5 sampai 10 yang berarti memenuhi persyaratan tidak lebih dari 10 dan nilai HBD = 2 yang juga berarti memenuhi persyaratan tidak lebih besar dari 5. Jumlah donor dan akseptor menjelaskan bahwa semakin tinggi kapasitas ikatan hidrogen, maka semakin tinggi pula energi yang dibutuhkan agar proses absorpsi dapat terjadi (Syahputra et al., 2014).

Tabel 4.6 Hasil Analisis Profil Absorpsi (*pkCSM Online Tools*)

Ligan Uji	Kelarutan dalam air (Log mol/L)	Pgp substrat	Permeabilitas kulit log K_p (cm/jam)
Ligan 1	-4,036	Ya	-2,735
Ligan 2	-4,22	Ya	-2,735
Ligan 3	-4,213	Ya	-2,735
Ligan 4	-3,697	Ya	-2,735
Ligan 5	-3,816	Ya	-2,735
Ligan 6	-3,808	Ya	-2,735
Ligan 7	-4,159	Ya	-2,735
Ligan 8	-4,359	Ya	-2,735
Ligan 9	-4,346	Ya	-2,735

Kelarutan dalam air memperlihatkan kelarutan molekul dalam air pada suhu 25°C Ketika obat yang larut dalam lemak kurang baik terabsorpsi dibanding obat yang larut dalam air, terutama yang bersifat enteral. Senyawa yang mempunyai nilai *water solubility* dibawah -6 menandakan kelarutan yang rendah. Berdasarkan **Tabel 4.6**

menggunakan *pkCSM online tools*, hasil uji kelarutan dalam air menunjukkan semua ligan memiliki nilai kelarutan dalam air diatas -6 ini menandakan bahwa senyawa mudah diabsorpsi. Sedangkan untuk **Tabel 4.7** menggunakan *SwissADME Online Tools* terdapat beberapa ligan yang dibawah -6 yaitu ligan 3, ligan 5, ligan 6, dan ligan 9 memiliki nilai kelarutan dalam air dibawah -6 ((Abdullah et al., 2021; Krihariyani et al., 2021).

P-glikoprotein (Pgp) merupakan transpoter yang mengikat ATP (ABC). Substrat Pgp berfungsi sebagai penghalang biologis dalam mengeluarkan racun xenobiotic dari sel (Abdullah et al., 2021). Berdasarkan **Tabel 4.6** menggunakan *pkCSM online tools* hasil menunjukkan bahwa sembilan ligan uji adalah substrat dari transpoter p-glikoprotein sedangkan pada **Tabel 4.7** menggunakan *SwissADME* pada ligan 2, ligan 3, ligan 5, dan ligan 6 tidak berperan sebagai substrat transpoter glikoprotein.

Tabel 4.7 Hasil Analisis Profil Absorpsi (*SwissADME Online Tools*)

Ligan Uji	Kelarutan dalam air (Log mol/L)	Pgp substrat	Permeabilitas kulit log <i>K_p</i> (cm/s)
Ligan 1	-5,14	Ya	-6,75
Ligan 2	-5,89	Tidak	-6,70
Ligan 3	-6,15	Tidak	-7,01
Ligan 4	-5,86	Ya	-6,92
Ligan 5	-6,61	Tidak	-6,87
Ligan 6	-6,88	Tidak	-7,18
Ligan 7	-5,16	Ya	-7,31
Ligan 8	-5,91	Ya	-7,27
Ligan 9	-6,18	Ya	-7,58

Permeabilitas kulit merupakan pertimbangan penting dalam syarat efikasi produk dan menarik dalam pengembangan sistem penghantaran senyawa obat rute transdermal. Suatu senyawa obat dikategorikan memiliki permeabilitas kulit relatif rendah jika memiliki nilai $\log Kp$ lebih besar dari -2,5. Pada *software pkCSM online tools Skin permeability* ($\log Kp$) semuanya mempunyai nilai $\log Kp$ lebih kecil dari -2,5, sehingga dapat diprediksi bahwa semua ligan mempunyai permeabilitas kulit yang baik. Begitupun pada hasil uji menggunakan *SwissADME online tools* memperlihatkan penyerapan gastrointestinal yang tinggi dengan dukungan yang relevan dari nilai permeabilitas kulit. Hal ini mengindikasikan bahwa ligan uji dapat digunakan secara oral atau transdermal (Abdullah et al., 2021).

