



RESEARCH ARTICLE

UJI *IN SILICO* TURUNAN KUERSETIN SEBAGAI PENURUN KOLESTEROL LDL DARI KULIT JERUK MANIS (*Citrus sinensis*)

Ela Komalasari¹, Susanti¹, Richa Mardianingrum^{1*}

¹Program Studi Farmasi; Universitas Perjuangan Tasikmalaya, Jl. Peta 177 Tasikmalaya 46115

*e-mail korespondensi: richamardianingrum@unper.ac.id

Article History

Received:

13 September 2023

Accepted:

13 Agustus 2024

Published:

15 Agustus 2024

ABSTRAK

Kadar kolesterol dengan jumlah yang tinggi dapat mengakibatkan risiko penyakit tidak menular seperti jantung, stroke, dan diabetes mellitus. Senyawa kuersetin yang berasal dari kulit jeruk manis memiliki potensi sebagai penurun kadar kolesterol. Penelitian ini bertujuan untuk mencari kandidat obat dari senyawa turunan kuersetin sebagai penurun kadar kolesterol. Penelitian ini dilakukan secara *in silico* meliputi penambatan molekul serta simulasi dinamika molekul. Hasil penelitian ligan yang memiliki interaksi stabil yaitu *Tamarixetin* dengan nilai ikatan total pada MM-GBSA -19,24 kkal/mol dibandingkan dengan senyawa pembanding atorvastatin sebesar 16,73 kkal/mol. Dapat disimpulkan ligan *Tamarixetin* diprediksi dapat digunakan sebagai obat penurun kadar kolesterol dan *Tamarixetin* memiliki nilai energi bebas ikatan total (ΔG_{TOTAL}) -19,24 kkal/mol yang lebih rendah dibandingkan dengan senyawa *Quercetin-3-O- α -D-arabinofuranosid* dan obat pembanding atorvastatin, sehingga *Tamarixetin* lebih baik sebagai kandidat obat penurun kadar kolesterol.

Kata kunci: *In silico*, kolesterol, kuersetin, kulit jeruk manis, reseptor

ABSTRACT

High cholesterol levels can lead to non-communicable diseases such as heart disease, stroke, and diabetes mellitus. Quercetin compounds derived from sweet orange peel have potential as cholesterol-lowering agents. This study aims to find drug candidates from quercetin derivatives as cholesterol-lowering agents. The research was conducted *in silico*, including molecular docking and molecular dynamics simulations. The results showed that the ligand with stable interactions was *Tamarixetin*, with a total binding energy value of -19.24 kcal/mol compared to the comparator compound atorvastatin, which has a value of 16.73 kcal/mol. It can be concluded that *Tamarixetin* is predicted to be used as a cholesterol-lowering drug, and *Tamarixetin* has a lower total free binding energy (ΔG_{TOTAL}) of -19.24 kcal/mol compared to *Quercetin-3-O- α -D-arabinofuranoside* and the comparator drug atorvastatin, making *Tamarixetin* a better candidate for a cholesterol-lowering drug.

Keywords: Cholesterol, *in silico*, quercetin, receptors, sweet orange peel

©Komalasari *et al.*
This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

PENDAHULUAN

Hiperkolesterolemia merupakan salah satu penyakit gangguan metabolisme kolesterol yang disebabkan oleh kadar kolesterol dalam darah yang melebihi batas normal (Lainsampetty and Gerungan, 2022). Menurut data dari *American Heart Association* (AHA) tahun 2021 menyebutkan bahwa 31,9 juta dari 13,8% populasi dewasa di Amerika yang berusia lebih dari 20 tahun memiliki kadar kolesterol serum total ≥ 240 mg/dl, data dari Kementerian Kesehatan di Indonesia kasus kolesterol tinggi pada setiap tahunnya mengalami peningkatan, pada tahun 2000 kasus kolesterol tinggi terus melonjak hingga pada tahun 2022 dinyatakan penderita kolesterol mencapai 28% dan kasus kematian akibat tingginya kadar kolesterol diperkirakan 7,9% (Susanti *et al.*, 2022).

Hiperkolesterolemia pada umumnya dapat dikendalikan dengan diet, olah raga dan terapi obat salah satu obatnya yaitu atorvastatin, yang telah diketahui sangat efektif menurunkan kolesterol LDL, dengan mekanisme kerja menghambat enzim H idroksimetil glutaryl-CoA atau HMG-CoA reduktase sampai menjadi asam mevalonat sehingga menghambat pembentukan kolesterol endogen, namun atorvastatin banyak dilaporkan pada penggunaan jangka panjang menimbulkan efek samping seperti sakit perut, diare, perut kembung, mual, infeksi saluran kemih, myalgia, lemas dan radang tenggorokan (Novita *et al.*, 2018). Adanya efek samping yang ditimbulkan menyebabkan orang mencari obat alternatif yang mempunyai kemampuan menghambat enzim hidrosimetilglutaryl-CoA atau HMG-CoA reduktase salah satunya adalah buah jeruk (*Citrus sinensis*) dimana kandungan ekstrak

etanol dari kulit buah jeruk dapat digunakan sebagai penurun kolesterol dengan menghambat enzim HMG-CoA reduktase (Dari, 2020).

Ekstrak etanol dari kulit jeruk manis mengandung senyawa flavonoid kuersetin dengan nilai flavonoid total sebesar 9,34 mg/g QE (*Quercetin equivalent*) (Muhtadi et al., 2014) yang penting dalam menurunkan kadar kolesterol LDL dengan cara mengurangi sintesis kolesterol dalam menghambat aktivitas enzim HMG-CoA reduktase (Zhang et al., 2011).

Perlu dilakukannya studi lanjutan mengenai senyawa turunan kuersetin secara uji *in silico* digunakan untuk mengetahui senyawa turunan kuersetin sebagai penurun kadar kolesterol yang belum dilakukan pada penelitian sebelumnya. *In Silico* merupakan istilah untuk percobaan atau uji simulasi yang dilakukan dengan media komputer dengan cara menambahkan molekul (Dzaky et al., 2022).

METODE PENELITIAN

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari perangkat keras berupa laptop bermerek infinix dengan spesifikasi prosesor intel core i3 plus 64 EU, dengan RAM 8 GB dan PC Intel® Core™ i5-6400 CPU @ 3,90 GHz (4CPUs), GPU Nvidia Geforce GTX 970 Gigabyte OC Edition, RAM 8GB DDR4. Perangkat lunak yang digunakan adalah ChemdrawUltra 8.0, AutoDockTools, Discovery Studio Visualizer, Marvin Sketch, Molegro Molecular Viewer, AMBER. Web Server rcsb.org, lipinski's rule of five, dan preADMET.

Bahan

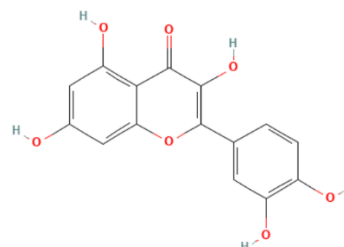
Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah senyawa kuersetin (Pubchem, 2023) dan 48 senyawa turunan kuersetin sebagai ligan, atorvastatin sebagai obat pembanding, reseptor yang digunakan adalah enzim HMG-CoA reduktase dengan kode PDB 1HWK.

