

STUDI IN SILICO POTENSI ANTI KANKER SENYAWA TURUNAN KUMARIN TERHADAP PROTEIN BCL-2

Desi Dwirosalia NS^{1,2}, Ika Yustisia³, Aryadi Arsyad⁴, Rosdiana Natsir⁵, M Husni Cangara⁶, Ilhamjaya Patellongi⁷

¹ Program Studi Ilmu Biomedik, Sekolah Pasca Sarjana, Universitas Hasanuddin, Makassar

² Departemen Biokimia, Fakultas kedokteran, Universitas Bosowa, Makassar

³ Program Studi Ilmu Biomedik, Sekolah Pasca Sarjana, Universitas Hasanuddin, Makassar

⁴ Departemen Fisiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Hasanuddin, Makassar

⁵ Departemen Biokimia, Fakultas Kedokteran, Universitas Hasanuddin, Makassar

⁶ Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Hasanuddin, Makassar

⁷ Departemen Fisiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Hasanuddin, Makassar

ABSTRAK

Mutasi pada protein anti-apoptosis BCL-2 merupakan salah satu penyebab terjadinya kanker payudara. Beberapa studi in vitro telah menunjukkan bahwa Eupatorium triplinerve Vahl, yang mengandung flavonoid, timohidrokuinon, terpenoid, karoten, vitamin C, stigmasterol, dan kumarin memiliki efek sitotoksik terhadap sel kanker payudara. Kumarin telah dilaporkan oleh berbagai penelitian berperan dalam berbagai jalur penghambatan terjadinya kanker. Tujuan penelitian ini adalah untuk melakukan dan menilai docking dari turunan senyawa kumarin yang terdapat pada tanaman Eupatorium triplinerve Vahl, yakni ayapanin dan ayapin, terhadap protein BCL-2. Docking dilakukan dengan menggunakan program command Autodock Vina pada personal computer (PC) dengan sistem operasi Windows 10 64-bit. Struktur protein BCL-2 dengan kode PDB 6QGG diunduh dari RCSB Protein Data Bank dan struktur 3D dari ayapanin dan ayapin diambil dari situs PubChem. Proses molekuler docking dilakukan secara bertahap dari penyiapan ligan dan protein, validasi metode docking, proses docking, hingga analisis data. Energi ikatan yang diperoleh dari docking antara senyawa ayapanin dan ayapin terhadap protein BCL-2 adalah -6.3 kcal/mol dan -6.9 kcal/mol dibandingkan dengan energi ikatan ligan bawaan, yakni -10.3 pada kantung aktif yang sama. Dengan demikian, ayapanin dan ayapanin memiliki potensi sebagai senyawa inhibitor protein anti-apoptosis BCL-2.

Kata Kunci :

Kumarin, Kanker, Bcl-2, Docking

PENDAHULUAN

Kanker merupakan salah satu penyakit tidak menular dengan angka kejadian dan kematian yang semakin tinggi setiap tahunnya di hampir seluruh negara.(1) Sumber Globocan 2020 mencatat terdapat sekitar 19 juta kasus kanker diseluruh dunia dengan angka kematian yang mencapai hampir 10 juta jiwa.(2) Di Indonesia, angka kejadian kanker payudara merupakan menduduki urutan pertama diikuti dengan kanker serviks dan kanker paru-paru dengan angka kejadian mencapai sekitar 400 ribu pada tahun 2020.(3)

Kemoterapi masih menjadi metode yang sering digunakan untuk mengobati berbagai kanker, disamping berbagai terapi lain yang telah ada saat ini seperti operasi, terapi radiasi, imunoterapi, terapi endokrin, dan terapi gen. (4) Namun, kemoterapi belum mampu bekerja sesuai harapan akibat adanya efek sitotoksik terhadap sel-sel sehat dan juga muncul resistensi obat baik yang bersifat monoterapi maupun multiterapi. Oleh sebab itu, berbagai penelitian yang ada saat ini dikembangkan untuk mencari senyawa baru, terutama yang berasal dari tanaman, yang dapat berperan dalam pengobatan kanker. (5)