Tabel 4.8 Hasil Analisis Profil Distribusi (*pkCSM* dan *SwissADME Online Tools*)

Ligan Uji	<i>pkCSM</i>		SwissADME
	VDss	BBB ($\log BB$)	BBB ($\log BB$)
Ligan 1	0,900	-1,558	Tidak
Ligan 2	1,013	-1,540	Tidak
Ligan 3	1,022	-1,526	Tidak
Ligan 4	0,65	-1,794	Tidak
Ligan 5	0,782	-1,776	Tidak
Ligan 6	0,788	-1,762	Tidak
Ligan 7	0,698	-1,928	Tidak
Ligan 8	0,833	-1,910	Tidak
Ligan 9	0,842	-1,896	Tidak

Volume distribusi (VDss) merupakan volume teoritis yang menyatakan bahwa dosis total obat harus didistribusikan secara merata guna memberikan konsentrasi sama dalam plasma darah. Nilai VDss berbanding lurus dengan banyaknya obat di jaringan dibandingkan dalam plasma darah, jika semakin tinggi nilai VDss semakin banyak pula obat yang didistribusikan di jaringan daripada plasma darah. Suatu senyawa dikategorikan mempunyai volume distribusi yang rendah jika nilai VDss lebih kecil dari 0,15 dan tinggi bila VDss nya lebih besar dari 0,45. Dari **Tabel 4.8** dapat dilihat bahwa dari semua ligan nilai berada diatas 0,45 sehingga dapat diprediksi bahwa ke semua ligan uji dapat didistribusikan secara merata untuk memperoleh konsentrasi yang sama dengan plasma darah (Krihariyani et al., 2021; Pires et al., 2015).

BBB merupakan kemampuan obat untuk menembus sawar darah otak, parameter ini perlu dipertimbangkan untuk membantu mengurangi efek samping dan toksisitasnya serta meningkatkan khasiat obat yang aktivitas farmakologinya ada dalam otak. Senyawa dikatakan dapat menembus sawar darah otak dengan baik bila memiliki nilai $\log BB$ lebih besar dari 0,3 dan tidak dapat terdistribusi dengan baik bila $\log BB$ lebih kecil dari -1. Dari **Tabel 4.8** baik menggunakan *pkCSM* maupun *SwissADME online tool* menunjukkan semua nilai berada dibawah -1 sehingga semua ligan tidak mampu menembus sawar darah otak secara moderat (Krihariyani et al., 2021; Pires et al., 2015).

Tabel 4.9 Hasil Analisis Metabolisme Ligan Uji (*pkCSM dan SwissADME Online Tools*)

Ligan Uji	<i>pkCSM Online Tools</i>					<i>SwissADME Online Tools</i>				
	CYP450 2D6	CYP450 3A4	CYP450 2C19	CYP450 2C9	CYP450 2D6	CYP450 3A4	CYP450 3A4	CYP450 2C19	CYP450 2C9	CYP450 2D6
	substrat	substrat	inhibitor	inhibitor	inhibitor	inhibitor	inhibitor	inhibitor	inhibitor	inhibitor
Ligan 1	Tidak	Ya	Tidak	Ya	Tidak	Ya	Ya	Ya	Ya	Ya
Ligan 2	Tidak	Ya	Ya	Tidak	Tidak	Ya	Ya	Ya	Ya	Ya
Ligan 3	Tidak	Ya	Ya	Tidak	Tidak	Ya	Ya	Ya	Ya	Ya
Ligan 4	Tidak	Ya	Tidak	Ya	Tidak	Ya	Ya	Ya	Ya	Ya
Ligan 5	Tidak	Ya	Ya	Ya	Tidak	Ya	Tidak	Ya	Ya	Tidak
Ligan 6	Tidak	Ya	Ya	Ya	Tidak	Ya	Tidak	Ya	Tidak	Tidak
Ligan 7	Tidak	Ya	Ya	Ya	Tidak	Ya	Ya	Ya	Ya	Ya
Ligan 8	Tidak	Ya	Ya	Tidak	Tidak	Ya	Ya	Ya	Ya	Ya
Ligan 9	Tidak	Ya	Ya	Ya	Tidak	Ya	Ya	Ya	Ya	Ya

Sitokrom P450 merupakan enzim detoksifikasi yang penting dalam tubuh, utamanya dalam hati yang mengoksidasi xenobiotic dalam memfasilitasi ekskresi. Banyak obat yang dinonaktifkan dan diaktifkan oleh sitokrom P450 (CYP450). Senyawa dianggap sebagai penghambat sitokrom P450 bila konsentrasi yang diperlukan menghasilkan penghambatan $50\% < 10 \mu\text{m}$. Sitokrom P450 bertanggung jawab dalam metabolisme banyak obat, namun penghambatan P450 dapat mengubah secara signifikan farmakokinetik obat dalam tubuh. Oleh karena itu, sangat penting menilai apakah suatu senyawa kemungkinan merupakan substrat CYP450 contohnya 2D6 dan 3A4 (Pires et al., 2015). Dari **Tabel 4.9** dapat dilihat bahwa semua ligan termasuk substrat CYP450 3A4 dan tidak menjadi substrat terhadap CYP450 2D6. Berdasarkan hasil uji *pkCSM* maupun *SwissADME online tools* mengindikasikan bahwa ligan terlibat dalam CYP450 3A4, CYP450 2C19, CYP450 2C9.