Prosedur

Preparasi Ligan dan Reseptor

Struktur kuersetin dapat dilihat pada Gambar 1. Langkah awal yang dilakukan adalah analisis senyawa kuersetin dan 48 senyawa turunan kuersetin, kemudian dari hasil analisis digambar secara manual menggunakan program ChemDraw Ultra 8.0 dan disimpan dalam format .cdx, dilanjutkan dengan rotanasi dan konformasi ligan dilakukan pada aplikasi MarvinSketch dengan langkah protonasi klik (*Tools-Protonation-Major Microspecies-Ok*) kemudian pH disesuaikan dengan pH tubuh yaitu 7,4 lalu (*Save Format .mrv*) kemudian langkah konformasi klik

(*Tools-Conformation-Conformers-save format .mol2*) (Pratama and Rifai, 2017). Persiapan protein target dengan mengunduh reseptor HMG-CoA reduktase terlebih dahulu melalui website RCSB PDB dengan situs (<http://www.rcsb.org/pdb/>) dengan kode reseptor: 1HWK. Protein dipreparasi dengan menghilangkan molekul air dan ligan bawaan menggunakan aplikasi BIOVIA Discovery Studio Visualizer.



Gambar 1. Struktur kuersetin

Analisis Reseptor

Reseptor 1HWK selanjutnya dianalisa dengan nilai *most favored region* > 90 % serta nilai *Disallowed regions* < 0,8 % pada plotramachandra dari situs PDBsum. kemudian akan dilanjutkan dengan preparasi protein dengan cara menghilangkan kandungan air dan menambahkannya suatu muatan pada reseptor dengan bantuan program *molegro viewer*, reseptor dan ligan alami disimpan dalam format .pdb (Ferwadi et al., 2017).

Prediksi Aspek Farmakologi dan Toksisitas

Prediksi ADME dan Toksisitas dilakukan secara online pada situs <http://preadme.bmdrc.kr/>. pada pengujian ADME dilakukan dengan langkah buka situs Pre-ADMET (*klik ADME-upload ligan-submit*). Untuk uji toksisitas dibuka situs Pre-ADMET (*klik Toxicity-upload ligan-submit*) (Bisht and Juyal, 2016).

Screening Ligand Based Drugs Likeness

Prediksi *screening ligand based drug likenes* dilakukan dengan cara mengunjungi website *Lipinski's rule of five* dengan situs lipinski.jsp kemudian (*pilih file-klik ligan-open-submit*) (Mardianingrum et al., 2021). Dengan memperhatikan aturan-aturan *Lipinski's rule of five* diantaranya meliputi ikatan hidrogen akseptor ≤ 10 , ikatan hidrogen donor ≤ 5 , berat molekul ≤ 500 dan nilai $\log P \leq 5$ (Oktavelia, 2023).

Validasi Docking

Tahapan validasi dilakukan dengan cara memisahkan terlebih dahulu reseptornya kemudian ditambatkan ulang dengan ligan alaminya menggunakan *Autodock Tool*. Jika nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD) yang diperoleh dari penambatan ulang $\leq 2\text{Å}$ maka dikatakan baik (Mardianingrum et al., 2021). Pada tahapan ini dipilih senyawa yang memenuhi syarat validitas hasil $\text{RMSD} \leq 2\text{Å}$ untuk dilakukannya *molecular docking* dan *virtual screening*.

Molecular Docking dan Virtual Screening

Tahapan ini menggunakan penambahan *gridbox* X = 4,237 Y = -7,132 Z = -11,0 dengan ukuran 40x40x40 dan *grid spacing* 0,375. Bertujuan untuk mengetahui nilai energi terbaik sebagai penurun kolesterol LDL dan reseptor yang menggunakan autodock.

Analisis Hasil Visualisasi

Analisis hasil visualisasi terhadap senyawa dengan nilai energi bebas terkecil. Visualisasi ini dilakukan dengan program BIOVIA *Discovery Studio Visualizer*. Program ini untuk menganalisis interaksi dengan penambatan ligan reseptor dan asam amino.

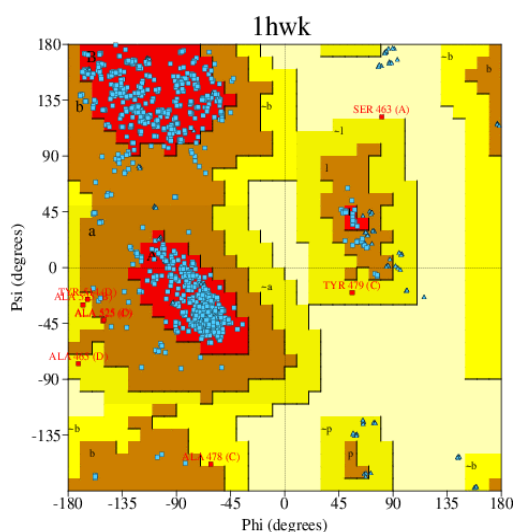
Analisis Molecular Dynamic

Analisis *molecular dynamic* dilakukan terhadap ligan uji yang memiliki nilai terbaik dengan menggunakan program AMBER. Parameter yang digunakan dalam *molecular dynamic* yaitu *Root Mean Square Fluctuation* (RMSF), *Root Mean Square Deviation* (RMSD), serta *Molecular Mechanics-Generalized Born Surface Area* (MMGBSA).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis Reseptor

Analisis reseptor dilakukan apakah protein dengan kode PDB 1HWK (Istvan et al., 2000), merupakan kompleks protein yang bersifat baik apabila jumlah plot residu pada *most favoured regions* (daerah yang disukai) > dari 90% dan nilai *disallowed region* (daerah yang tidak disukai) < 0,8% (Ruswanto et al., 2019). Semakin besar residu yang berada pada *most favoured regions* dan semakin rendah persentase residu pada *disallowed region* maka kualitas struktur akan semakin baik dan stabil. Hasil validasi reseptor *Ramachandran plot* dapat dilihat pada **Gambar 2**.

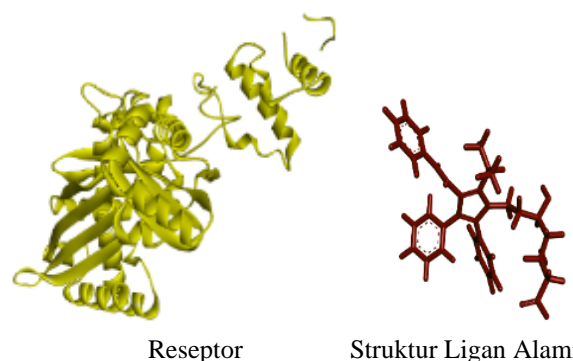


Gambar 2. *Ramachandran plot* 1HWK

Gambar 2 menunjukkan hasil *Ramachandran plot*, protein target dengan kode pdb 1HWK memiliki jumlah nilai *most favoured region* dengan nilai 90,05% dan *disallowed region* dengan nilai 0,1%. Hal ini menunjukkan bahwa struktur reseptor atau protein target 1HWK mempunyai kualitas yang baik karena memenuhi persyaratan parameter *Ramachandran plot*. Digunakannya reseptor 1HWK karena memiliki cara kerja yang sama dengan obat perbandingan atorvastatin yaitu menghambat enzim hidroksimetilglutaril-CoA atau HMG-CoA.