Tanaman Prasman (Eupatorium triplinerve Vahl) merupakan salah satu tanaman obat tradisional dari keluarga Asteraceae yang banyak ditemukan di negara-negara Asia Tenggara, India, dan Hawaii.(6,7) Daun tanaman ini sejak lama digunakan untuk pengobatan laksatif, antikoagulan, stimulan jantung, dan penyakit kuning.(7) Penelitian di Asia Tenggara (2018)

menunjukkan ekstrak etanol daun Prasman memiliki efek sitotoksik terhadap sel kanker payudara MCF-7.(8) Beberapa penelitian menyatakan Eupatorium triplinerve Vahl mengandung beberapa senyawa fitokimia, yakni flavonoid, timohidrokuinon, terpenoid, karoten, vitamin C, stigmasterol, dan kumarin.(6,7,9)

Kumarin termasuk dalam kelompok benzopiron, dimana cincin benzene pada senyawa ini bergabung pada cincin piron. Senyawa ini memiliki sifat sitostatik maupun sitotoksik. (10) Berbagai penelitian melaporkan bahwa kumarin berperan sebagai anti kanker melalui berbagai jalur penghambatan, diantaranya mampu menghambat enzim kinase, mengistirahatkan siklus sel, menghambat angiogenesis, menghambat heat shock protein (HSP 90), menghambat telomerase, aktivitas anti mitosis, menghambat kerja enzim karbonik anhidrase, menghambat transporter monokarboksilase, menghambat enzim aromatase dan sulfatase. (11) Penelitian Huong et al melaporkan daun Prasman mengeluarkan bau khas kumarin dan ditemukan isolat ayapanin (herniarin, 7-metoksikumarin) dan ayapin (6,7-methylenedioksikumarin).(7) Ayapanin dan ayapin dilaporkan bersifat sitotoksik terhadap sel kanker, termasuk sel kanker resisten obat, penghambat aktivitas bakteri, serangga, serta virus, dan memiliki efek hemostatik dan berperan dalam proses koagulasi darah.(8) Kolodziej et al (1997) melaporkan nilai IC 50 senyawa ayapanin dan ayapin terhadap sel kanker kolorektal COLO 320 berturut-turut adalah 123 μ M dan 200

Masuk 27-04-2021

Revisi 12-07-2021

Diterima 18-08-2021

DOI: 10.20956/mff.v25i2.13648

Korespondensi

Desi Dwirosalia NS

suparmanddn19p@student.unhas.ac.id

Copyright

© 2021 Majalah Farmasi

Farmakologi Fakultas Farmasi - Makassar

Diterbitkan tanggal

30 Agustus 2021

Dapat Diakses Daring Pada:

<http://journal.unhas.ac.id/index.php/mff>



M. (12) Tanaman ini mengandung polifenol spesifik seperti senyawa ayapanin, ayapin, dan timohidrokuinon dimetil eter. (13) Ayapanin dan ayapin termasuk dalam golongan senyawa kumarin sederhana, tetapi perbedaan struktur pada rantai atom karbon nomor 6 dan 7. (14)

Gangguan pada apoptosis yang menjaga keseimbangan antara kehidupan dan kematian sel merupakan pemicu mekanisme karsinogenesis. Penelitian Kerr et al pada awal 1970 memberi kesimpulan bahwa apoptosis memiliki kaitan erat dengan kegagalan eliminasi sel yang berpotensi ganas, terjadinya hiperplasia, dan progresifitas tumor. (15,16) Salah satu jalur pemicu apoptosis adalah jalur intrinsik atau jalur mediasi mitokondria, yang diatur oleh kelompok protein BCL-2. (4) Kelompok protein BCL-2 ini terbagi menjadi dua kelompok. BCL-2, BCL-XL, dan BCL-W merupakan protein yang bersifat anti-apoptosis. Sementara BAX, BAK, BOK adalah protein pro-apoptosis. (17) Kematian seluler ditentukan oleh interaksi seimbang antara berbagai anggota protein pada kedua kelompok ini. (5,17)

