

## POTENSI ANTIDIABETES BENZYL BETA D GLUCOPYRANOSIDE DARI DAUN YACON SEBAGAI INHIBITOR ENZIM DPP-4: METODE IN SILICO

Mangatur Riverson S<sup>1)</sup>, Rizarullah<sup>2)</sup>

<sup>1,2)</sup> Program Studi Pendidikan Dokter Universitas Abulyatama

Email: Mangatursinurat@gmail.com

### ABSTRAK

Diabetes mellitus (DM) merupakan suatu kelompok penyakit metabolisme yang ditandai dengan peningkatan kadar gula darah. Daun yacon merupakan tanaman herbal yang sering digunakan sebagai obat herbal. Tujuan dari penelitian ini menganalisis potensi senyawa benzyl beta d glucopyranoside dari daun yacon sebagai obat antidiabetes. Penelitian ini menggunakan metode *in silico* dengan menggunakan perangkat lunak AutoDock Vina. Hasil penelitian menunjukkan energy bebas Gibbs ( $\Delta G$ ) benzyl beta d glucopyranoside (-6.8 kkal/mol), Nilai RMSD (1.101 Å), dan ikatan hidrogen pada asam amino Arg125, Asn710, Ser630, Tyr631. Berdasarkan aturan Lipinski senyawa benzyl beta d glukopyranoside dapat digunakan sebagai obat oral.

**Kata Kunci:** Benzyl beta d glucopyranoside, Daun yacon, *in silico*

### PENDAHULUAN

Diabetes mellitus (DM) merupakan suatu kelompok penyakit metabolisme yang ditandai dengan peningkatan kadar gula darah akibat kurangnya sekresi insulin, kerja insulin ataupun keduanya (Putra & Berawi, 2015). Tatalaksana pada pasien DM dilakukan dengan pemberian Insulin, penggunaan obat oral antidiabetes dan pengaturan gaya hidup (Suciana & Arifianto, 2019). Pengobatan obat oral yang sering digunakan pada pasien DM satu diantaranya penggunaan Sitagliptin. Sitagliptin merupakan obat golongan incretin yang digunakan untuk menghambat sekresi enzim dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) dalam meningkatkan sekresi insulin dari pankreas (Made & Pathni, 2018). Penggunaan obat oral sitagliptin memiliki efek samping secara akut maupun kronis seperti pankreatitis, gagal jantung, reaksi hipersensitivitas, gangguan ginjal, dan hipoglikemia (Merck & Co., 2006). Daun yacon (*Smallanthus sonchifolius*) merupakan tanaman herbal yang sering disebut sebagai tanaman insulin. Sebutan tanaman insulin dikarenakan terdapat senyawa kimia aktif yang dinyatakan efektif dapat menurunkan kadar glukosa dalam darah seperti Fruktooligosacarida dan flavonoid (Pahlawan & Oktaria, 2016).

Penelitian terbaru telah diisolasi senyawa kimia aktif dari daun yacon yaitu benzyl beta d glucopyranoside (Made & Pathni, 2018). Adanya isolasi senyawa baru dari daun yacon, membuat peneliti melakukan penelitian terhadap senyawa kimia aktif benzyl beta d glucopyranoside menggunakan metode *in silico* untuk melihat apakah senyawa ini memiliki potensi sebagai obat antidiabetes pada pasien DM.

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis potensi senyawa benzyl beta d glucopyranoside sebagai obat antidiabetes berdasarkan energi bebas Gibbs ( $\Delta G$ ), Interaksi ikatan hidrogen beserta reduksi asam amino, Root Mean Deviation Square (RMSD) dan menganalisis kelayakan benzyl beta d glucopyranoside sebagai obat oral.

Penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat untuk menjadikan daun yacon sebagai alternatif obat antidiabetes bagi klinisi, menambah referensi tentang senyawa kimia aktif yang dapat menurunkan kadar gula darah dari daun yacon, dan menjadi rujukan penelitian selanjutnya.

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental menggunakan metode *in silico* (komputerisasi). Penelitian ini dilakukan pada Januari 2020 sampai Februari 2020.