Validasi Metode Docking

Validasi metode *docking* dilakukan untuk menghitung nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD) merupakan parameter yang digunakan untuk mengevaluasi parameter proses *docking* yang dijalankan sudah sesuai atau tidak. Tahapan ini dilakukan dengan cara menambahkan ulang ligan yang telah dipisahkan dari reseptornya. Hasil reseptor dan ligan yang telah dipisah dapat dilihat pada **Gambar 3**.



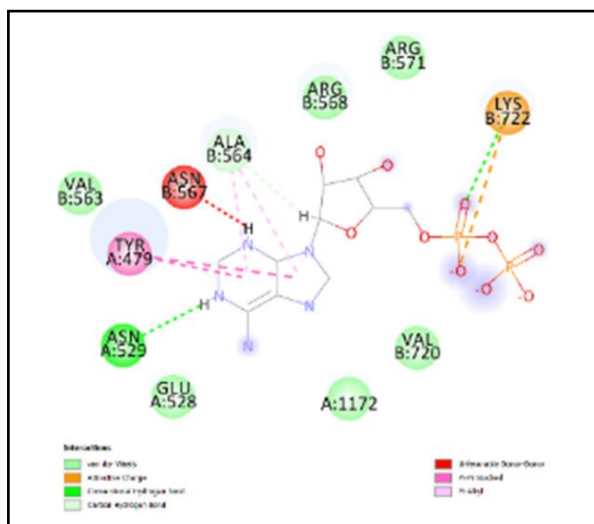
Gambar 3. Ligan alami dan reseptor HMG-CoA reduktase yang telah dipisahkan

Validasi *docking* dikatakan valid apabila nilai $RMSD \leq 2 \text{ \AA}$, semakin kecil nilai RMSD semakin dekat dengan posisi ligan alami hasil *docking* dengan ligan alami hasil kristalografi (Muttakin, 2019). Hasil validasi *docking* dapat dilihat pada **Gambar 4**. Sistem yang digunakan dalam proses *docking* ini dilakukan dengan kondisi ligan yang fleksibel. Kondisi ligan yang fleksibel memungkinkan untuk ligan melakukan penyesuaian struktur agar terjadinya konformasi yang stabil saat berikatan dengan sisi aktif reseptor (Masriany and Rifaldi, 2022).

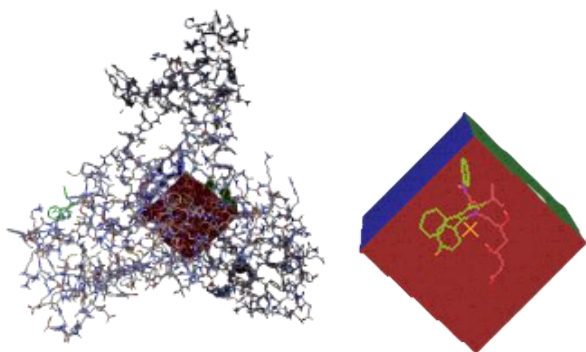


Gambar 4. Posisi ligan alami (kuning) dan ligan *redocking* (ungu)

Hasil validasi *docking* kemudian dilakukan visualisasi untuk melihat interaksi yang ada antara ligan-reseptor, sebagaimana dapat dilihat pada **Gambar 5**. Visualisasi interaksi dari reseptor 1HWK ditunjukkan dengan adanya ikatan hidrogen dengan residu asam amino ASN529. Adapun interaksi lain yaitu ikatan hidrofobik dengan residu asam amino TYR479 dan ALA564.. Hasil visualisasi posisi ligan alami dalam *grid box* dapat dilihat pada **Gambar 6**.



Gambar 5. Visualisasi hasil *redocking* ligan alami ke reseptor 1HWK



Gambar 6. Ligan alami dalam *grid box*

Metode *algoritma* yang digunakan yaitu *Lamarckian Genetic Algoritem*. Simulasi *docking* ini menggunakan pencarian konformasi sebanyak 100 kali dalam sekali *docking*. Maka didapatkan hasil *docking* dengan nilai RMSD 1,17 Å dan nilai *binding affinity* sebesar -7,20 kkal/mol. Berdasarkan hasil *docking* tersebut menyatakan bahwa metode *docking* yang telah dilakukan memenuhi syarat validitas karena diperoleh hasil RMSD ≤ 2Å. Dalam hal ini hasil *docking* senyawa *Tamarixetin* dan *Quercetin-3-O-α-D-* juga diperoleh nilai RMSD ≤ 2Å, yaitu sebesar 1,98 Å.

Prediksi Aspek Toksisitas dan Farmakokinetik

Prediksi toksisitas menggunakan *website* Pre-ADMET diakses di <http://preadmet.bmdcr.org/> dengan melihat parameter *ames test*, suatu metode sederhana yang memeriksa potensi mutagenik suatu senyawa (Nursamsiar et al., 2016), *carcino rate* digunakan untuk memprediksi sifat dari senyawa apakah menyebabkan karsinogenik terhadap tikus, *carcino mouse* digunakan untuk memprediksi sifat dari senyawa apakah menyebabkan karsinogenik terhadap mencit (Mardianingrum et al., 2021). Berdasarkan hasil prediksi analisis toksisitas pada **Tabel 1**, dari 48 ligan turunan senyawa kuersetin terdapat 19 senyawa uji yang memenuhi aspek toksisitas senyawa tersebut tidak bersifat karsinogenik terhadap mencit, karsinogenik terhadap tikus maupun mutagen, sedangkan obat perbandingan atorvastatin tidak lolos pada uji toksisitas karena bersifat karsinogenik terhadap tikus dan memiliki hasil *ames test* mutagen. Maka dari itu 19 senyawa turunan kuersetin bisa dikatakan lebih baik dari obat perbandingan atorvastatin dari toksisitas obat penurun kadar kolesterol.

Prediksi aspek farmakokinetik melalui *website* Pre-ADMET sangatlah penting untuk dilakukan dalam menilai faktor farmakokinetika kandidat obat. Prediksi absorpsi terdiri dari parameter HIA (*Human Intestinal Absorption*) digunakan untuk memprediksi persentase molekul yang terabsorpsi dari saluran cerna, ada 3 kategori absorpsi yaitu, absorpsi buruk dengan nilai HIA 0-20%, absorpsi menengah 20-70% dan absorpsi baik oleh tubuh 70-100% (Prasetyawati et al., 2018), Caco-2 yang digunakan untuk menentukan nilai permeabilitas suatu senyawa yang dibagi menjadi 3 kategori yaitu ≤ 4 rendah, 4-70 sedang dan ≥70 tinggi, *Plasma Protein Binding* (PPB) parameter distribusi berdasarkan keterikatan pada protein plasma ikatan terhadap protein plasma digambarkan pada rentang <90% (Mardianingrum et al., 2023). Hasil prediksi farmakokinetik dapat dilihat pada **Tabel 2**.