Penelitian ini bertujuan untuk menilai interaksi antara turunan senyawa kumarin yang terdapat pada daun *Eupatorium triplinerve* Vahl, yakni ayapanin dan ayapin, terhadap reseptor protein BCL-2 melalui metode molekuler docking. Dasar utama dalam metodologi penelitian ini yakni prediksi konformasi yang dibentuk oleh ligan serta posisinya dan arah orientasi yang terbentuk di dalam sisi ikatan dan derajat afinitas ikatan tersebut. (18,19) Hasil penelitian akan memberikan luaran berupa nilai afinitas derivat kumarin terhadap reseptor BCL-2 sebagai ligan penghambat.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Perangkat keras yang digunakan adalah personal computer (PC) dengan sistem operasi Windows 10 64-bit. Sedangkan perangkat lunak untuk studi kimia komputasi ini antara lain AutodockTools dari MGLTools 1.5.6, AutoDock Vina 1.1.2, PyMol 2.4, dan BIOVIA Discovery Studio. Struktur tiga dimensi makromolekular yang digunakan dalam studi docking ini, BCL-2, diunduh dari RCSB Protein Data Bank (www.rcsb.org) dengan nomor identitas PDB 6QGG. Struktur ligan ayapin (CID 3083597) dan ayapanin (CID 10748) dalam bentuk 3D .sdf diambil dari situs PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>).

Penyiapan Protein dan ligan

Langkah pengunduhan protein diikuti dengan tahap penyiapan dengan menggunakan AutodockTools. Pada tahap ini, dilakukan pemisahan antara rantai A dengan rantai B protein BCL-2 kemudian menghilangkan ligan J1H dan residu-residu non asam amino. Rantai A yang telah dipilih kemudian dioptimasi dengan menghilangkan molekul air yang bisa menghambat ikatan antara ligan uji dan protein reseptor pada *binding pocket* dan menambahkan atom hidrogen yang bersifat polar. Tahap akhir preparasi protein ini adalah mendapatkan file dengan format.pdbqt yang dapat digunakan untuk simulasi *docking*. Ligan 3D ayapin dan ayapanin yang diperoleh dari PubChem dikonversi menggunakan program Pymol dari bentuk .sdf menjadi .pdb. Penyiapan dilanjutkan dengan program AutodockTool untuk menentukan titik-titik rotasi ligan dan menyimpan dalam format .pdbqt.

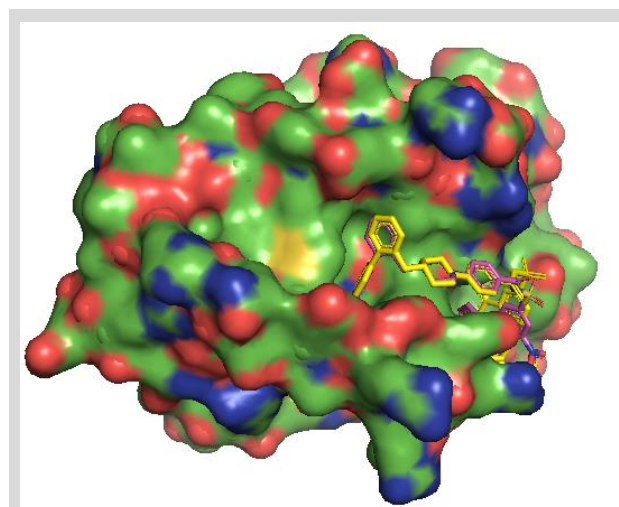
Docking dan Visualisasi Interaksi

Docking antara kedua ligan pada protein BCL-2 dilakukan dengan menggunakan program *command* Autodock Vina dengan *Lamarckian Genetic Algorithm*. Koordinat penambatan antara ayapanin dan BCL-2 adalah $X = -18.089$, $Y = 9.29$, $Z = 0.255$, dengan ukuran *grid box* $40 \times 40 \times 40$. Sedangkan koordinat yang ditentukan untuk *docking* antara ayapin dan protein BCL-2 adalah $X = -18.089$, $Y = 9.29$, $Z = 0.255$, dengan ukuran *grid box* $50 \times 50 \times 50$.