Perangkat komputer yang digunakan berspesifikasi Intel Inside CORE i3 CPU 2.00Ghz, 4 GB of RAM dengan sistem *windows* 10. *Docking* dilakukan menggunakan *AutoDock Vina*, *AutoDock Tools*, *Discovery Studio*, *Chemdraw*, *Chem3D*, Aturan *Lipinski's* pada situs [www.scfio.res/in](http://www.scfio.res/in), Protein Bank [www.rcsb.org/pdb](http://www.rcsb.org/pdb) dan ligan pada situs [www.uniprot.com](http://www.uniprot.com).

Bahan yang digunakan dapat pada penelitian ini menggunakan Reseptor enzim DPP-4 yang di unduh dari [www.rcsb.org/pdb](http://www.rcsb.org/pdb) dengan kode 3F8S. Ligan uji benzyl beta d glucopyranoside digambarkan menggunakan *ChemDraw* dan *Chem3D*, kemudian ligan pembanding dan ligan kontrol (*Sitagliptin* dan *Gosogliptin*) diunduh dari situs [www.uniprot.com](http://www.uniprot.com).

## PROSEDUR PENELITIAN

### 1. Penyiapan Struktur Reseptor

Struktur protein diunduh pada situs [www.rcsb.org/pdb](http://www.rcsb.org/pdb), dipilih enzim DPP-4 dengan Kode 3F8S kemudian Protein di preparasi menggunakan software *Discovery studio* dan *AutoDock Tools*.

### 2. Penyiapan Struktur ligan

Ligan uji digambarkan menggunakan *ChemDraw* dan *Chem3D*, kemudian dipreparasi menggunakan *Discovery studio* dan *Autodock Tools*. Ligan pembanding dan ligan kontrol di unduh pada situ [www.uniprot.com](http://www.uniprot.com) kemudian di preparasi menggunakan *Discovery studio* dan *AutoDock Tools*.

### 3. Preparasi file *docking*

Dengan menggunakan *Autodock Tools*, ligand dan reseptor diubah format file menjadi *.pdbqt*. merubah number of torsion dan mengatur *grid box* pada reseptor.

### 4. Moleculer *docking*

*Docking* dilakukan dengan menggunakan *software* *AutoDock Vina* dan dijalankan menggunakan *command prompt*

### 5. Analisis dan visualisasi *docking*

Analisis hasil *docking* dapat dilakukan dengan melihat hasil *docking* pada note pade yang menunjukkan hasil berupa nilai energi Gibbs dan RMSD kemudian menganalisis hasil *docking* secara visual menggunakan *Discovery studio*.

### 6. Aturan Lipinski

Penilaian kelayakan ligan uji menjadi obat oral dilakukan dengan memasukan ligan uji, pembanding dan kontrol dalam bentuk file *pdb* kedalam situs [www.scfio.res/in](http://www.scfio.res/in) lalu melakukan prediksi.

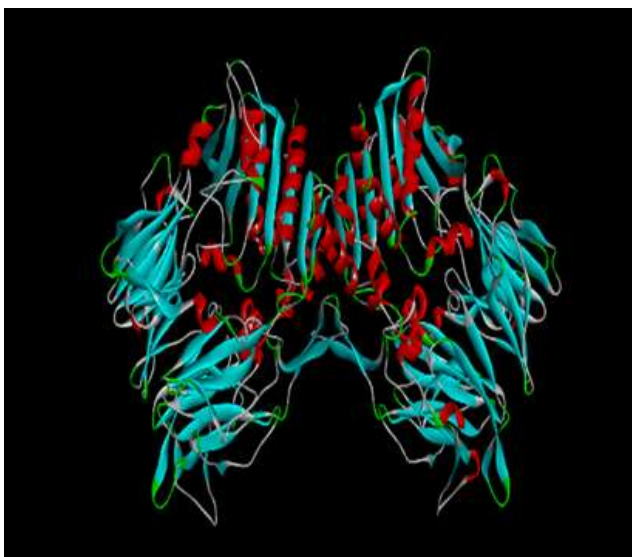
## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Identifikasi Reseptor

