JURNAL RISETA NATURAFARM

B-CRETA Publisher
Pharma Insight Solutions

Artikel

Molecular Docking and Drug–Likeness Profiling of Phytochemical from *Murraya koenigii* against Estrogen Receptor Alpha

Penambatan Molekuler dan Profil *Drug–Likeness* Senyawa Fitokimia dari *Murraya koenigii* terhadap Reseptor Estrogen Alfa

Yasmin Fathina Saputra [1], Muhammad Nahrawi Udharaja [2], Viviana Idris [3], Iswahyudi [2,*]

1 Facultas Farmasi, Universitas Mulawarman, Samarinda, Kalimantan Timur, Indonesia
2 Research and Development Laboratory, PT. Borneo Riseta Naturafarm, Kutai Kertanegara, Kalimantan Timur, Indonesia
3 UPTD Pusat Kesehatan Masyarakat (Puskesmas) Sidomulyo, Dinas Kesehatan Kota Samarinda, Samarinda, Kalimantan Timur, Indonesia.
* Correspondence: iswahyudifarm@gmail.com

Citation: Saputra, Y.F.; Udharaja, M.N.; Idris, V.; Iswahyudi. Molecular Docking and Drug-Likeness Profiling of Phytochemical from *Murraya koenigii* against Estrogen Receptor Alpha (Penambatan Molekuler dan Profil *Drug-Likeness* Senyawa Fitokimia dari *Murraya koenigii* terhadap Reseptor Estrogen Alfa). J Riseta Naturafarm 2026, 3(2), 78-89. https://doi.org/10.70392/jrn.v3i2.7889

Academic Editor: Dr. Supandi

Received: 16 August 2026
Revised: 27 September 2026
Accepted: 9 November 2026

Publisher's Note: B-CRETA publisher stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Copyright: © **2025** by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike (CC-BY-NC-SA) 4.0 International License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/).
ISSN: 3047-5457

Abstract

Breast cancer remains a major health problem, particularly in estrogen receptor-positive disease in which estrogen receptor alpha (ER-α) is an important molecular target. Curry leaf (*Murraya koenigii*) contains diverse secondary metabolites with reported pharmacological activities, but the interaction of its phytochemicals with ER-α has not been comprehensively characterized in the present study framework. This study evaluated 20 phytochemicals from *M. koenigii* against ER-α using an in silico molecular docking approach. The ER-α structure (PDB ID: 3ERT) was prepared using AutoDock Tools, while test ligands were constructed and energy-minimized using MarvinSketch. Docking was performed with AutoDock4 using the validated grid parameters, and binding interactions were visualized with BIOVIA Discovery Studio Visualizer. The redocking validation produced an RMSD of 1.049 Å, supporting the applicability of the docking protocol. Eleven compounds showed binding energies approaching the reference ligand 4-hydroxytamoxifen; Murrayazoline (-10.68 kcal/mol) and Pyrayafoline D (-10.11 kcal/mol) showed the most favorable docking scores among the tested phytochemicals. Ten of the 11 selected compounds interacted with relevant ER-α binding-site residues, while Isomahanine did not directly interact with the key Glu353/Arg394 site. Swiss-ADME prediction further identified Koenimbine, O-Methylmurrayamine, and Koenine as the most favorable compounds in the combined drug-likeness assessment, although Koenine showed a saturation-related limitation. These findings provide an *in silico* basis for prioritizing *M. koenigii* phytochemicals for subsequent experimental validation.

Keywords: *Murraya koenigii*; estrogen receptor alpha; molecular docking; phytochemicals; Swiss-ADME; drug-likeness

Abstrak

Kanker payudara merupakan salah satu masalah kesehatan utama, khususnya pada kanker yang bergantung pada reseptor estrogen, sehingga estrogen receptor alpha (ER-α) menjadi salah satu target molekuler penting. Salam koja (*Murraya koenigii*) mengandung beragam metabolit sekunder dengan berbagai aktivitas farmakologis, tetapi karakterisasi interaksi senyawa fitokimianya terhadap