Tabel 4.10 Hasil Analisis Profil Ekskresi (*pkCSM Online Tools*)

Ligan Uji	Klirens Total (CLTOT) (log ml/min/kg)	Substrat OCT2
Ligan 1	0,571	Ya
Ligan 2	0,547	Ya
Ligan 3	0,608	Ya
Ligan 4	0,427	Ya
Ligan 5	0,405	Ya
Ligan 6	0,466	Ya
Ligan 7	0,639	Ya
Ligan 8	0,616	Tidak
Ligan 9	0,676	Tidak

Total Clearance (CLTOT) merupakan kombinasi *hepatic clearance* (metabolism hati dan empedu) dan *renal clearance* (eksresi melalui ginjal). Hal ini berkaitan dengan bioavailabilitas dan sangat penting menentukan tingkat dosis untuk mencapai konsentrasi *steady-state*. Berdasarkan hasil analisis profil eksresi menggunakan *pkCSM online tools* (**Tabel 4.10**), senyawa ligan 9 merupakan senyawa dengan total klirens (CLTOT) paling tinggi sehingga paling cepat diekskresikan dari tubuh (Krihariyani et al., 2021; Pires et al., 2015).

Organik Cation Transpoter 2 (OCT2) merupakan transpoter di ginjal yang memiliki peran penting dalam disposisi dan klirens obat dan senyawa endogen. Substrat OCT2 juga dapat menimbulkan interaksi yang merugikan dengan inhibitor OCT2 bila diberikan secara bersamaan (Krihariyani et al., 2021; Pires et al., 2015). Dari **Tabel 4.10** dapat diprediksi bahwa semua ligan uji termasuk substrat OCT2 kecuali ligan 8 dan ligan 9.

Toksisitas adalah suatu ukuran dari kumpulan bahan-bahan kimia yang tidak diinginkan sehingga dapat bersifat merugikan. Derajat toksisitas senyawa bersifat kuantitatif dan kualitatif secara *binary* (toksik atau tidak toksik) dan *ordinary* (toksisitasnya rendah, sedang, atau tinggi). Tujuan dari uji toksisitas untuk melihat serta mengidentifikasi apakah suatu senyawa berbahaya bagi manusia, tumbuhan, maupun hewan, serta lingkungan. Sedangkan dalam *in silico* diujikan untuk melengkapi uji toksisitas secara *in vitro* dan *in vivo* dengan berbagai keuntungan baik dari segi meminimalisir penggunaan hewan coba, biaya, dan lama pengujian (Raies & Bajic, 2016).

Tabel 4.11 Prediksi Toksisitas Ligan Uji (*pkCSM Online Tools*)

Ligan Uji	<i>Ames Toxicity</i>	Hepatotoksitas	LD ₅₀ Akut (mol/kg)
Ligan 1	Tidak	Ya	2,859
Ligan 2	Tidak	Ya	2,990
Ligan 3	Tidak	Ya	2,992
Ligan 4	Tidak	Ya	3,215
Ligan 5	Tidak	Ya	3,355
Ligan 6	Tidak	Ya	3,358
Ligan 7	Tidak	Ya	2,703
Ligan 8	Tidak	Ya	2,801
Ligan 9	Tidak	Ya	2,803

Berdasarkan data pada **Tabel 4.11** dapat dilihat bahwa ligan uji memiliki sifat hepatotoksik ini berarti senyawa ligan uji diprediksi dapat memberikan efek kerusakan pada hati. Dan uji selanjutnya dilakukan uji *ames toxicity*. Uji *ames toxicity* merupakan metode yang digunakan secara luas untuk menilai potensinya sebagai mutagen menggunakan bakteri. Hasil uji positif berarti bersifat mutagenik yang artinya dapat bertindak sebagai karsinogen untuk zat yang menyebabkan kanker. Dari **Tabel 4.11**, sembilan ligan uji dapat dilihat bahwa semua ligan diprediksi tidak menimbulkan efek mutagenik (Krihariyani et al., 2021).

Untuk toksisitas per oral LD₅₀ dari senyawa derivat Osimertinib terhalogenasi dilakukan uji *in silico* dan toksisitas senyawa menggunakan *pkCSM online tools*. LD₅₀ adalah jumlah senyawa yang diberikan yang dapat menyebabkan kematian 50% kelompok hewan coba. Dari **Tabel 4.11** dapat dilihat bahwa semua ligan uji diprediksi

memiliki nilai LD₅₀ 2858 sampai 3365 mg/kg dan termasuk kelas toksisitas 5 yang berarti mempunyai efek toksisitas yang rendah atau ringan (Kesuma et al., 2018).