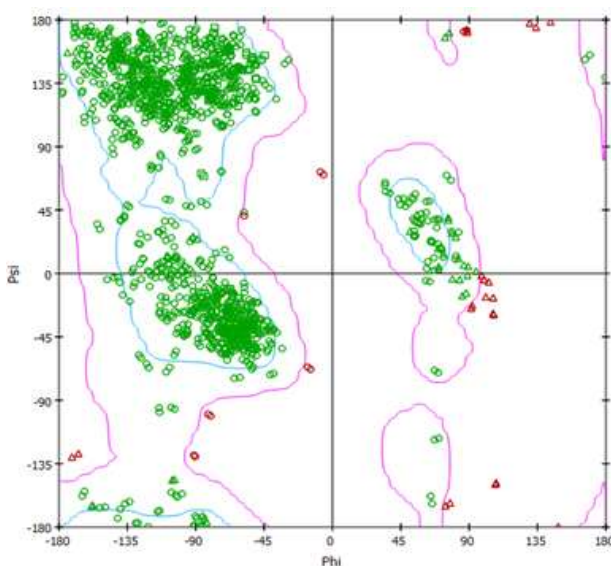
Struktur pada enzim DPP-4 yang digunakan di unduh melalui bank data dengan bentuk file PDB yang telah di kristalisasi dengan kode 3F8S. Enzim DPP-4 memiliki sisi aktif pada asam amino Glu205, Glu206, Asn710, Tyr662, Arg125, Ser630, Phe357, Tyr666, Tyr547, dan Ser209 dengan ligan bawaan *gosogliptin*.

Enzim DPP-4 merupakan reseptor yang digunakan pada penelitian ini. Enzim DPP-4 berasal dari manusia yang di kristalisasi oleh Ammiratih dengan kode 3F8S. Pada enzim DPP-4 juga memiliki inhibitor yang telah digunakan dalam obat komersial yaitu *gosogliptin*. DPP-4 yang digunakan pada penelitian ini memiliki ikatan protein yang lengkap dan nilai resolusi 2.43 Å.

Analisis kesetabilan reseptor melalui diagram *rahmachandran plot* dari enzim DPP-4 terdiri atas empat area. Area bergaris biru adalah area yang diijinkan dan favorit sedangkan daerah yang berada diluar garis pink adalah daerah yang tidak diinginkan (Gambar 2). Dari data yang didapatkan asam amino yang berada didaerah yang disukai sebesar 92%, daerah yang tidak diizinkan 7% dan daerah yang dilarang 1% (Ammirati & Liu, 2018).



Gambar 1. Visualisasi Enzim DPP-4



Gambar 2. Rahmachandran Plot DPP-4

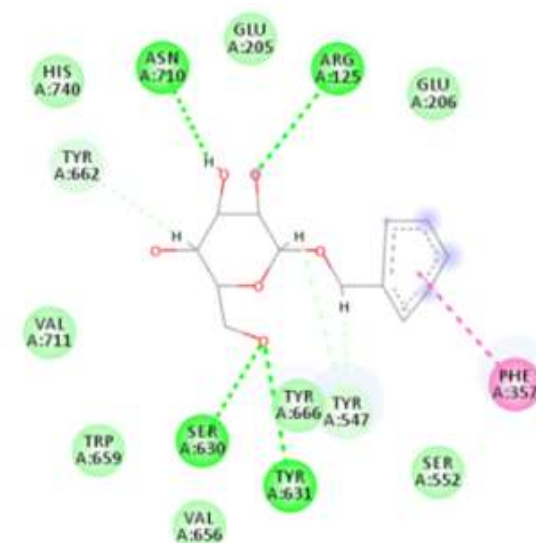
### Validasi Metode Penelitian

Validasi metode penelitian menggunakan ligan bawaan gosogliptin dilakukan sebanyak lima kali penambatan dan menghasilkan nilai rmsd (u.b) 1.997 Å dan rmsd (l.b) 1.628 Å. Nilai *grid box* yang digunakan memiliki ukuran dimensi x, y, dan z masing-masing 40 dan nilai pusat x 18.338, y 18.045, dan pusat z 34.070. hasil pengulangan ligan gosogliptin juga mendapatkan nilai energi Gibbs sebesar -8.1 kkal/mol. Interaksi antara ligan bawaan yang divalidasi menunjukkan interaksi dengan asam amino Tyr662, Tyr666, Ser630, Arg358, Ser209, Phe357, Arg669, Glu206, Arg125, His740, Tyr547, Tyr631, Val656, Trp659, Asn710, Glu205, Val711, Tyr662, dan Tyr666.