ER-α masih terbatas. Penelitian ini bertujuan mengevaluasi 20 senyawa metabolit sekunder *M. koenigii* terhadap ER-α menggunakan pendekatan penambatan molekuler secara *in silico*. Struktur ER-α (PDB ID: 3ERT) dipreparasi menggunakan AutoDock Tools, sedangkan ligan uji dibangun dan diminimasi energinya menggunakan MarvinSketch. Proses penambatan dilakukan dengan AutoDock4 menggunakan parameter *grid* yang telah divalidasi, sedangkan interaksi ligan–reseptor divisualisasikan menggunakan BIOVIA Discovery Studio Visualizer. Validasi penambatan ulang menghasilkan RMSD 1,049 Å sehingga protokol penambatan dinilai dapat digunakan. Sebelas senyawa menunjukkan energi ikatan yang mendekati ligan pembanding 4-hidroksitamoksifen. Murrayazoline (-10,68 kcal/mol) dan Pyrayafoline D (-10,11 kcal/mol) memberikan energi ikatan paling menguntungkan di antara senyawa uji. Sepuluh dari 11 senyawa terpilih berinteraksi dengan residu binding site ER-α, sedangkan Isomahanine tidak menunjukkan interaksi langsung dengan Glu353/Arg394. Prediksi Swiss-ADME menunjukkan Koenimbine, O-Methylmurrayamine, dan Koenine memiliki profil *drug-likeness* paling baik secara keseluruhan, meskipun Koenine memiliki keterbatasan pada parameter kejenuhan. Hasil ini memberikan dasar *in silico* untuk memprioritaskan senyawa *M. koenigii* untuk validasi eksperimental lebih lanjut.

Kata Kunci: *Murraya koenigii*; reseptor estrogen alfa; penambatan molekuler; fitokimia; Swiss-ADME; drug-likeness

1. PENDAHULUAN

Kanker payudara merupakan salah satu kanker yang paling sering didiagnosis pada perempuan dan memiliki beban mortalitas yang besar. Secara biologis, kanker payudara merupakan kelompok penyakit yang heterogen dan dapat diklasifikasikan berdasarkan ekspresi reseptor estrogen (ER), reseptor progesteron (PR), dan human *epidermal growth factor receptor 2* (HER2) [1,2]. Di antara target tersebut, estrogen receptor alpha (ER-α) mempunyai peran penting pada kanker payudara ER-positif karena bertindak sebagai faktor transkripsi yang dipengaruhi ligan dan mengatur ekspresi gen yang berhubungan dengan pertumbuhan serta proliferasi sel [3]. Oleh karena itu, modulasi ER-α merupakan salah satu dasar penting terapi endokrin pada kanker payudara.

Terapi endokrin seperti tamoxifen bekerja melalui modulasi reseptor estrogen dan tetap menjadi salah satu pendekatan penting pada kanker payudara yang bergantung pada hormon [1,4]. Struktur kompleks ER-α dengan ligan antagonis menunjukkan bahwa residu tertentu, terutama Glu353, Arg394, Asp351, dan His524, berperan penting dalam pengenalan ligan dan perubahan konformasi reseptor. Interaksi tersebut dapat memengaruhi posisi heliks 12 dan selanjutnya menentukan kemampuan reseptor merekrut ko-aktivator serta mengaktifkan transkripsi gen respons estrogen [5,6]. Pemahaman terhadap pola interaksi pada kantong pengikatan ER-α karena itu penting dalam penapisan kandidat senyawa baru.

Bahan alam merupakan sumber penting bagi penemuan kandidat obat karena menyediakan keragaman struktur kimia yang luas. Salam koja atau curry leaf (*Murraya koenigii*) merupakan tanaman dari famili Rutaceae yang telah dilaporkan mengandung alkaloid karbazol, flavonoid, terpenoid, dan senyawa fenolik. Berbagai bagian tanaman dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan, antimikroba, antidiabetes, antiinflamasi, hingga antikanker [7,8]. Beberapa metabolit sekunder seperti mahanine, mahanimbine, girinimbine, isomahanine, koenimbine, dan pyrayafoline D telah mendapatkan perhatian karena aktivitas biologisnya [7,8]. Studi eksperimental dan komputasional juga mendukung kemungkinan adanya aktivitas antikanker dari *M. koenigii*, termasuk pada model kanker payudara [9].