Berdasarkan **Tabel 2**, dapat dilihat bahwa sebanyak 19 turunan senyawa kuersetin memenuhi standar parameter farmakokinetika, sedangkan obat perbandingan atorvastatin memiliki nilai PPB 99,44 % sehingga atorvastatin tidak lolos dalam pengujian farmakokinetika karena senyawa yang memiliki nilai PPB >90 % menunjukkan senyawa terikat kuat dengan plasma protein sehingga bersifat inaktif, karena apabila nilai PPB semakin rendah maka suatu senyawa hanya sedikit yang terikat dengan suatu plasma protein sehingga akan memudahkan untuk berdifusi dan berinteraksi dengan protein target (Dewayani et al., 2023). Maka dapat dikatakan bahwa hasil 19 senyawa turunan kuersetin tersebut lebih baik dari obat perbandingan atorvastatin sebagai kandidat obat penurun kadar kolesterol jika dilihat dari hasil uji farmakokinetika dan toksisitas.

Tabel 1. Hasil prediksi toksisitas senyawa kuersetin dan 48 senyawa turunan kuersetin

No.	Senyawa	TOKSISITAS		
		Amest test	Carsino mouse	Carsino rat
1	Atorvastatin	Mutagen	-	+
2	Kuersetin	Mutagen	-	+
3	<i>Quercetin 3,7-di-o-α-l-rhamnoside</i>	Mutagen	-	+
4	<i>Quercetin 7,4'-di-o-β-d-glucoside</i>	Non-Mutagen	-	-
5	<i>Quercetin 3,7-di-o-β-d-glucoside</i>	Non-Mutagen	-	-
6	<i>Quercetin 3,4'-bissulfate</i>	Non-Mutagen	+	-
7	<i>Quercetin 3,4'-di-O-β-D-glucoside</i>	Non-Mutagen	-	-
8	<i>Quercetin-7-olate 3,4'-bissulfate(3-)</i>	Non-Mutagen	+	+
9	<i>Quercetin 3,4',7-trissulfate</i>	Non-Mutagen	-	-
10	<i>Quercetin 3,3'-bissulfate(3-)</i>	Non-Mutagen	-	-
11	<i>Quercetin 3-O-gentiotetroside</i>	Mutagen	-	+
12	<i>Quercetin 3-O-β-D-glucopyranoside(1-)</i>	Non-Mutagen	-	-
13	<i>Quercetin 3-O-rhamnoside-7-O-glucoside</i>	Non-Mutagen	-	-
14	<i>Quercitrin</i>	Non-Mutagen	-	-
15	<i>Quercetin 5,7,3',4'-tetramethyl ether</i>	Mutagen	-	+
16	<i>Quercetin 4'-O-β-D-glucopyran oside</i>	Mutagen	-	-
17	<i>Rhamnetin</i>	Non-Mutagen	+	+
18	<i>Tamarixetin</i>	Non-Mutagen	-	-
19	<i>Avicularin</i>	Mutagen	-	-
20	<i>Isoharmetin</i>	Mutagen	-	+
21	<i>Azaleatin</i>	Mutagen	-	+
22	<i>Quercetin 7,3',4'-trimethyl ether</i>	Mutagen	-	+
23	<i>Quercetin 3',4'-dimethyl ether(2-)</i>	Mutagen	-	+
24	<i>Quercetin 3,4'-dimethyl ether</i>	Mutagen	-	+
25	<i>Velloquercetin</i>	Mutagen	-	+
26	<i>3,3'-dimethylquercetin</i>	Mutagen	-	+
27	<i>Quercetin 7-xyloside</i>	Mutagen	-	+
28	<i>Quercetin 3-rutinoside-7-glucuronide</i>	Non-Mutagen	-	-
29	<i>Pinoquercetin</i>	Mutagen	-	+
30	<i>Quercetin-3-O-α-D-arabinofuranoside</i>	Non-Mutagen	-	-
31	<i>Quercetin 3-(6"-acetylglucoside)</i>	Non-Mutagen	-	-
32	<i>Quercetin 7-O-α-L-rhamnopyranoside</i>	Mutagen	-	-
33	<i>Pachypodol</i>	Mutagen	-	+
34	<i>Miquelianin</i>	Mutagen	+	-
35	<i>Quercetin 3-O-[α-L-rhamnopyranosyl</i>	Non-Mutagen	+	-
36	<i>Quercetin 3-sulfate</i>	Mutagen	-	-
37	<i>Rhamnacene</i>	Mutagen	-	+
38	<i>3-O-methylquercetin-7-O-β-D-glucopyranoside</i>	Non-Mutagen	-	-
39	<i>Taxifolin</i>	Mutagen	-	-
40	<i>Quercetin 3-O-β-D-glucopyranoside</i>	Non-Mutagen	-	-
41	<i>Quercetin 3-(6"-p-hydroxybenzoylgalactoside)</i>	Non-Mutagen	+	-
42	<i>Quercetin 3-O-β-D-fucopyranoside</i>	Non-Mutagen	-	-

Tabel 1. (Lanjutan)

No.	Senyawa	TOKSISITAS		
		Amest test	Carsino mouse	Carsino rat
43	Camellianoside	Mutagen	-	+
44	Quercetin 4'-galactoside	Mutagen	-	-
45	Quercetin 7-(6"-tiglylglicoside)	Non-Mutagen	+	-
46	Quercetin 7-(6"-acetylglucoside)	Non-Mutagen	-	-
47	Quercetin 3-(6"-ferulylglicoside)	Non-Mutagen	+	-
48	Quercetin 3-(6-O-acetyl-beta-glucoside)	Non-Mutagen	-	-
49	Quercetin 3-β-gentiobioside	Non-Mutagen	-	-
50	Quercetin 3-O-α-L-fucopyranoside	Non-Mutagen	-	-

Keterangan : Senyawa Tidak Lolos uji, Senyawa Lolos Uji

Tabel 2. Hasil pengujian farmakokinetik 19 senyawa turunan kuersetin yang memenuhi aspek toksisitas

Senyawa	ADME		
	Caco-2	HIA	PPB
Atorvastatin	21,71	94,65	99,46
Quercetin 7,4'-di-o-β-d-glucoside	3,62	1,36	36,71
Quercetin 3,7-di-o-β-d-glucoside	5,49	1,27	37,35
Quercetin 3,4'-di-O-β-D-glucoside	7,33	1,26	35,22
Quercetin 3,4',7-trissulfate	4,51	2,91	37,19
Quercetin 3,3'-bissulfate(3-)	7,25	21,14	71,78
Quercetin 3-O-β-D-glucopyranoside(1-)	9,43	12,25	44,62
Quercetin 3-O-rhamnoside-7-O-glucoside	4,49	2,88	37,60
Quercitrin	7,37	24,95	64,95
Tamarixetin	4,93	78,34	82,17
Quercetin 3-rutinoside-7-glucuronide	5,62	1,00	27,66
Quercetin-3-O-α-D-arabinofuranoside	6,60	22,62	63,01
Quercetin 3-(6"-acetylglucoside)	9,91	15,00	53,86
3-O-methylquercetin-7-O-β-D-glucopyranoside	2,62	21,67	48,85
Quercetin 3-O-β-D-glucopyranoside	9,43	11,77	59,15
Quercetin 3-O-β-D-fucopyranoside	7,37	24,94	64,95
Quercetin 7-(6"-acetylglucoside)	4,85	15,00	57,16
Quercetin 3-(6-O-acetyl-beta-glucoside)	9,92	15,00	53,84
Quercetin 3-β-gentiobioside	8,44	1,24	46,66
Quercetin 3-O-α-L-fucopyranoside	7,37	24,95	64,95