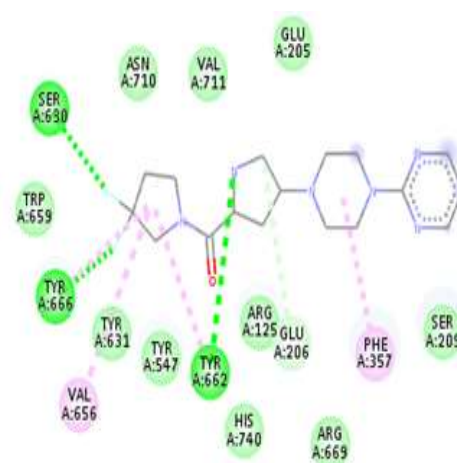
### Docking Molekuler

Hasil *docking* pada ligan uji, ligan kontrol, dan ligan pembanding menghasilkan nilai energi Gibbs ( $\Delta G$ ), residu ikatan, dan nilai RMSD. nilai Gibbs masing-masing sebesar -6,8 kkal/mol, -8.1 kkal/mol, dan -8.4 kkal/mol. Interaksi residu ikatan ligan yang dihasilkan

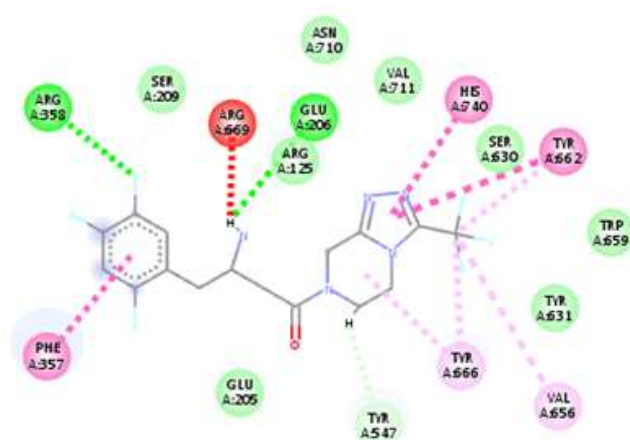
dari *docking* dengan reseptor DPP-4 menunjukkan ligan uji membentuk 4 ikatan hidrogen pada residu asam amino Arg125, Asn710, Ser630, dan Tyr631. Masing masing panjang ikatan hidrogen (2.81 Å, 2.03 Å, 1.91 Å dan 2.61 Å). Pada ligan kontrol didapatkan residu ikatan hidrogen pada asam amino Tyr662, Tyr666, dan Ser630 dengan panjang masing masing (3.35 Å, 2.60 Å, dan 2.70 Å). Pada ligan pembanding didapatkan residu ikatan hidrogen pada asam amino Glu206 dan Arg358 dengan panjang ikatan hidrogen (2.64 Å dan 2.88 Å). Nilai RMSD yang dihasilkan dari ligan uji, ligan kontrol, dan ligan pembanding masing-masing sebesar 1.101 Å, 1.557 Å, dan 1.858 Å.



Gambar 3. Visualisasi Ligan Uji



Gambar 4. Visualisasi Ligan Kontrol



Gambar 5. Visualisasi Ligan Pembanding

Tabel 1. Hasil Molekuler *Docking*

Ligan	Energi Gibbs (Å)	RMSD (Å)	Panjang Ikatan Hidrogen	Residu Ikatan Hidrogen
<b>Ligan Uji</b>	-6.8	1.101	2.81	Arg125
			2.03	Asn710
			1.91	Ser630
			2.61	Tyr631
			3.35	Tyr662
<b>Ligan Kontrol</b>	-8.1	1.557	2.60	Tyr666
			2.70	Ser630
			2.64	Glu206
			2.88	Arg358

Tabel 2. Residu Asam Amino

Ligan	Residu Asam Amino
<b>Ligan Uji</b>	<b>Phe357</b> , Ser552 <b>Tyr547</b> , <b>Tyr666</b> , Tyr631, <b>Ser630</b> , Val656, Trp659, Val711, Tyr662, His 710, <b>Glu205</b> , <b>Arg125</b> , <b>Glu 206</b>
<b>Ligan Kontrol</b>	Arg358, Ser209, <b>Phe357</b> , Arg669, <b>Glu206</b> , <b>Arg125</b> , His740, <b>Tyr662</b> , <b>Tyr547</b> , Tyr631, Val656, Tyr666, Trp659, <b>Asn710</b> , Val711, <b>Glu205</b>
<b>Ligan Pemanding</b>	<b>Glu206</b> , Arg358, <b>Phe357</b> , <b>Glu205</b> , <b>Tyr547</b> , <b>Tyr666</b> , Val656, Ytr631, Trp659, Tyr662, <b>Ser630</b> , His740, Val711, <b>Arg125</b> , <b>Asn710</b> , Arg669, <b>Ser209</b>