Namun, aktivitas biologis suatu senyawa tidak hanya ditentukan oleh keberadaan gugus fungsional tertentu, tetapi juga oleh kemampuan molekul berinteraksi secara spasial dan energetik dengan target. *Molecular docking* atau penambatan molekular merupakan pendekatan *structure-based drug design* yang dapat digunakan untuk memprediksi orientasi ligan dalam *binding pocket*, afinitas relatif, serta residu yang berkontribusi pada pembentukan kompleks [10,11]. Pendekatan ini memungkinkan penyaringan awal sejumlah besar senyawa dengan kebutuhan waktu dan sumber daya yang lebih rendah dibandingkan pengujian biologis langsung [10]. *AutoDock* merupakan salah satu perangkat yang banyak digunakan untuk

melakukan simulasi tersebut, sedangkan visualisasi interaksi dapat dilakukan dengan perangkat lunak seperti *BIOVIA Discovery Studio Visualizer* [12,13].

State of the art penelitian *M. koenigii* menunjukkan bahwa sebagian besar informasi mengenai aktivitas antikanker berasal dari kajian fitokimia, uji biologis, atau prediksi target yang belum secara khusus menguraikan seluruh profil interaksi metabolit sekundernya terhadap ER-α. Penelitian sebelumnya terhadap senyawa bahan alam pada ER-α menunjukkan bahwa pola ikatan dengan Glu353, Arg394, dan residu hidrofobik di dalam *binding pocket* merupakan aspek penting untuk membedakan afinitas dan kemungkinan aktivitas agonis atau antagonis [5,6,14]. Dengan demikian, pemetaan sistematis terhadap 20 senyawa *M. koenigii* pada satu target ER-α dapat memperkaya dasar pemilihan kandidat untuk penelitian berikutnya.

Kebaruan penelitian ini terletak pada integrasi tiga tingkat evaluasi, yaitu (i) perbandingan energi ikatan dan konstanta inhibisi 20 metabolit sekunder *M. koenigii* terhadap ER-α, (ii) karakterisasi interaksi residu pada binding site dibandingkan dengan ligan pembanding, dan (iii) penyaringan lanjutan kandidat terbaik berdasarkan sifat fisikokimia, lipofilisitas, kelarutan, prediksi farmakokinetik, toksisitas, dan *drug-likeness* menggunakan Swiss-ADME. Pendekatan terintegrasi tersebut penting karena afinitas penambatan yang baik belum tentu diikuti oleh profil fisikokimia dan farmakokinetik yang sesuai untuk pengembangan obat. Penelitian ini bertujuan menentukan senyawa *M. koenigii* yang menunjukkan afinitas prediktif terhadap ER-α, mengidentifikasi pola interaksinya dengan residu binding site, serta mengevaluasi profil *absorption, distribution, metabolism, excretion, and toxicity* (ADME-TOX) dan *drug-likeness* sebagai dasar prioritas kandidat untuk validasi lebih lanjut.

2. BAHAN DAN METODE

2.1. Bahan

Bahan penelitian berupa struktur tiga dimensi ER-α dengan *protein data bank identifier* (PDB ID) 3ERT dan 20 senyawa metabolit sekunder *M. koenigii* yang terdiri atas Mahanine, Mahanimbine, Isomahanine, Koenimbine, Girinimbine, Isolongifolene, Pyrayafoline D, Murrayafoline, Murrayazoline, Koenoline, 9-formyl-3-methylcarbazole, O-Methylmurrayamine, Koenine, Koenigine, Mukonicine, Mahanimbinine, Murrayacinine, Mahanimboline, Mukoeic acid, dan Murrayanine [7,8]. Ligan pembanding yang digunakan dalam validasi dan perbandingan adalah 4-hidroksitamoksifen.