~oOo~

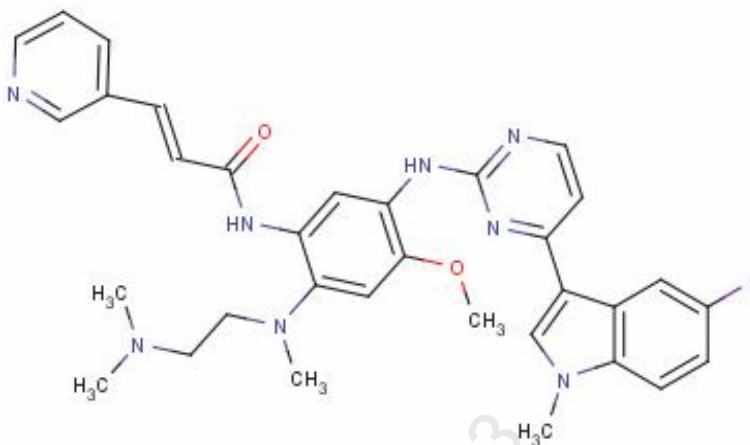
Copyright © 2023
PENERBIT NEM

Bab 5

PENUTUP

Berdasarkan studi *in silico* yang dilakukan dengan menggunakan metode *molecular docking* dapat disimpulkan bahwa:

1. Senyawa desain Derivat Osimertinib **ligan 6** merupakan kandidat inhibitor EGFR dengan mutasi L858R/T790M pada kanker paru tipe NSCLC. **Ligan 6** memiliki afinitas terhadap reseptor EGFR mutasi L858R/T790M dan berpotensi sebagai agen diagnosa dan atau terapi kanker paru tipe NSCLC. Skor *ChemPLP* (ΔG) **ligan 6** adalah sebesar -119,845 kkal/mol lebih stabil dibandingkan ligan alami yaitu -97,324 kkal/mol dan senyawa osimertinib yaitu -103,797 kkal/mol. Interaksi antara reseptor EGFR mutasi L858R/T790M dengan **ligan 6** melalui ikatan hidrogen dengan asam amino LEU844, LEU838, VAL843, VAL851, LYS852, PHE856, THR854, ASP837, HIS835, ASN842, ALA840, LEU798, dan ARG841 dimana pada LEU844 jarak ikatan hidrogennya 2,16 Å. Nilai log *P* mencapai 6,0368 dengan HBD sebesar 2 dan HBA sebesar 9.



2. Berdasarkan hasil analisis prediksi profil farmakokinetik **ligan 6** dengan nama resmi (IUPAC) (2E)-N-(2-[[2-(Dimethylamino)ethyl](methyl)amino]-5-[[4-(5-iodo-1-methyl-1H-indol-3-yl)pyrimidin-2-yl]amino]-4-methoxyphenyl)-3-(pyridin-3-yl)prop-2-enamide diperoleh data prediksi sebagai berikut:
- Prediksi profil Absorpsi ligan 6:** menggunakan software *pkCSM online tools* memiliki kelarutan dalam air nilainya -3,808 log mol/L, merupakan substrat Pgp, dan memiliki permeabilitas kulit dengan nilai log *Kp* -2,735; sedangkan menggunakan *SwissADME online tools* kelarutan dalam air bernilai -6,88 dan bukan merupakan substrat Pgp.
 - Prediksi profil distribusi ligan 6:** dan untuk hasil analisis profil distribusi nilai VD_{ss} 0,788 dan BBB tidak dapat menembus sawar darah otak.
 - Prediksi profil metabolisme ligan 6:** hasil analisis menggunakan software *pkCSM online tools* merupakan substrat CYP450 3A4, bukan substrat CYP450 2D6, dan sebagai penghambat CYP450

(2C9/2C19/3A4) sedangkan hasil analisis menggunakan software SwissADME *online tools* bukan termasuk CYP450 (3A4/2C9/2D6) dan termasuk penghambat CYP450 2C19.

- d. **Prediksi profil Eksresi ligan 6:** Untuk prediksi profil ekskresi menggunakan *pkCSM online tools* nilai klirens total 0,466 log mL/min/kg dan termasuk substrat OCT2 sedangkan
- e. **Prediksi profil toksisitas ligan 6:** tidak termasuk *ames toxicity*, bersifat hepatotoksik dengan nilai LD₅₀ akut terprediksi 3,358 mol/kg.