Proses ini diatur untuk menghasilkan delapan pose ligan dan hasilnya diurutkan mulai dari pose dengan afinitas terkecil hingga terbesar. Hasil *docking* akan tersimpan secara otomatis dalam format .pdb. Visualisasi antara kompleks protein dan ligan yang terbentuk dilakukan dengan aplikasi PyMol 2.4 dan BIOVIA Discovery Studio 2021 masing-masing untuk menilai kompleks protein ligan secara 3D dan bentuk 2D disertai dengan ikatan-ikatan yang terbentuk.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Validasi protokol docking ditentukan dengan nilai root mean square distance (RMDS), yakni dengan redocking ligan bawaan, yakni ligan J1H, dari protein BCL-2 ID 6QGG yang telah dipisahkan terlebih dahulu. Nilai RMSD yang diperoleh adalah $1,898 \text{ \AA}$. Nilai ini memenuhi kriteria valid suatu metode docking, yakni $\leq 2 \text{ \AA}$. (20)

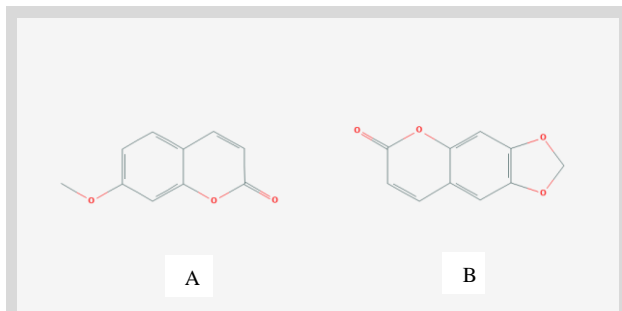


Gambar 1. Validasi metode dengan redocking ligan J1H. Rantai kuning merupakan ligan bawaan J1H, sedangkan warna ungu adalah ligan hasil redocking. Nilai RMSD yang diperoleh adalah $1,898 \text{ \AA}$

Ligan J1H adalah analog senyawa ABT-737, yakni suatu inhibitor dengan berat molekul kecil yang diciptakan untuk bekerja secara langsung menghambat protein anti-apoptosis dari kelompok keluarga BCL-2. (21,22) Visualisasi dengan Pymol memperlihatkan J1H menduduki kantung hidrofobik pada permukaan protein BCL-2. Pada kantung hidrofobik ini terdapat regio BCL-2 homology region 3 (BH3), yakni regio penting yang mengatur kerja protein anti-apoptosis. (21,23)

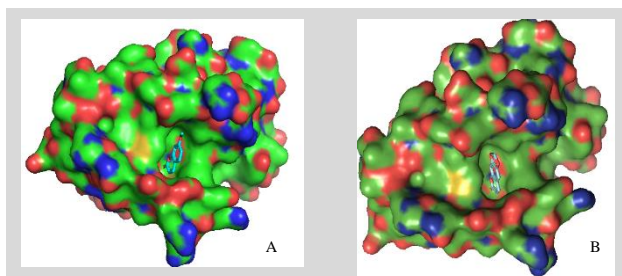
File ligan dalam bentuk .pdb yang diperoleh melalui aplikasi Pymol kemudian dibuka dalam aplikasi AutodockTools untuk

tahap penyiapan selanjutnya. Tahap selanjutnya adalah pengamatan pada titik-titik rotasi pada kedua ligan secara berurutan pada jendela kerja AutodockTools dengan menggunakan menu Torsion Tree. Tahapan ini mendapatkan masing-masing satu posisi torsi aktif untuk ligan ayapanin maupun ayapin.



Gambar 2. Struktur 2D senyawa Ayapanin (A) dan Ayapin (B)

Docking pada konfigurasi grid box kedua ligan dengan menggunakan program command Autodock Vina menghasilkan delapan pose ligand pada binding pocket dan hasilnya diurutkan mulai dari pose dengan afinitas terkecil hingga terbesar. Konformasi kompleks ligan-protein yang dipilih adalah kompleks dengan nilai energi ikatan bebas (ΔG) terkecil dari delapan model kompleks yang terbentuk.



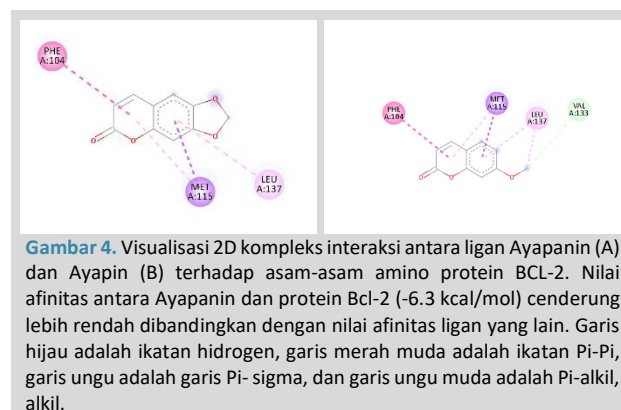
Gambar 3. Visualisasi 3D kompleks interaksi antara ligan Ayapanin (A) dan Ayapin (B) terhadap protein BCL-2 di kantung hidrofobik yang sama