2.2. Alat

Perangkat utama yang digunakan adalah laptop *ASUS VivoBook* dengan prosesor *AMD Ryzen 5 4500U* dan *RAM 8 GB*. Perangkat lunak yang digunakan meliputi *AutoDock Tools 1.5.7/AutoDock4* untuk preparasi dan penambatan, *MarvinSketch* untuk pembangunan dan minimisasi struktur ligan, *BIOVIA Discovery Studio Visualizer* untuk visualisasi interaksi, *Open Babel GUI* untuk konversi format, serta *Swiss-ADME* untuk prediksi sifat fisikokimia, farmakokinetik, kelarutan, dan *drug-likeness*.

2.3. Prosedur

2.3.1. Preparasi reseptor dan ligan pembanding

Struktur ER-α dengan PDB ID 3ERT diperoleh dari RCSB Protein Data Bank (https://www.rcsb.org/strcture/3ERT). Struktur memiliki resolusi 1,9 Å; evaluasi Ramachandran pada naskah sumber menunjukkan 91,2% residu berada pada *most favored region* dan 0,0% pada *disallowed region*. Ligan asli dipisahkan dari reseptor menggunakan *AutoDock Tools*. Molekul air dihilangkan, atom hidrogen ditambahkan, dan reseptor serta ligan disimpan dalam format PDB kemudian dikonversi ke PDBQT. Preparasi ini mengikuti alur umum preparasi reseptor untuk *AutoDock* [12,15].

2.3.2. Preparasi ligan uji

Struktur dua dimensi setiap senyawa dibangun menggunakan MarvinSketch, kemudian dikonversi menjadi struktur tiga dimensi dan diminimasi menggunakan *Merck Molecular Force Field 1994* (MMFF94). Struktur hasil minimisasi disimpan dalam format PDB dan selanjutnya dipersiapkan dalam format PDBQT untuk penambatan.

2.3.3. Validasi dan Penambatan Molekular

Validasi dilakukan melalui penambatan ulang ligan pembanding pada *binding pocket* ER-α. *Grid box* yang digunakan berukuran 40 × 29 × 40 Å dengan *grid center* pada x = 30,01; y = −1,913; dan z = 24,206. Parameter penambatan dijalankan menggunakan algoritma *Lamarckian Genetic Algorithm* (LGA). Penambatan ulang dilakukan sebanyak 100 kali running dan menghasilkan *Root Mean Square Deviation* (RMSD) sebesar 1,049 Å dengan cluster 99%. Karena RMSD lebih kecil dari 2 Å, parameter penambatan dinilai memenuhi kriteria validitas yang digunakan dalam penelitian sumber [11]. Selanjutnya, 20 ligan uji ditambatkan menggunakan *grid* dan parameter yang sama. Konformasi terbaik ditentukan berdasarkan nilai energi ikatan terendah dan hasil penambatan dievaluasi berdasarkan nilai energi bebas Gibss (ΔG) dan konstanta inhibisi (Ki).

2.3.4. Analisis Interaksi dan ADME-TOX

Interaksi ligan–reseptor divisualisasikan menggunakan BIOVIA Discovery Studio Visualizer dan diklasifikasikan sebagai ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik, *van der Waals*, atau *unfavorable*. Senyawa yang memiliki energi ikatan mendekati ligan pembanding diprioritaskan untuk analisis lanjutan. Sifat fisikokimia, lipofilisitas, kelarutan, farmakokinetik, dan drug-likeness diprediksi menggunakan Swiss-ADME. Parameter yang dievaluasi meliputi berat molekul, jumlah *heavy atom*, *aromatic heavy atom*, Carbon sp3 fraction (fraksi Csp3), *rotatable bond*, *hydrogen-bond acceptor/donor*, *Topological Polar Surface Area* (TPSA), tiga model *partition coefficient* (logP) dan aqueous solubility (logS), absorpsi *gastro intestinal* (GI), permeasi *Blood-Brain Barrier* (BBB), substrat *permeability glycoprotein* (P-gp), inhibisi cytochrome P450 (CYP), *Permeability Coefficient* (log Kp), serta lima model *drug-likeness*.