~oOo~

Copyright © 2023
PENERBIT NEM

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, S. S., Putra, P. P., Antasionasti, I., Rundengan, G., Suoth, E. J., Abdullah, R. P. I., & Abdullah, F. (2021). Analisis Sifat Fisikokimia, Farmakokinetik dan Toksikologi pada Pericarpium Pala [*Myristica fragrans*] Secara Artificial Intelligence. *Chemistry Progress*, 14(2), 81-92. <https://doi.org/10.35799/cp.14.2.2021.37112>
- Adianingsih, O. R., Khasanah, U., Anandhy, K. D., & Yurina, V. (2022). In silico ADME-T and Molecular Docking Study of Phytoconstituents from *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray on Various Targets of Diabetic Nephropathy. *Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research*, 10(4), 571-594.
- Alexander, M., Kim, S. Y., & Cheng, H. (2020). Update 2020: Management of Non-Small Cell Lung Cancer. *Lung*, 198(6), 897-907. <https://doi.org/10.1007/s00408-020-00407-5>
- Dewi, A., Thabrany, H., Satrya, A., Puteri, G., Fattah, R., & Novitasari, D. (2021). *Kanker Paru, Kanker Paling Mematikan di Indonesia: Apa Saja Yang Telah Kita Atasi dan Apa Yang Kita Bisa Lakukan*. Pusat Kajian Jaminan Sosial Universitas Indonesia, PKJS-UI.
- Du, X., Yang, B., An, Q., Assaraf, Y. G., Cao, X., & Xia, J. (2021). Acquired Resistance to Third-Generation EGFR-TKIs and Emerging Next-Generation EGFR Inhibitors. *Innovation (Camb)*, 2(2), 100103. <https://doi.org/10.1016/j.xinn.2021.100103>

- Dwitiyanti, D., Rachmania, R. A., Efendi, K., Atmojo, T. T., & Yeni, Y. (2019). Potensi Biji Buah Nangka (*Artocarpus heterophyllus* L.) Dalam Menghambat Reseptor Alfa-Glukosidase Pada Tikus Diabetes Mellitus Gestasional Yang Terinduksi Streptozotosin Secara In Vivo Dan In Silico. *Prosiding Kolokium Doktor dan Seminar Hasil Penelitian Hibah*, 1(1), 118-130. <https://doi.org/10.22236/psd/11118-13065>
- Effendi, N., Aminah, Ritawidya, R., Faradiba, & Yuliana, D. (2022). *Sintesis Senyawa Osimertinib Teriodinasi Terkonjugasi Peptida (PDC) Sebagai Kandidat Agen Terapi Kanker Paru Tipe NSCLC* (M. Nasrudin, Ed.). Penerbit NEM.
- Effendi, N., Mishiro, K., Takarada, T., Makino, A., Yamada, D., Kitamura, Y., Shiba, K., Kiyono, Y., Odani, A., & Ogawa, K. (2018). Radiobrominated Benzoimidazole-Quinoline Derivatives as Platelet-Derived Growth Factor Receptor Beta (PDGFR β) Imaging Probes. *Sci Rep*, 8(1), 10369. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-28529-0>
- Effendi, N., Mishiro, K., Takarada, T., Yamada, D., Nishii, R., Shiba, K., Kinuya, S., Odani, A., & Ogawa, K. (2019). Design, Synthesis, and Biological Evaluation of Radioiodinated Benzo[d]Imidazole-Quinoline Derivatives for Platelet-Derived Growth Factor Receptor Beta (PDGFR β) Imaging. *Bioorg Med Chem*, 27(2), 383-393. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2018.12.016>
- Effendi, N., Ogawa, K., Mishiro, K., Takarada, T., Yamada, D., Kitamura, Y., Shiba, K., Maeda, T., & Odani, A. (2017). Synthesis and evaluation of radioiodinated 1-2-[5-(2-methoxyethoxy)-1H-benzo[d]imidazol-1-

yl]quinolin-8-ylpiperidin-4-amine derivatives for platelet-derived growth factor receptor beta (PDGFRbeta) imaging. *Bioorg Med Chem*, 25(20), 5576-5585. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2017.08.025>

Faridah, F., Mumpuni, E., & Yunanto, Y. I. (2019). In-silico Analysis of Chemical Compounds in Green Tea Working on Activators PPAR- γ as Antiobesity. *JURNAL ILMU KEFARMASIAN INDONESIA*, 17(2), 251-254. <https://doi.org/10.35814/jifi.v17i2.763>

Hartanti, I. R., Putri, A. A., Auliya AS, N. N., Triadenda, A. L., Laelasari, E., Suhandi, C., & Muchtaridi, M. (2022). Molecular Docking Senyawa Xanton, Benzofenon, dan Triterpenoid sebagai Antidiabetes dari Ekstrak Tumbuhan *Garcinia cowa*. *Jurnal Kimia (Journal of Chemistry)*, 16(1), 72-83. <https://doi.org/10.24843/JCHEM.2022.v16.i01.p10>

Hasibuan, B., Ermayanti, S., & Afriani. (2021). Pemeriksaan Radionuklir Pada Penyakit Paru. *Jurnal Human Care*, 6(3), 603-615.