Keterangan : Senyawa Tidak Lolos uji, Senyawa Lolos Uji

Screening Ligan Based Drug Likeness

Screening ligan tahapan ini dilakukan untuk melihat persyaratan suatu ligan yang akan dijadikan suatu obat harus memenuhi persyaratan dari *Lipinski* karena kelarutan dan permeabilitas dari suatu senyawa berperan penting dalam mempertimbangkan pengembangan obat lebih lanjut. Hal ini dilakukan untuk mencegah suatu obat yang disebabkan oleh rendahnya suatu absorpsi (Nursamsiar et al., 2016). Berdasarkan kaidah *lipinski* dalam pengembangan suatu obat harus memenuhi lima syarat yang dikenal dengan istilah “Rule of Five” yang meliputi berat molekul tidak lebih dari 500 dalton, nilai log P tidak lebih dari 5, donor ikatan hidrogen tidak lebih dari 5, akseptor ikatan hidrogen tidak boleh lebih dari 10 serta refraktivitas molar harus diantara 40-130 (Karami et al., 2022). Hasil senyawa yang lolos *Lipinski rule of five* dapat dilihat pada **Tabel 3**.

Berdasarkan **Tabel 3**, dapat dilihat bahwa dari 19 ligan uji yang memenuhi aspek toksisitas dan farmakokinetik, hanya 6 senyawa uji yang memenuhi aspek *Lipinski* yaitu senyawa *Quercetin 3,3'-bissulfate(3-)*, *Quercitrin*, *Tamarixetin*, *Quercetin-3-O-α-D-arabinofuranoside*, *Quercetin 3-O-β-D-fucopyranoside*, *Quercetin 3-β-gentiobioside* dengan keenam ligan uji cocok diberikan atau perlu modifikasi untuk penggunaan secara oral karena nilai log P kurang dari 5. Sedangkan obat pembanding atorvastatin juga memenuhi aspek *Lipinski* dengan nilai log P 4,97, donor ikatan hidrogen 3, nilai ikatan hidrogen aseptor 6 refraktivitas molar 72,54 dan berat molekul 557, meskipun berat molekul lebih dari 500 tetapi aturan *Lipinski's rule of five* masih menyatakan lolos jika hanya 1 nilai parameter yang tidak terpenuhi (Kelutur et al., 2020). Sedangkan 13 senyawa tidak lolos uji *Lipinski's rule of five*, karena senyawa lainnya memiliki lebih dari satu nilai parameter yang tidak memenuhi *Lipinski's rule of five*.

Tabel 3. Hasil *screening Lipinski rule of five* dan nilai refraktivitas molar 19 senyawa turunan kuersetin yang memenuhi aspek toksisitas dan farmakokinetik

Senyawa	Lipinski				Refraktivitas molar
	Log P	BM	Donor Ikatan H	Akseptor Ikatan H	
Atorvastatin	4,97	557	3	6	72,54
Quercetin 7,4'-di-O-β-d-glucoside	-3,04	626	11	17	139
Quercetin 3,7-di-O-β-d-glucoside	-3,25	626	11	17	139
Quercetin 3,4'-di-O-β-D-glucoside	-3,25	626	11	17	89,62
Quercetin 3,4',7-trissulfate	-2,22	610	10	16	137
Quercetin 3,3'-bissulfate(3-)	1,69	459	2	10	89,62
Quercetin 3-O-β-D-Glucopyranoside (1-)	-1,26	463	7	12	104,95
Quercetin 3-O-rhamnoside-7-O-glucoside	-2,22	610	10	16	137,60
Quercitrin	2,45	416	3	7	77,42
Tamarixetin	2,61	312	5	5	168,14
Quercetin 3-rutinoside-7-glucuronide	-5,64	785	12	22	98,94
Quercetin-3-O-α-D-arabinofuranoside	2,30	433	4	7	114,22
Quercetin 3-(6"-acetylglucoside)	-0,69	505	6	13	111,16
3-O-methylquercetin-7-O-β-D-glucopyranoside	-0,42	428	7	12	104,68
Quercetin 3-O-β-D-glucopyranoside	-1,33	463	7	12	103,53
Quercetin 3-O-β-D-fucopyranoside	-0,23	447	3	10	113,95
Quercetin 7-(6"-acetylglucoside)	-0,9	505	6	13	114,22
Quercetin 3-(6-O-acetyl-beta-glucoside)	-0,42	478	7	12	130
Quercetin 3-β-gentiobioside	1,65	303	4	7	103,53
Quercetin 3-O-α-L-fucopyranoside	0,233	447	6	11	168,14

Keterangan : Senyawa Tidak Lolos Uji
 Senyawa Lolos Uji

Tabel 4. Nilai energi bebas ikatan dan konstanta inhibisi 6 senyawa turunan kuersetin yang memenuhi *Lipinski's rule of five*

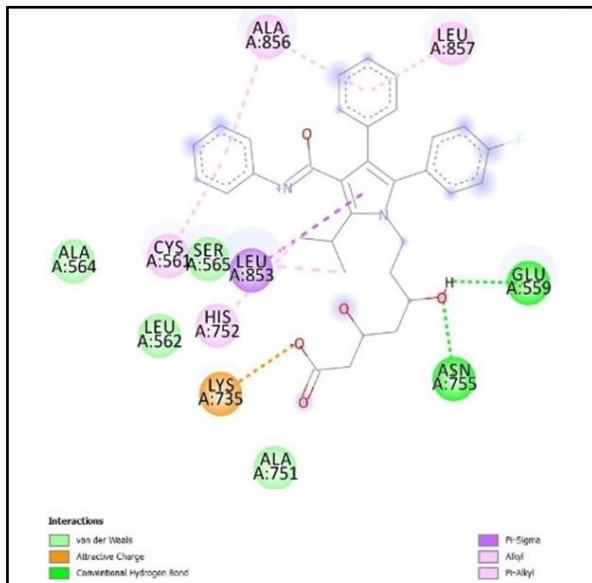
Nama Senyawa	ΔG kkal/mol	Ki (μM)
Atorvastatin	-5,17	162,52
Quercetin 3,3'-bissulfate(3-)	-6,01	212,28
Quercitrin	-4,27	666,13
Tamarixetin	-6,12	506,43
Quercetin-3-O-α-D-arabinofuranoside	-6,13	860,70
Quercetin 3-O-β-D-fucopyranoside	-4,42	648,61
Quercetin 3-β-gentiobioside	-5,48	839,04

Analisis Hasil Molecular Docking

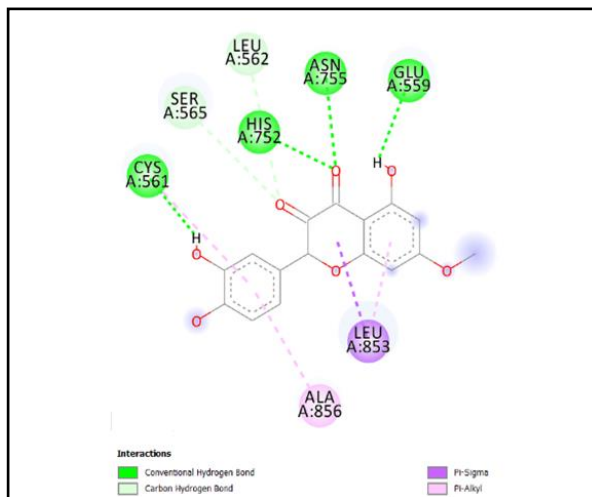
Analisis *molecular docking* dilakukan untuk mengetahui senyawa mana yang mempunyai afinitas terbaik terhadap reseptor protein target. Perbandingan hasil dilakukan dengan membandingkan antara obat perbandingan atorvastatin dengan reseptor enzim HMG-CoA *reduktase* dan senyawa uji kuersetin dengan turunannya. Hasil energi bebas ikatan (ΔG) dan konstanta inhibisi dapat dilihat pada **Tabel 4**. Semakin kecil nilai energi bebas (ΔG), maka semakin besar kemampuan suatu senyawa untuk berikatan dengan reseptor (Ruswanto *et al.*, 2018). Nilai konstanta penghambatan (Ki) merupakan ukuran konsentrasi yang dibutuhkan untuk memperoleh penghambatan 50% semakin kecil nilai Ki, semakin kuat afinitas ligan terhadap makromolekuler (Sagitasa *et al.*, 2021).