Tabel 1. Hasil docking antara beberapa ligan dan protein BCL-2

Protein Target	Ligan Uji	Afinitas (kcal/mol)	Interaksi	Jarak (Å)	Asam Amino yang Berinteraksi
BCL-2 (PDB ID:6QGG)	Ayapin	-6.9	Pi-sigma	3.68	MET 115
			Pi-Pi	5.16	PHE 104
			Pi-Alkyl	5.43	LEU 137
				4.49	MET 115
	J1H (ligan bawaan)	-10.3	Ikatan hidrogen	3.50	TYR 202
				3.55	ASP 111
				5.13	PHE 104
			Pi-Pi	3.93	TYR 202
				3.83	LEU 137
			Pi-Sigma	5.33	PHE 104
			Pi-Alkyl	5.15	VAL 148
			Alkyl	5.47	ARG 146
				5.42	TYR 108
				5.00	ALA 149
	4.55	PHE 112			
	4.51	MET 115			
	4.81	VAL 156			

Penambatan ligan uji ayapanin dan ayapin pada kantung hidrofobik yang sama dengan kantung J1H, memberikan energi bebas ikatan yang bernilai negatif (ΔG < 0), meskipun nilai ini cenderung lebih besar bila dibandingkan dengan energi bebas ikatan ligan bawaan. Energi bebas ikatan/afinitas ikatan merupakan aspek penting dalam menilai interaksi ligan dan reseptor. Semakin kecil nilai energi bebas ikatan menunjukkan bahwa semakin sedikit energi yang dibutuhkan untuk melakukan pengikatan atau interaksi suatu ligan dengan reseptor. (20) Terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi afinitas ikatan antara ligan dan reseptor. Interaksi elektrostatis, van der Waals, interaksi hidrofobik

adalah faktor penting disamping faktor-faktor lainnya seperti entropi, desolvasi, fleksibilitas struktur reseptor, dan struktur molekul air pada situs ikatan. (24)



Gambar 4. Visualisasi 2D kompleks interaksi antara ligan Ayapanin (A) dan Ayapin (B) terhadap asam-asam amino protein BCL-2. Nilai afinitas antara Ayapanin dan protein Bcl-2 (-6.3 kcal/mol) cenderung lebih rendah dibandingkan dengan nilai afinitas ligan yang lain. Garis hijau adalah ikatan hidrogen, garis merah muda adalah ikatan Pi-Pi, garis ungu adalah garis Pi-sigma, dan garis ungu muda adalah Pi-alkil, alkil.

Formasi docking dengan afinitas terbaik antara ayapanin dan protein BCL-2 membentuk satu ikatan hidrogen dengan asam amino VAL 133 dengan jarak 3.66 Å. Meskipun berbeda dengan posisi ikatan hidrogen J1H yang berada pada TYR 202 dan ASP 111, keberadaan ikatan hidrogen ini memiliki peran penting terhadap afinitas antara senyawa dan protein target karena membentuk interaksi elektrostatis (donor dan akseptor hidrogen) (20,24) Docking ligan ayapin pada reseptor BCL-2 memperlihatkan nilai afinitas yang lebih rendah dibandingkan interaksi ayapanin dan reseptor BCL-2. Ikatan ligan dan reseptor ini diperkuat dengan berbagai interaksi hidrofobik dan van der Waal. Ikatan hidrofobik yang dominan pada interaksi ligan dan reseptor ini melibatkan kontak antara bagian non-polar molekul. Posisi ikatan hidrofobik pada sisi non-polar ini menguntungkan karena menghasilkan entropi sehingga ikatan ini juga penting dalam interaksi ligan dan reseptor. (24) Pengamatan secara umum dari interaksi ketiga ligan dan protein BCL-2 memperlihatkan bahwa asam amino yang sering terlibat dalam interaksi adalah MET 115, PHE 104, dan LEU 137.