Joseph, J., & Rotty, L. W. A. (2020). Kanker Paru: Laporan Kasus. *Medical Scope Journal (MSJ)*, 2(1), 17-25. <https://doi.org/10.35790/msj.2.1.2020.31108>

Kesuma, D., Siswandono, S., Purwanto, B. T., & Hardjono, S. (2018). Uji in silico Aktivitas Sitotoksik dan Toksisitas Senyawa Turunan N-(Benzoil)-N'-feniltiourea Sebagai Calon Obat Antikanker. *Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 3(1), 1-11. <https://doi.org/10.20961/jpscr.v3i1.16266>

Krihariyani, D., Haryanto, E., & Sasongkowati, R. (2021). In Silico Analysis of Antiviral Activity and Pharmacokinetic Prediction of Brazilein Sappan Wood

- (*Caesalpinia sappan* L.) Against SARS-CoV-2 Spike Glycoproteins. *Indonesian Journal of Medical Laboratory Science and Technology*, 3(1), 26-37. <https://doi.org/10.33086/ijmlst.v3i1.1854>
- Makatita, F. A., Wardhani, R., & Nuraini. (2020). Riset In Silico Dalam Pengembangan Sains Di Bidang Pendidikan, Studi Kasus: Analisis Potensi Cendana sebagai Agen Anti-Aging. *Jurnal Abdi*, 2(1), 59-67.
- Mishiro, K., Nishii, R., Sawazaki, I., Sofuku, T., Fuchigami, T., Sudo, H., Effendi, N., Makino, A., Kiyono, Y., Shiba, K., Taki, J., Kinuya, S., & Ogawa, K. (2022). Development of Radiohalogenated Osimertinib Derivatives as Imaging Probes for Companion Diagnostics of Osimertinib. *J Med Chem*, 65(3), 1835-1847. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.1c01211>
- Mulyati, B., & Panjaitan, R. S. (2021). Studi Penambatan Molekul Flavonoid Pada Reseptor α -Glukosidase menggunakan PLANTS. *Jurnal Kimia Mulawarman*, 18(2), 68-76. <https://doi.org/10.30872/jkm.v18i2.1004>
- Pires, D. E., Blundell, T. L., & Ascher, D. B. (2015). pkCSM: Predicting Small-Molecule Pharmacokinetic and Toxicity Properties Using Graph-Based Signatures. *J Med Chem*, 58(9), 4066-4072. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b00104>
- Purnamawati, P., Tandrian, C., Sumbayak, E. M., & Kertadajaja, W. (2021). Tinjauan Pustaka: Analisis Kejadian Kanker Paru Primer di Indonesia pada Tahun 2014-2019. *Jurnal Kedokteran Meditek*, 27(1), 164-172.
- Purnomo, H. (2013). *Kimia Komputasi untuk Farmasi dan Ilmu Terkait: Uji In Siliko Senyawa Antikanker*. Pustaka Pelajar.

- Raies, A. B., & Bajic, V. B. (2016). In Silico Toxicology: Computational Methods for The Prediction of Chemical Toxicity. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science*, 6(2), 147-172. <https://doi.org/10.1002/wcms.1240>
- Ramalingam, S. S., Vansteenkiste, J., Planchard, D., Cho, B. C., Gray, J. E., Ohe, Y., Zhou, C., Reungwetwattana, T., Cheng, Y., Chewaskulyong, B., Shah, R., Cobo, M., Lee, K. H., Cheema, P., Tiseo, M., John, T., Lin, M.-C., Imamura, F., Kurata, T., . . . Investigators, F. (2020). Overall Survival with Osimertinib in Untreated, EGFR-Mutated Advanced NSCLC. *The New England Journal of Medicine*, 382(1), 41-50. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1913662>
- Rena, S. R., Nurhidayah, N., & Rustan, R. (2022). Analisis Molecular Docking Senyawa Garcinia Mangostana L Sebagai Kandidat Anti SARS-CoV-2. *Jurnal Fisika Unand*, 11(1), 82-88.
- Rizki, R. A., & Ermayanti, S. (2018). Hubungan Staging Kanker Paru dengan Skala Nyeri pada Pasien Kanker Paru yang Dirawat di Bagian Paru RSUP DR M Djamil Padang. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 7(3).
- Rosilawati, E., Nasution, I., & Wahyu, T. (2017). Penggunaan Radiofarmaka Untuk Diagnosa dan Terapi di Indonesia dan Asas Keamanan Penggunaan Obat. *Jurnal Hukum Kesehatan*, 3(1).
- Ruswanto. (2015). Molecular Docking Empat Turunan Isonicotinohydrazide pada Mycobacterium Tuberculosis Enoyl-Acyl Carrier protein Reductase (InhA). *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada*, 13(1), 135-141.