### Analisis Aturan Lipinski

Hasil dari analisis aturan Lipinski berkaitan dengan lima parameter yang yaitu

Massa atom relatif, Log P, donor ikatan H, akseptor ikatan, dan molar reaktifitas molar. Hasil analisis dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil Aturan Lipinski

Aturan Lipinski	Ligan Uji	Ligan Kontrol	Ligan Pemanding
A	256	336	368
B	4	1	3
C	6	7	5
D	0.525	0.196	-2.246
E	56.804	92.157	90.071

Keterangan :

A : Massa Atom relatif

B : Donor ikatan hidrogen

C : Akseptor Ikatan hidrogen

D: Log P

E : Reaktifitas molar

Enzim DPP-4 yang digunakan sebagai reseptor pada penelitian ini merupakan hasil analisis kristalografi oleh ammiratih dengan kode file PDB 3F8S. Hasil kristalografi menunjukkan resolusi enzim DPP-4 bernilai 2.43 Å. nilai resolusi hasil kristalografi pada enzim DPP-4 ini termasuk dalam kategori sedang dimana pembagian kategori resolusi difraksi dibagi menjadi empat kategori yaitu kecil (<3.00 Å), sedang (2.70-2.00 Å), tinggi (2.00-1.50 Å), dan Sangat tinggi (<1.5 Å).

Semakin kecil nilai kristalografi, maka akan semakin spesifik terhadap visualisasi gambar yang dihasilkan (Made & Pathni, 2018). Dengan hasil ini dapat dinyatakan reseptor yang digunakan pada penelitian ini valid. Pada reseptor DPP-4 terdapat 722 asam amino residu yang dapat berikatan. Asam amino yang menjadi sisi aktif dari enzim DPP-4 terdiri dari Glu205, Glu206, Asn710, Tyr662, Arg125, Ser630, Phe357, Tyr666, Tyr547, dan Ser209 (Anitha et al., 2013). Sisi aktif pada reseptor ini

merupakan tempat melekatnya inhibitor untuk menghambat reaksi dari enzim.

Diagram Ramachandran merupakan diagram yang menunjukkan konfirmasi sudut hidral untuk menentukan posisi asam amino dan mengetahui kualitas struktur reseptor dari hasil kristalisasi. Analisisi kesetabilan reseptor diperhatikan dalam diagram ramachandran yang dibagi menjadi area yang tidak diijinkan, area dilarang, dan area favorit (Suhadi, Rizarullah, & Feriyani, 2019). Hasil analisis reseptor didapatkan data asam amino di area yang disukai 92%, area yang diizinkan 7%, dan daerah yang tidak diizinkan 1%. Dari hasil analisis tersebut dapat diartikan terdapat 92% asam amino non glisin yang berada pada area yang disukai dan 7% di daerah yang diizinkan. Sedangkan terdapat 1% asam amino glisin yang terdapat di area yang tidak diizinkan. Jika terdapat asam amino non-glisisin berada pada area yang tidak diizinkan sebanyak 15% dan residu asam amino non glisin kurang dari 80% pada daerah yang disukai dan diizinkan maka struktur reseptor dinyatakan kurang baik (Ho & Brasseur, 2005). Dari hasil di atas dapat dinyatakan bahwa reseptor DPP-4 memiliki kualitas yang sangat baik dan valid digunakan sebagai reseptor.

Metode *docking* merupakan metode utama komputasi dalam proses pencarian dan pengembangan obat yang memiliki prinsip mengikatkan ligan pada enzim sehingga terbentuk molekul kompleks dan kesetabilan antar ligan enzim (Norviardi & Fachrurrazie, 2015). Validasi penggunaan metode *in silico* pada penelitian ini dilakukan dengan pengulangan *docking (redocking)* pada ligan bawaann enzim. *Redocking* dilakukan sebanyak lima kali dan menghasilkan nilai rata - rata RMSD (u.b) 1.997 Å dan RMSD (l.b) 1.628 Å dengan menggunakan *grid box* ukuran dimensi x, y, dan z masing- masing 40 dan nilai pusat x (18.338), y (18.045), dan pusat z (34.070). validasi penambatan molekul dapat dinyatakan valid bila nilai RMSD kurang dari atau sama dengan 2.00 Å (Istyastono, 2010). hasil pada

penambatan molekul ini didapatkan RMSD kurang dari 2 Å. Maka, metode yang digunakan pada penelitian ini dapat dinyatakan valid.