2.4. Analisis data

Data dianalisis secara deskriptif dengan membandingkan energi ikatan, Ki, pola interaksi residu, dan parameter ADME-TOX. Nilai ΔG yang lebih negatif diperlakukan sebagai indikator afinitas prediktif yang lebih tinggi. Interpretasi kandidat tidak hanya didasarkan pada skor penambatan, tetapi juga pada kesesuaian interaksi dengan *binding site* dan profil *drug-likeness*.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Validasi Struktur Reseptor dan Protokol Penambatan

Kualitas struktur target merupakan tahap penting sebelum interpretasi hasil penambatan. Struktur ER-α (PDB ID: 3ERT) yang digunakan memiliki resolusi 1,9 Å dan parameter Ramachandran yang dilaporkan dalam naskah sumber menunjukkan 91,2% residu berada pada *most favored region* serta tidak terdapat residu pada *disallowed region*. Parameter tersebut mendukung penggunaan struktur sebagai model target untuk penambatan.



Gambar 1. Validasi protokol penambatan melalui perbandingan posisi ligan alami sebelum (kuning) dan sesudah (hijau) penambatan ulang (RMSD 1,049 Å).

Setelah preparasi reseptor dan ligan, penambatan ulang ligan pembanding menghasilkan *Root Mean Square Deviation* (RMSD) sebesar 1,049 Å yang ditunjukkan pada Gambar 1. Nilai ini berada di bawah ambang 2 Å yang digunakan dalam penelitian sehingga *pose* hasil penambatan ulang dianggap mereproduksi posisi ligan kristalografi secara memadai. Hasil penambatan ulang juga menghasilkan energi ikatan -11,52 kcal/mol dan kluster sebesar 99% dari 100 *running*, menunjukkan konformasi yang dominan dan dapat digunakan sebagai dasar penapisan ligan uji [17,18].

Pada tahap validasi, proses penambatan ulang ligan alami menghasilkan nilai RMSD 1,049 Å dan ΔG sebesar −11,52 kcal/mol, yang menunjukkan bahwa protokol penambatan yang digunakan memenuhi kriteria validasi. Pada analisis penambatan berikutnya, 4-hidroksitamoksifen digunakan sebagai ligan pembanding dan menghasilkan ΔG sebesar −11,37 kcal/mol dengan Ki 3,03 nM.

3.2. Profil Energi Ikatan (ΔG) dan Konstanta Inhibisi (Ki)

Sebelas dari 20 senyawa uji (Tabel 1) menunjukkan nilai energi bebas Gibbs (ΔG) yang mendekati ligan pembanding, yaitu Mahanine, Mahanimbine, Isomahanine, Koenimbine, Pyrayafoline D, Murrayazoline, O-Methylmurrayamine, Koenine, Mahanimbinine, Murrayacinine, dan Mahanimboline. Rentang ΔG kelompok ini adalah -8,95 hingga -10,68 kcal/mol, sedangkan ligan pembanding pada tabel adalah -11,37 kcal/mol. Murrayazoline memiliki skor paling negatif (-10,68 kcal/mol), diikuti Pyrayafoline D (-10,11 kcal/mol) dan Mahanine (-9,96 kcal/mol). Secara umum, hasil ini menunjukkan bahwa sebagian metabolit *M. koenigii* mampu menempati binding pocket ER-α dengan afinitas prediktif yang relatif tinggi [18,19].

Tabel 1. Hasil penambatan molekular terhadap 20 senyawa fitokimia dari *M. koenigii* terhadap ER-α (PDB 3ERT)