- Siegel, R. L., Miller, K. D., & Jemal, A. (2020). Cancer statistics. *CA Cancer J Clin*, 70(1), 7-30. <https://doi.org/10.3322/caac.21590>
- Sun, X., Xiao, Z., Chen, G., Han, Z., Liu, Y., Zhang, C., Sun, Y., Song, Y., Wang, K., Fang, F., Wang, X., Lin, Y., Xu, L., Shao, L., Li, J., Cheng, Z., Gambhir, S. S., & Shen, B. (2018). A PET Imaging Approach for Determining EGFR Mutation Status for Improved Lung Cancer Patient Management. *Sci Transl Med*, 10(431). <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aan8840>
- Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., & Bray, F. (2021). Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin*, 71(3), 209-249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
- Syahputra, G., Ambarsari, L., & Sumaryada, T. (2014). Simulasi Docking Kurkumin Enol, Bisdemetoksikurkumin dan Analognya sebagai Inhibitor Enzim 12-lipoksigenase. *Jurnal Biofisika*, 10(1), 55-67.
- Wadood, A., Ahmed, N., Shah, L., Ahmad, A., Hassan, H., & Shams, S. (2013). In-silico Drug Design: An Approach Which Revolutionarised The Drug Discovery Process. *Drug design and delivery*, 1.
- Wang, S., Shi, J., Ye, Z., Dong, D., Yu, D., Zhou, M., Liu, Y., Gevaert, O., Wang, K., Zhu, Y., Zhou, H., Liu, Z., & Tian, J. (2019). Predicting EGFR Mutation Status in Lung Adenocarcinoma on Computed Tomography Image Using Deep Learning. *Eur Respir J*, 53(3). <https://doi.org/10.1183/13993003.00986-2018>

- Wardani, N. S., Mita, N., & Masruhim, M. A. (2018). Simulasi Docking Beberapa Senyawa Turunan 3,3',4',5,7-pentahidroksi Flavon terhadap Aktivitas Enzim COX-2. *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*, 8(1), 156-160.
- Wu, S., Luo, M., To, K. K. W., Zhang, J., Su, C., Zhang, H., An, S., Wang, F., Chen, D., & Fu, L. (2021). Intercellular Transfer of Exosomal Wild Type EGFR Triggers Osimertinib Resistance in Non-Small Cell Lung Cancer. *Mol Cancer*, 20(1), 17. <https://doi.org/10.1186/s12943-021-01307-9>
- Wulandari, F., Utami, W., Rohana, E., & Prabhata, W. R. (2021). Efikasi Terapi Epidermal Growth Factor Receptor-Tyrosine Kinase Inhibitor (EGFR-TKIs) pada Kanker Paru Efficacy of Epidermal Growth Factor Receptor-Tyrosine Kinase Inhibitor (EGFR-TKIs) Therapy in Lung Cancer. *Generics: Journal of Research in Pharmacy*, 1(1), 25-33. <https://doi.org/10.14710/genres.v1i1.9870>
- Yeh, S. H., Lin, M. H., Leo Garcia, F., II, Mukhopadhyay, U., Young, D., Ogawa, K., Jeong, J. H., Tong, W., Gelovani, J. G., & Fukumitsu, N. (2021). In Vivo Evaluation of the Combined Anticancer Effects of Cisplatin and SAHA in Nonsmall Cell Lung Carcinoma Using [¹⁸F]FAHA and [¹⁸F]FDG PET/CT Imaging. *Mol Imaging*, 2021, 6660358. <https://doi.org/10.1155/2021/6660358>

Tentang Penulis



apt. Nurmaya Effendi, S.Si., M.Sc., Ph.D., adalah dosen di Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Indonesia sejak tahun 2006. Penulis menempuh pendidikan tinggi mulai dari S-1 di Program Studi Ilmu Farmasi (2000-2004) dan Profesi Apoteker (2004-2005) Universitas Hasanuddin, S2 (2009-2011) di Universitas Gadjah Mada (UGM), dan S3 (2014-2017) di Kanazawa University, Jepang. Fokus riset penulis saat ini adalah penemuan obat (*drug discovery*), desain obat (*drug desain*), dan pengembangan probes untuk diagnosa dan terapi penyakit degeneratif berbasis molekul kecil maupun peptida. Pendanaan penelitian sebagai Principal Investigator (PI) baik skala nasional maupun internasional telah dimenangkan oleh penulis untuk mendukung riset yang sedang digeluti. Beberapa karya tulis ilmiah penulis telah dimuat dalam berbagai jurnal internasional bereputasi maupun jurnal nasional terakreditasi SINTA. Jalin kerja sama dengan penulis via surel nurmaya82@gmail.com atau nurmaya.effendi@umi.ac.id.