KESIMPULAN

Penambatan ligan uji ayapanin dan ayapin pada kantung hidrofobik yang sama dengan kantung J1H, memberikan energi bebas ikatan yang bernilai negatif (ΔG < 0), meskipun nilai ini cenderung lebih besar bila dibandingkan dengan energi bebas ikatan ligan bawaan. Energi bebas ikatan/afinitas ikatan merupakan aspek penting dalam menilai interaksi ligan dan reseptor. Semakin kecil nilai energi bebas ikatan menunjukkan bahwa semakin sedikit energi yang dibutuhkan untuk melakukan pengikatan atau interaksi suatu ligan dengan reseptor. (20) Terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi afinitas ikatan antara ligan dan reseptor. Interaksi elektrostatis, van der Waals, interaksi hidrofobik adalah faktor penting disamping faktor-faktor lainnya seperti entropi, desolvasi, fleksibilitas struktur reseptor, dan struktur molekul air pada situs ikatan. (24)

Formasi docking dengan afinitas terbaik antara ayapanin dan protein BCL-2 membentuk satu ikatan hidrogen dengan asam amino VAL 133 dengan jarak 3.66 Å. Meskipun berbeda dengan posisi ikatan hidrogen J1H yang berada pada TYR 202 dan ASP 111, keberadaan ikatan hidrogen ini memiliki peran penting terhadap afinitas antara senyawa dan protein target karena membentuk interaksi elektrostatis (donor dan akseptor hidrogen) (20,24) Docking ligan ayapin pada reseptor BCL-2 memperlihatkan nilai afinitas yang lebih rendah dibandingkan interaksi ayapanin dan reseptor BCL-2. Ikatan ligan dan reseptor ini diperkuat dengan berbagai interaksi hidrofobik dan van der Waal. Ikatan hidrofobik yang

dominan pada interaksi ligan dan reseptor ini melibatkan kontak antara bagian non-polar molekul. Posisi ikatan hidrofobik pada sisi non-polar ini menguntungkan karena menghasilkan entropi sehingga ikatan ini juga penting dalam interaksi ligan dan reseptor. (24) Pengamatan secara umum dari interaksi ketiga ligan dan protein BCL-2 memperlihatkan bahwa asam amino yang sering terlibat dalam interaksi adalah MET 115, PHE 104, dan LEU 137.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kepada Puskesmas Tlogosari Kulon Kota Semarang dan LPPM Universitas Islam Sultan Agung di Kota Semarang