Senyawa	**ΔG (kcal/mol)**	**Konstanta inhibisi (Ki)**	**Keterangan**
4-Hidroksitamoksifen	-11,37	3,03 (nM)	Pembanding
Mahanine	-9,96	49,69 (nM)	Terpilih
Mahanimbine	-9,80	66,03 (nM)	Terpilih
Isomahanine	-9,66	83,63 (nM)	Terpilih
Koenimbine	-8,97	263,89 (nM)	Terpilih
Girinimbine	-8,59	505,16 (nM)	Tidak terpilih
Isolongifolene	-7,94	1,51(μM)	Tidak terpilih
Pyrayafoline D	-10,11	39,14 (nM)	Terpilih
Murrayafoline	8,10	–	Tidak terpilih
Murrayazoline	-10,68	14,75 (nM)	Terpilih
Koenoline	-6,86	9,35 (μM)	Tidak terpilih
9-formyl-3-methylcarbazole	-6,49	17,52 (μM)	Tidak terpilih
O-Methylmurrayamine	-9,01	246,80 (nM)	Terpilih
Koenine	-9,05	231,33 (nM)	Terpilih
Koenigine	-8,35	751,65 (nM)	Tidak terpilih
Mukonicine	-8,15	1,06 (μM)	Tidak terpilih
Mahanimbinine	-8,95	276,43 (nM)	Terpilih
Murrayacinine	-9,31	150,91 (nM)	Terpilih
Mahanimboline	-9,30	153,60 (nM)	Terpilih
Mukoeic acid	-6,29	24,41 (μM)	Tidak terpilih
Murrayanine	-6,73	11,74 (μM)	Tidak terpilih

Nilai Konstanta inhibisi (Ki) memberikan informasi tambahan mengenai kecenderungan inhibisi yang diprediksi dari skor penambatan. Menariknya, kedekatan ΔG tidak selalu paralel dengan urutan Ki. Sebagai contoh, Mukonicine memiliki Ki 1,06 nM tetapi ΔG -8,15 kcal/mol, sedangkan Murrayazoline memiliki ΔG -10,68 kcal/mol dan Ki 14,75 nM. Temuan ini menunjukkan bahwa pemilihan kandidat tidak sebaiknya dilakukan hanya berdasarkan satu parameter. Dalam penelitian

ini, kombinasi kedekatan ΔG dengan ligan pembanding, pola interaksi binding site, dan profil ADME-TOX digunakan untuk mempersempit kandidat [17,18].

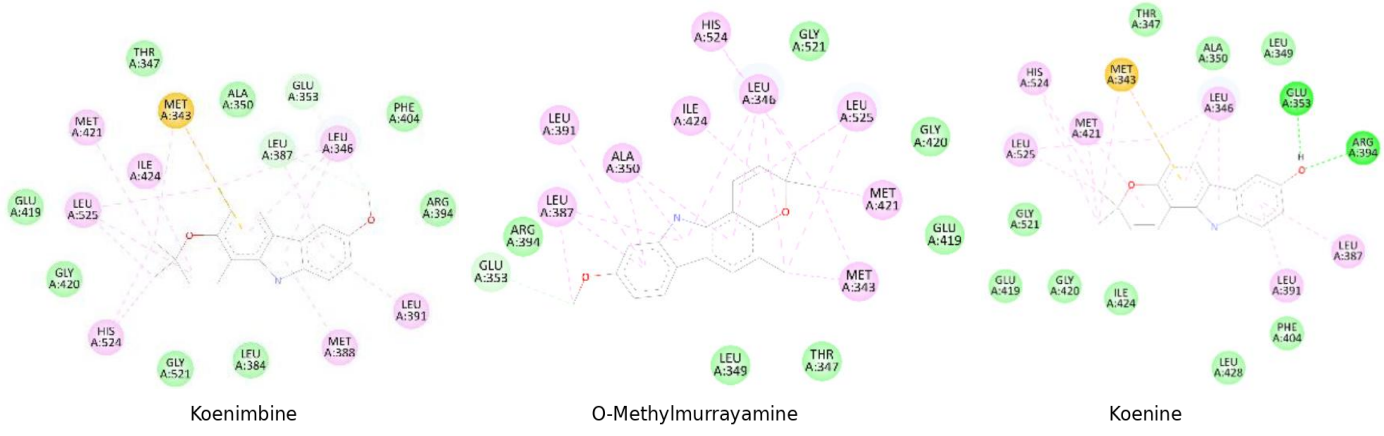
Murrayafoline menunjukkan hasil yang berbeda dengan senyawa lainnya karena menghasilkan ΔG positif 8,10 kcal/mol dan tidak menghasilkan nilai Ki. Pada visualisasi, senyawa ini juga menunjukkan *unfavorable bump* pada Glu353. Kondisi tersebut memperlihatkan bahwa keberadaan gugus kimia tertentu saja tidak menjamin pembentukan kompleks yang stabil; orientasi dan kecocokan spasial ligan terhadap kantong pengikatan tetap menentukan hasil penambatan [17].