Anil Aryandi, S.Farm., lahir di Noling, 4 Maret 2002. Saat ini penulis tinggal di Noling, Kabupaten Luwu, Sulawesi Selatan. Pendidikan tinggi ditempuh S-1 di fakultas Farmasi Universitas Muslim Indonesia (UMI) Makassar (lulus 2023). Aktivitas penulis saat ini menjadi asisten laboratorium Kimia Farmasi UMI dan laboratorium

Farmakologi, Fakultas Farmasi UMI. Selama studi penulis aktif di berbagai organisasi kampus seperti BEM dan BLM. Penulis juga pernah mengikuti pelatihan online tentang *In Silico* dan Pengaplikasian *Software* dalam Molecular Docking Kandidat Obat Baru. Jalin kerja sama dengan penulis via surel anilaryandi170@gmail.com.



Aminah, S.Farm., M.Sc., lahir di Sorong, 27 Oktober 1987. Saat ini penulis tinggal di Moncongloe, Kabupaten Maros, Sulawesi Selatan. Pendidikan tinggi ditempuh mulai dari S-1 di Fakultas Farmasi Universitas Muslim Indonesia (UMI) Makassar (lulus 2009), pascasarjana di Universitas Gadjah Mada (UGM) di Yogyakarta dengan magister sains dan teknologi (lulus 2015). Aktivitas penulis saat ini selain mengajar pada jenjang sarjana di Fakultas Farmasi UMI, penulis juga aktif di pengurusan KAHMI Rayon UMI Periode 2022-2026, serta pengurus di MASIKA ICMI Provinsi Sulawesi Selatan periode 2022-2026. Jalin kerja sama dengan penulis via surel aminah.aminah@umi.ac.id.



Virtual Screening Derivat Osimertinib Terhalogenasi sebagai Kandidat Inhibitor EGFR Bermutasi pada Kanker Paru Tipe NSCLC

Kanker paru merupakan penyakit kanker yang menyerang pria maupun wanita di seluruh dunia dengan angka kematian cukup tinggi. Pada tahun 2020, tingkat kematian akibat kanker paru mencapai 11,4% dari semua kematian terkait kanker. Terbatasnya kapasitas deteksi dini pada layanan kesehatan primer, masih rendahnya akses pasien terhadap pengobatan yang spesifik sesuai tipe kanker paru dan keterbatasan akses pada pemeriksaan biomarker kanker paru, dan angka kejadian mutasi pada reseptor yang dioverekspresikan sel kanker paru tipe NSCLC, yaitu EGFR teridentifikasi menjadi penyebab utama dari besarnya angka kematian akibat kanker paru tersebut.

Karena tingginya kasus mutasi akibat penggunaan EGFR TKI jangka panjang sehingga kami mencoba mendesain dan mengeksplorasi kandidat ligan baru yang dimanfaatkan sebagai agen diagnosa atau terapi kanker paru NSCLC dengan status mutasi EGFR. Dalam monograf ini kami menginvestigasi interaksi molekular desain derivat Osimertinib terhalogenasi dengan molekular target EGFR mutasi L858R/T790M menggunakan pendekatan *in silico* dengan software PLANTS beserta memprediksi sifat farmakokinetik dan toksisitas desain analog Osimertinib terhalogenasi tersebut, yaitu absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi, dan toksisitasnya (ADME-T) ketika kandidat obat tersebut masuk ke dalam tubuh. Riset ini sebagai salah satu upaya dalam mengembangkan kandidat inhibitor EGFR dengan mutasi L858R/T790M pada kanker paru tipe NSCLC.

Monograf ini tersaji dalam lima bab, yaitu pendahuluan (Bab 1), *Molekular Docking* dalam *Drug Discovery* (Bab 2), *Molekular Docking* Derivat Osimertinib Terhalogenasi (Bab 3), *Molekular Docking* Derivat Osimertinib Terhalogenasi sebagai Kandidat Inhibitor EGFR Bermutasi L858R/T790M (Bab 4), dan kesimpulan (Bab 5).

Dengan diterbitkannya monograf ini diharapkan dapat menjadi motivasi positif bagi mahasiswa, dosen, maupun insan peneliti Indonesia dalam mengembangkan senyawa-senyawa kandidat melalui pendekatan *in silico* agen diagnosa dan terapi penyakit kanker paru dalam rangka membantu program pemerintah mewujudkan kemandirian industri obat dan alat kesehatan di Indonesia. Semoga monograf ini bermanfaat untuk kemaslahatan kita semua.