DAFTAR PUSTAKA

1. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global Cancer Statistics 2018: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin*. 2018;68(6):394-424.
2. International Agency for Research on Cancer(IARC). Global Cancer Observatory [Internet]. Globocan. 2020. Available from: <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/900-world-fact-sheets.pdf>
3. International Agency for Research on Cancer (IARC). Indonesia - Global Cancer Observatory [Internet]. Vol. 858, Globocan. 2020. Available from: <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/360-indonesia-fact-sheets.pdf>
4. Bukowski K, Kciuk M, Kontek R. Mechanisms of Multidrug Resistance in Cancer Chemotherapy. *Int J Mol Sci*. 2020;21(9).
5. Khorsandi L , Orazizadeh M , Niazvand F , Abbaspour MR , Mansouri E KA. Quercetin Induces Apoptosis and Necroptosis in MCF-7 Breast Cancer Cells. *Bratisl Med J*. 2017;118(2):123-8.
6. Melo AS, Monteiro MC, Da Silva JB, De Oliveira FR, Vieira JLF, De Andrade MA, et al. Antinociceptive, Neurobehavioral and Antioxidant Effects of Eupatorium triplinerve Vahl on Rats. *J Ethnopharmacol* [Internet]. 2013;147(2):293-301. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2013.03.002>
7. Huong DTV, Giang PM, Trang VM. Coumarins and Polar Constituents from Eupatorium triplinerve and Evaluation of Their α -Glucosidase Inhibitory Activity. *J Chem*. 2020;2020(15).
8. Pooten EE, Oyong GG, Cruz KGJ. Philippine Ethnobotanicals Show Anti-Proliferative and Cytotoxic Activities in Human Breast Cancer Cells (MCF-7). *IntJBiosci*. 2018;13(5):239-51.
9. Munte L, Runtuwene MR, Citraningtyas G. Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Daun Prasman (Eupatorium triplinerve Vahl). *Pharmacon*. 2015;4(3):41-50.
10. Klenkar J, Molnar M. Natural and Synthetic Coumarins as Potential Anticancer Agents. *J Chem Pharm Res* [Internet]. 2015;7(7):1223-38. Available from: <http://jocpr.com/vol7-iss7-2015/JCPR-2015-7-7-1223-1238.pdf>
11. Thakur A, Singla R, Jaitak V. Coumarins as anticancer agents: A review on synthetic strategies, mechanism of action and SAR studies. *Eur J Med Chem* [Internet]. 2015;101:476-95. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejmech.2015.07.010>
12. Kolodziej H, Kayser O, Woerdenbag HJ, van Uden W, Pras N. Structure - Cytotoxicity Relationships of a Series of Natural and Semi-Synthetic Simple Coumarins as Assessed in Two Human Tumour Cell Lines. *Zeitschrift fur Naturforsch - Sect C J Biosci*. 1997;52(3-4):240-4.
13. Checkouri E, Reigner F, Silva CR Da, Meilhac O. Evaluation of Polyphenol Content and Antioxidant Capacity of Aqueous Extracts from Eight Medicinal Plants from Reunion Island: Protection Against Oxidative Stress in Red Blood Cells and Preadipocytes. *Antioxidants*. 2020;9(10):1-21.
14. Penta S. Advances in Structure and Activity Relationship of Coumarin Derivatives. *Advances in Structure and Activity Relationship of Coumarin Derivatives*. 2015. 1-182 p.
15. Tor YS, Yazan LS, Foo JB, Wibowo A, Ismail N, Cheah YK, et al. Induction of Apoptosis in MCF-7 Cells via Oxidative Stress Generation, Mitochondria-Dependent and Caspase-Independent Pathway by Ethyl Acetate Extract of *Dillenia suffruticosa* and Its Chemical Profile. *PLoS One*. 2015;10(6):1-25.
16. Jan R, Chaudhry Gul-e-Saba. Understanding Apoptosis and Apoptotic Pathways Targeted Cancer Therapeutics. *Adv Pharm Bull* [Internet]. 2019;9(2):205-18. Available from: <http://dx.doi.org/10.15171/jcvtr.2015.24>
17. Kale J, Osterlund EJ, Andrews DW. BCL-2 Family Oroteins: Changing Partners in The Dance Towards Death. *Cell Death Differ* [Internet]. 2018;25(1):65-80. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/cdd.2017.186>
18. Torres PHM, Sodero ACR, Jofily P, Silva-Jr FP. Key Topics in Molecular Docking for Drug Design. *Int J Mol Sci*. 2019;20(18):1-29.
19. Dar AM, Mir S. Molecular Docking: Approaches, Types, Applications and Basic Challenges. *J Anal Bioanal Tech*. 2017;08(02):8-10.
20. Muttaqin FZ. Molecular Docking and Molecular Dynamic Studies of Stilbene Derivative Compounds As Sirtuin-3 (Sirt3) Histone Deacetylase Inhibitor on Melanoma Skin Cancer and Their Toxicities Prediction. *J Pharmacopolium*. 2019;2(2):112-21.
21. Kline MP, Rajkumar S V., Timm MM, Kimlinger TK, Haug JL, Lust JA, et al. ABT-737, An Inhibitor of Bcl-2 Family Proteins, is A Potent Inducer of Apoptosis in Multiple Myeloma Cells. *Leukemia*. 2007;21(7):1549-60.
22. Murray JB, Davidson J, Chen I, Davis B, Dokurno P, Graham CJ, et al. Establishing Drug Discovery and Identification of Hit Series for the Anti-apoptotic Proteins, Bcl-2 and Mcl-1. *ACS Omega*. 2019;4(5):8892-906.
23. Petros AM, Olejniczak ET, Fesik SW. Structural Biology of the Bcl-2 Family of Proteins. *Biochim Biophys Acta - Mol Cell Res*. 2004;1644(2-3):83-94.
24. Haider MK. Computational Analyses of Protein-Ligand Interaction [Internet]. University of York; 2010. Available from: https://theses.whiterose.ac.uk/1242/2/thesis_final_mkh_updated.pdf