Hasil Docking pada ligan uji, ligan kontrol, dan ligan pembading menghasilkan nilai Gibbs ( $\Delta G$ ), residu ikatan hidrogen, dan nilai RMSD. Nilai Gibbs merupakan parameter kesetabilan konfirmasi antara ligand dan reseptor. Prinsip dari energi Gibbs adalah semakin rendah atau semakin negatif hasil nilai Gibbs maka ikatan kompleks antara ligan dan reseptor akan semakin kuat (Suhadi et al., 2019). Hasil analisis ligan uji, ligan kontrol dan ligan pembading didaptkan besar energi Gibbs masing masing sebesar -6,8 , -8.1 dan -8.4 kkal/mol (tabel 1). Pada hasil ini dapat dibandingkan sitagliptin sebagai ligan pembading yang merupakan obat komersial memiliki nilai energi gibbs tertinggi yang menyatakan bahwa sitagliptin memiliki ikatan yang lebih stabil. Ligan uji pada penelitian ini juga dapat dinyatakan memilki interaksi yang kuat antara reseptor dan liga dimana nilai gibbs bernilai negatif dan menghasilkan interaksi.

RMSD (Root Mean Square Deviation) merupakan indikasi suatu senyawa memiliki sifat kompetitif inhibitor. Nilai RMSD yang dinyatakan dapat memiliki sifat kompetitif inhibitor bernilai  $< 2.5$  (Setiawan, 2015). Hasil penelitian pada tabel 1 dapat dilihat nilai RMSD ligan uji, ligan kontrol, dan ligan pembading masing masing 1.101 Å, 1.557 Å, dan 1.858 Å. Hasil ini menunjukkan bahwa semua ligan uji, kontrol, dan pembading memiliki sifat kompetitif inhibitor untuk menghambat enzim DPP-4.

Ikatan hidrogen merupakan interaksi yang dapat menyetabilkan ikatan antara ligan dan reseptor. Analisis ikatan antara ligan dan reseptor pada ikatan hidrogen berkaitan dengan residu asam amino reseptor yang menunjukkan sisi perlekatan ligan pada reseptor. Ikatan hidrogen dinyatakan lemah jika panjang ikatan hidrogen  $< 1.85$  Å (Varma et al., 2010).

Hasil analisis docking pada tabel 1 menunjukkan ligan iju memiliki empat ikatan

hidrogen dengan panjang ikatan 2.81 Å, 2.03 Å, 1.91 Å, dan 2.61 Å pada residu asam amino Arg125, Asn710, Ser630, dan Tyr631. Ligan kontrol memiliki tiga ikatan hidrogen dengan panjang ikatan 3.35 Å, 2.60 Å, dan 2.70 Å pada residu asam amino Tyr662, Tyr666, Ser630. Ligan pembanding memiliki dua ikatan hidrogen dengan panjang ikatan 2.64 Å dan 2.88 Å pada asam amino residu Glu206 dan Arg358. Secara keseluruhan ikatan hidrogen yang terdapat pada ligan uji, ligan kontrol, dan ligan pembanding merupakan ikatan hidrogen yang lemah. Namun, ikatan ini dapat dinyatakan stabil karena semua ligan ini berikatan dengan sisi aktif pada asam amino Phe357, Tyr547, Tyr666, Ser630, Glu205, Arg125, Glu206, Tyr662, Asn710, Ser209.

Aturan lipinski adalah kriteria yang digunakan untuk menentukan kelayakan suatu senyawa dapat digunakan sebagai obat oral. Aturan Lipinski berkaitan dengan farmakokinetik obat. Terdapat 5 kriteria yang harus dipenuhi suatu senyawa untuk dijadikan kandidat obat oral yaitu massa atom relatif <

500 Mr, jumlah gugus donor ikatan hidrogen < 5, jumlah gugus penerima ikatan < 10, log P kurang dari +5, dan reaktifitas molar 40-130 (Lipinski, 2004). Jika suatu senyawa tidak memenuhi salah satu dari kelima kriteria tersebut, maka senyawa tersebut tidak dapat digunakan secara oral dan disarankan digunakan secara injeksi (Suhadi et al., 2019). Berdasarkan dari aturan Lipinski pada tabel 3 ligan uji, ligan kontrol dan ligan pembanding memenuhi syarat untuk digunakan sebagai obat oral.