Pada **Tabel 4**, diantara keenam senyawa turunan kuersetin yang telah dilakukan analisis *molecular docking*, ligan *Tamarixetin* yang memiliki hasil ΔG -5,67 kkal/mol, Ki 506,43 μM dan *Quercetin-3-O-α-D-arabinofuranoside* memiliki hasil ΔG -6,13 kkal/mol, Ki 860,70 μM, memiliki afinitas terbaik dengan nilai ΔG lebih rendah dari obat perbandingan, Hasil *docking* dipilih 2 senyawa dengan nilai ΔG terendah, untuk dilanjutkan ketahap visualisasi *molecular docking* dilakukan menggunakan aplikasi *Discovery Studio Visualizer* dengan tujuan untuk melihat interaksi yang terjadi antara *Tamarixetin*, *Quercetin-3-O-α-D-arabinofuranosid* dan atorvastatin yang ditambahkan dengan reseptor. Visualisasi interaksi *Tamarixetin*, *Quercetin-3-O-α-D-arabinofuran* dan atorvastatin dapat dilihat pada **Gambar 7**.

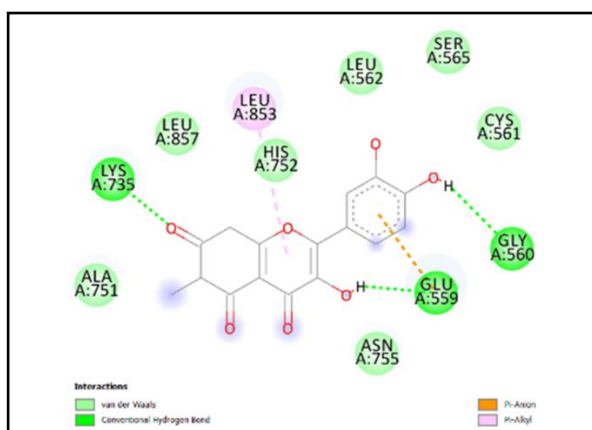
Berdasarkan **Gambar 7**, atorvastatin dapat membentuk ikatan hidrogen dengan **Glu559** dan **Asn775**, *Tamarixetin* dengan **Glu559**, **Asn775**, His752, dan Cys561, sedangkan *Quercetin-3-O-α-D-arabino-*



(a)



(b)



(c)

Gambar 7. Interaksi ligan-ligan terhadap reseptor 1HWK, (a) atorvastatin, (b) *Tamarixetin*, (c) *Quercetin-3-O- α -D-arabinofuranoside*

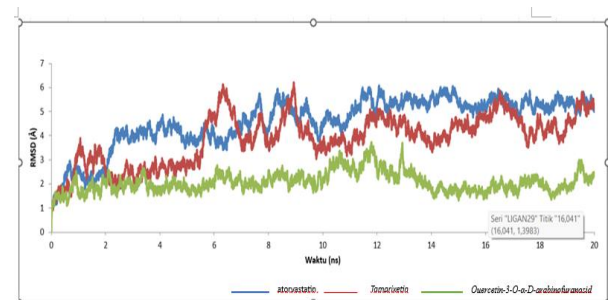
furanoside dengan Gly560, **Glu559**, dan Lys735. Selanjutnya, untuk atorvastatin juga membentuk interaksi hidrofobik dengan **Ala856**, **Leu853**, Leu857, Cys561, dan His752, sedangkan *Tamarixetin* membentuk interaksi hidrofobik dengan **Leu853** dan **Ala856**, dan *Quercetin-3-O- α -D-arabinofuranoside* membentuk interaksi hidrofobik dengan **Leu853**. Berdasarkan hasil tersebut dapat diamati bahwa residu asam amino yang terlibat dalam interaksi dengan *Tamarixetin* memiliki kesamaan dengan obat perbandingan pada ikatan hidrogen dengan **Glu559** dan **Asn775** dan juga pada interaksi hidrofobik memiliki ikatan yang sama **Ala856** dan **Leu853**. *Quercetin-3-O- α -D-arabinofuranoside* juga memiliki kesamaan dengan obat perbandingan pada ikatan hidrogen dengan **Glu559** dan interaksi hidrofobik dengan **Leu853**. Hal ini menunjukkan hasil *docking* telah sesuai, dengan kata lain kedua senyawa hasil modifikasi tersebut kemungkinan mempunyai efek seperti obat golongan statin yaitu atorvastatin.

Simulasi Dinamika Molekul

Simulasi dinamika molekul ialah bertujuan untuk menganalisis kestabilan interaksi protein dengan ligan yang dibuat dalam kondisi semirip mungkin dengan fisiologis tubuh manusia dalam rentang waktu tertentu (Lukitaningsih *et al.*, 2015). Hasil dari simulasi dinamika molekular diantaranya yaitu RMSD (*Root Mean Square Deviation*), RMSF (*Root Mean Square Fluctuation*) dan total energi ikatan yang diperoleh dengan metode MM-GBSA (*Molecular Mechanics-Generalized Born Surface Area*).

RMSD (*Root Mean Square Deviation*)

Analisis RMSD ini dilakukan untuk melihat hasil simulasi dinamika molekul dengan gambar seberapa jauh keadaan kompleks protein sampai ligan berubah setiap waktunya sampai akhir simulasi serta memastikan stabilitas struktur kompleks protein dan ligan. Data RMSD tersebut dijelaskan dalam grafik berupa gambar nilai RMSD senyawa perbandingan atorvastatin dan kedua ligan terbaik, *Tamarixetin* dan *Quercetin-3-O- α -D-arabinofuranosid*, sebagaimana dapat dilihat pada **Gambar 8**.