3.3. Profil Interaksi dengan Binding Site ER-α

Ligan pembanding berinteraksi dengan sejumlah residu yang membentuk *binding pocket* ER-α, termasuk Met343, Leu346, Thr347, Leu349, Ala350, Asp351, Glu353, Trp383, Leu384, Leu387, Met388, Leu391, Arg394, Phe404, Met421, Ile424, Leu428, Gly521, His524, dan Leu525. Di antara residu tersebut, Glu353, Arg394, dan His524 merupakan residu penting yang berulang pada interaksi ligan. Lingkungan *binding pocket* juga didominasi residu hidrofobik seperti Leu384, Leu387, Leu525, Phe404, dan Met421 [5,6,18,19].

Tabel 2. Residu kunci dan pola interaksi 11 senyawa dengan ΔG mendekati ligan pembanding

Senyawa	Ikatan H utama	Jenis	Interaksi utama lain	Catatan
Mahanine	Asp351	H-bond	Glu353; residu hidrofobik	
Mahanimbine	–	–	Glu353; Arg394; banyak residu hidrofobik	
Isomahanine	Asp351	H-bond	Leu384; Leu387; Met388; lainnya	Tidak langsung pada Glu353/Arg394
Koenimbine	Glu353; Leu387	H-bond	Met343; Met421; Ile424; Leu525	
Pyrayafoline D	Glu419; His524	H-bond	Leu384; Leu346; Met421; Phe404; lainnya	
Murrayazoline	–	–	Glu353; Arg394; banyak residu hidrofobik	
O-Methylmurrayamine	Glu353	H-bond	His524; Leu346; Ile424; Leu525	
Koenine	Glu353; Arg394	H-bond	His524; Met421; Leu525; lainnya	
Mahanimbinine	–	–	Glu353; Arg394; Leu384; Leu387; lainnya	
Murrayacinine	His524	H-bond	Arg394; Leu391; Leu387; Trp383; lainnya	
Mahanimboline	Asp351	H-bond	Glu353; Arg394; Leu391; Leu387; lainnya	



Gambar 2. Visualisasi interaksi 2D kandidat prioritas Koenimbine, O-Methylmurrayamine, dan Koenine pada binding site ER-α (PDB 3ERT).

Pola interaksi yang ditunjukkan pada Gambar 2, memperlihatkan bahwa sebagian besar kandidat memanfaatkan kombinasi interaksi hidrofobik dan *van der Waals* untuk menstabilkan struktur dalam kantong ER-α, sedangkan ikatan hidrogen dengan residu polar memberikan kontribusi terhadap orientasi dan pengenalan ligan. Pyrayafoline D, misalnya, membentuk ikatan hidrogen dengan Glu419 dan His524 serta interaksi *van der Waals* dengan Glu353 dan Arg394.

Kombinasi ini disertai kontak hidrofobik dengan Ile424, Leu384, Leu346, Met421, Met388, Leu525, Leu391, Trp383, Leu387, Phe404, dan Ala350, konsisten dengan nilai ΔG -10,11 kcal/mol. Murrayazoline memiliki ΔG paling negatif di antara ligan uji dan berinteraksi melalui *van der Waals* pada Glu353/Arg394 serta banyak residu hidrofobik [18,19].

Koenine memperlihatkan pola yang sangat dekat dengan ligan pembanding karena membentuk ikatan hidrogen konvensional dengan Glu353 dan Arg394 serta kontak hidrofobik dengan Met343, Leu346, Leu387, Met388, Leu391, Met421, Ile424, His524, dan Leu525. O-Methylmurrayamine juga berinteraksi dengan Glu353 melalui ikatan hidrogen dan Arg394 melalui *van der Waals*. Pola tersebut mendukung hasil akhir penelitian sumber yang menempatkan O-Methylmurrayamine, Koenimbine, dan Koenine sebagai tiga senyawa dengan kemiripan interaksi paling baik terhadap ligan pembanding [21-23].