## KESIMPULAN

Energi gibbs yang terdapat pada senyawa benzyl beta d glukopyranoside bernilai -6.8 kkal/mol dan berpotensi menjadi inhibitor enzim DPP-4. Ikatan asam amino yang berperan dalam sisi aktif Phe257, Tyr547, Tyr666, Ser630, Glu205, Arg125, dan Glu206. Ligan uji dapat menjadi inhibitor kompetitif pada enzim DPP-4 berdasarkan nilai RMSD (1.101 Å). Berdasarkan aturan Lipinski senyawa benzyl beta d glukopyranoside layak digunakan sebagai obat oral.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ammirati, M. ., & Liu, S. (2018). *Crystal struktur of dipeptidyl peptidase IV in cpmplex with inhibitor* (Vol. 0).
- Anitha, K., Gopi, G., Kumar, P. S., College, M., Road, C. T. M. X., Dt, C., & Pradesh, A. (2013). Molecular Docking Study On Dipeptidyl Peptidase-4 Inhibitor. *International Journal of Research and Development in Pharmacy and Life Sciences*, 2(5), 602–610.
- Ho, B. K., & Brasseur, R. (2005). The Ramachandran plots of glycine and pre-proline. *BMC Structural Biology*, 5, 1–11.
- Istyastono, E. P. (2010). Docking Studies of Curcumin As a Potential Lead Compound To Develop Novel Dipeptidyl Peptidase-4 Inhibitors. *Indonesian Journal of Chemistry*, 9(1), 132–136.
- Lipinski, C. A. (2004). Lead- and drug-like compounds: The rule-of-five revolution. *Drug Discovery Today: Technologies*, 1(4), 337–341.
- Made, P., & Pathni, S. D. (2018). Tren Terapi Diabetes dengan GLP-1 Receptor Agonist. *Cermin Dunia Kedokteran*, 45(4), 291–296.
- Merck & Co., I. (2006). *Januvia (Sitagliptin)* (pp. 3–4). pp. 3–4. Retrieved from [https://www.merck.com/product/usa/pi\\_circulars/j/januvia/januvia\\_pi.pdf](https://www.merck.com/product/usa/pi_circulars/j/januvia/januvia_pi.pdf)
- Norviardi, H., & Fachrurrazie. (2015). Potensi Senyaw Bullatalisin Sebagai Inhibitor Protein Leukotrien A4 Hidrolase Pada Kanker Kolon Secara In Silico. *Fitofarmaka*, 5(2), 65–73.
- Pahlawan, P. P., & Oktaria, D. (2016). Pengaruh Daun Insulin (*Smallanthus sonchifolius*) sebagai Antidiabetik. *Majority*, 5(4), 133.
- Putra, I. W. A., & Berawi, K. N. (2015). Empat Pilar Penatalaksanaan Pasien Diabetes Mellitus Tipe 2. *Majority*, 4(9), 8–12.
- Setiawan, T. (2015). *Studi molecular docking ekstrak kurkuminoid asal wonogiri sebagai inhibitor enzim dna topoisomerase*

*ii tirta setiawan*. Universitas Pertanian Bogor.

- Suciana, F., & Arifianto, D. (2019). Penatalaksanaan 5 Pilar Pengendalian DM terhadap Kualitas Hidup Pasien DM tipe 2. *Jurnal Ilmiah Permas: Jurnal Ilmiah STIKES Kendal*, 9(4), 311–318.
- Suhadi, A., Rizarullah, R., & Feriyani, F. (2019). Simulasi Docking Senyawa Aktif Daun Binahong Sebagai Inhibitor Enzyme Aldose Reductase. *Sel Jurnal Penelitian Kesehatan*, 6(2), 55–65.
- Varma, A. K., Patil, R., Das, S., Stanley, A., Yadav, L., & Sudhakar, A. (2010). Optimized Hydrophobic Interactions and Hydrogen Bonding at the Target-Ligand Interface leads the Pathways of Drug-Designing. *PLoS ONE*, 5(8), 1–8.