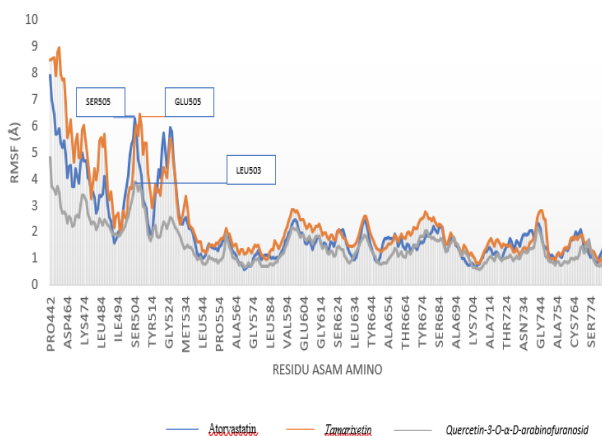


Gambar 8. Hasil analisis RMSD senyawa perbandingan atorvastatin (biru) dan dua ligan terbaik, *Tamarixetin* (merah), *Quercetin-3-O- α -D-arabino furanosid* (hijau)

Berdasarkan **Gambar 8**, senyawa atorvastatin terjadi peningkatan nilai RMSD di awal dan stabil pada waktu 5 ns dengan nilai RMSD 3,8 Å tetapi mengalami peningkatan pada 8 ns dan mengalami penurunan lagi pada waktu 10 ns, kemudian terjadinya peningkatan kembali pada Pada waktu 12 ns sampai simulasi selesai. Senyawa *Tamarixetin* mengalami peningkatan di awal dan stabil pada waktu 4 ns dengan nilai RMSD 2,0 Å tetapi mengalami peningkatan pada 6,1 ns lalu terjadinya penurunan pada 7 ns kemudian turun lagi pada 9 ns. Senyawa *Quercetin-3-O- α -D-arabinofuranosid* stabil pada waktu 4,1 ns dengan nilai RMSD 1,98 Å dari awal sampai akhir grafik cenderung konstan. Berdasarkan hasil tersebut dapat dikatakan bahwa senyawa ligan *Tamarixetin* dan *Quercetin-3-O- α -D-arabinofuranosid* memiliki nilai RMSD yang lebih rendah dibandingkan obat pembanding atorvastatin.

RMSF (Root Mean Square Fluctuation)

Nilai RMSF ligan *Tamarixetin*, *Quercetin-3-O- α -D-arabinofuranosid* dan senyawa pembanding atorvastatin dapat dilihat pada **Gambar 9**.



Gambar 9. Nilai RMSF ligan *Tamarixetin*, *Quercetin-3-O- α -D-arabinofuranosid* dan senyawa pembanding atorvastatin

Berdasarkan **Gambar 9**, residu yang mengalami fluktuasi paling tinggi pada obat pembanding adalah Ser505 dengan nilai fluktuasi 6,01 Å. Sedangkan ligan 17 dengan senyawa *Tamarixetin* mengalami fluktuasi yang tinggi pada residu Glu505 dengan nilai fluktuasi 5,9 Å dan ligan 29 dengan senyawa *Quercetin-3-O- α -D-arabinofuranosid* mengalami fluktuasi yang tinggi pada residu Leu503 dengan nilai 3,5 Å, senyawa *Tamarixetin* dan senyawa *Quercetin-3-O- α -D-arabinofuranosid* terjadi ikatan pada residu asam amino ASN734 dan ALA694 dimana residu tersebut merupakan sisi aktif dari reseptor 1HWK. Dari hasil tersebut maka dapat dikatakan senyawa *Tamarixetin*, *Quercetin-3-O- α -D-arabinofuranosid* memiliki kestabilan yang lebih baik daripada obat pembanding atorvastatin.

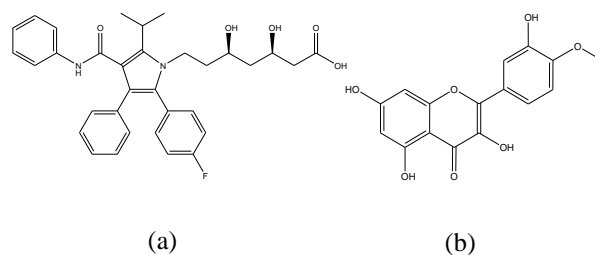
MM-GBSA (Molecular Mechanics-Generalized Born Surface Area)

MM-GBSA merupakan metode pendekatan populer dilakukan untuk menghitung energi ikatan bebas (ΔG) sistem ligan-reseptor pada simulasi dinamika molekuler. Semakin kecil nilai energi bebas maka semakin besar kemampuan suatu senyawa untuk berikatan dengan reseptor (Mardianingrum et al., 2022). Hasil perhitungan dapat dilihat pada **Tabel 5**.

Tabel 5. Kalkulasi energi ikatan atorvastatin, *Tamarixetin*, dan *Quercetin-3-O- α -D-arabino furanosid*

Komponen Energi (kcal/mol)	<i>Tamarixetin</i>	<i>Quercetin-3-O-α-D-arabino furanosid</i>	Atorvastatin
Interaksi Van der Waals (vdW)	-22,95	-22,95	-30,91
Energi Elektrostatik (EEL)	-3,7	-13,24	34,18
Kontribusi Non-Polar Terhadap Energi Bebas Solvasi (EGB)	9,81	24,67	-15,89
Kontribusi Elektrostatik Terhadap Energi Bebas Solvasi (ESURF)	-2,45	-2,58	-4,1
ΔG gas (VdW + EEL)	-26,61	-32,75	3,26
ΔG solv (EGB+Esurf)	7,36	22,1	-20
ΔG TOTAL (VdW+EEL+EGB+Esurf)	-19,24	-10,67	-16,73

Berdasarkan **Tabel 5**, hasil Kalkulasi energi ikatan dengan metode MM-GBSA menunjukkan bahwa kompleks *Tamarixetin* memiliki nilai energi bebas ikatan total (ΔG_{TOTAL}) yang lebih rendah dibandingkan dengan senyawa *Quercetin-3-O- α -D-arabinofuranosid* dan obat pembanding atorvastatin yaitu -19,24 kkal/mol sedangkan senyawa *Quercetin-3-O- α -D-arabinofuranosid* memiliki hasil energi bebas ikatan total (ΔG_{TOTAL}) yang lebih besar yaitu -16,73 kkal/mol, maka dari itu senyawa *Tamarixetin* bisa dikatakan lebih baik daripada obat pembanding atorvastatin sebagai obat penurun kadar kolesterol. Struktur 2D dari obat pembanding atorvastatin dan senyawa *Tamarixetin* dapat dilihat pada **Gambar 10**.



Gambar 10. Struktur kimia, (a) atorvastatin (b) *Tamarixetin*

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa hasil skrining toksisitas dan farmakokinetik dari 48 senyawa turunan kuersetin dari kulit jeruk manis diperoleh 19 senyawa yang telah memenuhi serangkaian uji toksisitas dan farmakokinetik sehingga dapat digunakan sebagai bahan kandidat obat penurun kadar kolesterol. Interaksi yang terjadi antara *Tamarixetin* dan *Quercetin-3-O- α -D-arabinofuranosid* dengan reseptor 1HWK ditandai dengan adanya ikatan hidrogen pada residu asam amino GLU529 dan ASN775 yang kemungkinan memiliki aktivitas biologis yang sama dengan atorvastatin karena berikatan dengan residu asam amino yang sama. Senyawa yang mempunyai interaksi yang stabil sebagai kandidat obat penurun kolesterol dari turunan kuersetin adalah *Tamarixetin* karena memiliki nilai energi bebas ikatan total (ΔG_{TOTAL}) -19,24 kkal/mol yang lebih rendah dibandingkan dengan senyawa *Quercetin-3-O- α -D-arabinofuranosid* dan obat pembanding atorvastatin, sehingga *Tamarixetin* lebih baik sebagai kandidat obat penurun kadar kolesterol.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis berterimakasih untuk semua fasilitas yang telah diberikan oleh Fakultas Farmasi, Universitas Perjuangan Tasikmalaya.

CONFLICT OF INTEREST

Penulis menyatakan bahwa tidak ada *conflict of interest* pada penulisan artikel ini.

REFERENSI

- Bisht, A. S. and Juyal, D. 2016. In silico- internet and analogue based drug design of new anticancer agent. *The Pharma Innovation Journal*, **5(4)**: 4-19.
- Dari, N. M. 2020. Aktivitas kulit jeruk dalam bidang farmasi. *Jurnal Unmul*. **6(1)**: 1-8.
- Dewayani, A. R., Ghaliya, S., Parameswari, N., Pribadi, A. P. A., Ahadi, H. M., Aulifa, D. L., Elaine, A. A., and Sitinjak, B. D. P. 2023. Studi in silico senyawa daun sirsak (*annona muricata l.*) Sebagai inhibitor *braf v600e* pada kanker melanoma. *Jurnal Farmasi Udayana*, **11(2)**: 80-87.
- Dzaky, N., Kumala, M., and Vivian, N. W. 2022. Kajian sistematik: aktivitas kuersetin sebagai inhibitor kanker payudara secara in vitro *Journal of Research in Pharmacy*, **2(2)**: 105-106.
- Ferwadi, S., Gunawan., and Astuti, W. 2017. Studi docking molekular senyawa asam sinamat dan derivatnya sebagai inhibitor protein 1J4X pada sel kanker serviks. *Jurnal Kimia Mulawarman*, **14(2)**: 84-90.
- Istvan, E. S., Palnitkar, M., Buchanan, S. K., and Deisenhofer, J. 2000. Crystal structure of the catalytic portion of human HMG-CoA reductase: Insights into regulation of activity and catalysis. *EMBO Journal*, **19(5)**: 819-830.
- Karami, T. K., Hailu, S., Feng, S., Graham, R., and Gukasyan, H. J. 2022. Eyes on lipinski's rule of five: a new "rule of thumb" for physicochemical design space of ophthalmic drugs. *Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics*, **38(1)**: 43-55.
- Kelutur, F. J., Mustarichie, R. and Umar, A. K. 2020. Virtual screening kandungan senyawa kipas laut (*Gorgonia mariae*) sebagai anti-asma. *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*, **16(2)**: 199-210.
- Lainsamputty, F. and Gerungan, N. 2022. Korelasi gaya hidup dan stres pada penderita hiperkolesterolemia. *Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada*, **11(1)**: 138-146. A
- Lukitaningsih, E., Wisnusaputra, A. and Ari Sudarmanto, B. 2015. Skrining in silico senyawa aktif bengkoang (*pachyrrhizus erosus*) sebagai antitirozinase pada jamur kecap. *Traditional Medicine Journal*, **20(1)**: 1-7.
- Mardianingrum, R., Bachtiar, K. R., Susanti, S., Nuraisah, A. N. and Ruswanto, R. 2021. Studi in silico senyawa 1,4-naphthalenedione-2-ethyl-3-hydroxy sebagai antiinflamasi dan antikanker payudara. *Alchemy Jurnal Penelitian Kimia*, **17(1)**: 83-95.
- Mardianingrum, R., Nur, F. M., and Aji, N. 2022. Skrining senyawa turunan C 14 -Urea tetrandrin dari tanaman anggur herba (*Stephania Tetrandra*) sebagai kandidat antikanker leukimia secara in silico. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, **26(2)**: 113-128.
- Mardianingrum, R. R., Lestary, M. S. R., Aji, N., and Ruswanto, R. 2023. Potential of prenylated flavonoid derivatives from jackfruit roots (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) as liver anticancer candidates: in silico study. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, **26(2)**: 57-63.
- Masriany, M. and Rifaldi. 2022. Studi in silico senyawa cendawan endofit sebagai kandidat obat antiangiogenesis hemangioma. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, **27(1)**: 62-69.
- Muhtadi, A. L., Hidayati, A., Suhendi, T. A., Sudjono,

- H., Yani, J. A. 2017. Pengujian daya antioksidan dari beberapa ekstrak kulit buah asli Indonesia dengan metode FTC. *Simposium Nasional*, **1(1)**: 50-58.
- Muttaqin, F. Z. 2019. 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. *Journal of Pharmacopolium*, **2(2)**: 112–121.
- Novita, E., Ismah, Z., Elyantari, G., and Padang, J. 2018. Pengaruh atorvastatin 40 mg dalam menurunkan kadar kolesterol pada penderita hiperkolesterolemia. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*, **7(1)**: 51-60.
- Nursamsiar, Toding, A. T. and Awaluddin, A. 2016. Studi In silico senyawa turunan analog kalkan dan pirimidin sebagai antiinflamasi: prediksi absorpsi, distribusi dan toksisitas. *Pharmacy*, **13(01)**: 92–100.
- Oktavelia, F. Ardiansyah, A. Khalilah, E. Novianti, S. Hidayat, T. N. A., and Muchtaridi. 2023. Studi in silico senyawa fenolik dari tanaman zaitun (*Olea europaea L.*) sebagai inhibitor her2 Pada kanker payudara. *Jurnal Kimia (Journal of Chemistry)*, **17(1)**: 57–65.
- Pratama, A. A. and Rifai. 2017. Docking molekuler senyawa 5,5'-dibromometilsesamin. *Majalah Farmasi dan Farmakologi*, **21(3)**: 67–69.
- PubChem. 2023. *PubChem* identifikasi untuk CID 5280343, Kuersetin. Available at <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5280343>. Diakses Tanggal 14 Juli 2023.
- Ruswanto, Rahayuningsih, N., Hidayati, N. L. D., Nuryani, G. S., and Mardianingrum, R. 2019. Uji in vitro dan studi in silico senyawa turunan N-benzoylisonicotinohydrazide sebagai kandidat antituberkulosis. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, **17(2)**: 218–226.
- Ruswanto, R., Garna, I. M., Tuslinah, L., Mardianingrum, R., Lestari, T., and Nofianti, T. 2018. Kuersetin, penghambat uridin 5-monofosfat sintase sebagai kandidat anti-kanker. *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*, **14(2)**: 236-248.
- Sagitasa, S., Elizabeth, K., Sulaeman, L. I., Rafasafly, A., Syafr, D. W., Kristande, A., and Muchtaridi, M. 2021. Chimica et natura acta studi in silico senyawa aktif daun singawalang (*Petiveria alliacea*). *Chimica et Natura Acta*, **9(2)**: 58–66.
- Susanti, N. 2022. Deteksi dini kadar gula darah sewaktu, kolesterol total dan asam urat pada masyarakat Kecamatan Deli Tua. *Jurnal Pengabdian Kesehatan Masyarakat*, **2(1)**: 12–22.
- Zhang, M., Swarts, S. G., Yin, L., Liu, C., Tian, Y., Cao, Y., Swarts, M., Yang, S., Zhang, S. B., Zhang, K., Ju, S., Olek, D. J., Schwartz, L., Keng, P. C., Howell, R., Zhang, L., and Okunieff, P. 2011. Antioxidant properties of quercetin. *Advances In Experimental Medicine and Biology*, **701**: 283–289.