Isomahanine merupakan pengecualian penting. Senyawa ini mempunyai ΔG -9,66 kcal/mol dan membentuk ikatan hidrogen dengan Asp351 serta banyak interaksi hidrofobik, tetapi tidak menunjukkan interaksi langsung dengan Glu353 dan Arg394. Hal tersebut menunjukkan bahwa skor energi yang baik tidak selalu berarti reproduksi pola interaksi residu kunci. Karena itu, evaluasi visualisasi binding site merupakan tahap penting dalam menyaring kandidat berdasarkan mekanisme interaksi yang lebih relevan [18,19].

Secara struktural, dominasi residu hidrofobik dalam *binding pocket* ER-α dapat menjelaskan mengapa sebagian besar senyawa *M. koenigii* yang terpilih menunjukkan banyak interaksi non-polar. Namun, untuk menyerupai pola antagonis estrogen, keberadaan interaksi dengan residu kunci seperti Glu353 dan Arg394 menjadi pertimbangan penting. Studi struktur ER–tamoxifen sebelumnya menunjukkan bahwa interaksi tersebut berkontribusi terhadap stabilisasi ligan dan perubahan konformasi heliks 12 yang menghambat perekrutan koaktivator [5]. Dengan demikian, hasil penambatan pada penelitian ini sebaiknya ditafsirkan sebagai indikasi prioritas kandidat, bukan bukti definitif aktivitas antagonis ER-α [5,18,19].

Interpretasi hasil ADME perlu diposisikan sebagai penyaring awal, bukan bukti efektivitas klinis. Pada produk alam, struktur yang kompleks dapat menghasilkan penyimpangan dari aturan *drug-likeness* klasik, sementara masalah kelarutan, metabolisme, dan permeabilitas tetap dapat menjadi faktor pembatas translasi. Karena itu, integrasi parameter fisikokimia dan ADME dengan hasil penambatan lebih rasional daripada memilih kandidat hanya berdasarkan energi ikatan [20,23].

3.4. Sifat Fisikokimia, l]Lipofilisitas, dan Kelarutan

Sebelas kandidat (Tabel 3) menunjukkan berat molekul 279,33–349,47 g/mol, sedangkan *Topological Polar Surface Area* (TPSA) berada pada rentang 14,16–45,25 Å². Koenimbine dan O-Methylmurrayamine mempunyai profil yang identik pada parameter utama, termasuk berat molekul 293,36 g/mol, satu *rotatable bond*, dua *hydrogen-bond acceptor*, satu donor, dan TPSA 34,25 Å². Koenine memiliki berat molekul paling rendah di antara kandidat (279,33 g/mol), tidak mempunyai *rotatable bond*, dan TPSA 45,25 Å². Sebaliknya, Murrayazoline mempunyai TPSA paling rendah (14,16 Å²), yang mengindikasikan karakter lebih hidrofobik dan kemudian tercermin pada profil lipofilisitasnya [20].

Tabel 3. Profil fisikokimia dan lipofilisitas 11 kandidat berdasarkan Swiss-ADME.

Senyawa	MW (g/mol)	*Rotatable bond*	HBD	TPSA (Å²)	XLogP3/WLogP/MLogP
Pyrayafoline D	347.45	3	2	45.25	6.27/6.14/4.05
Murrayazoline	331.45	0	1	14.16	5.15/5.89/4.81
Mahanine	347.45	3	2	45.25	6.27/6.14/4.05
Mahanimbine	331.45	3	1	25.02	6.63/6.43/4.66
Isomahanine	347.45	3	2	45.25	6.27/6.14/4.05
Koenimbine	293.36	1	2	34.25	4.65/5.71/3.24
O-Methylmurrayamine	293.36	1	2	34.25	4.65/4.71/3.24
Koenine	279.33	0	2	45.25	4.32/4.41/3.00
Mahanimbinine	335.48	6	1	21.26	7.00/6.70/4.85
Murrayacinine	347.45	6	2	38.33	5.80/6.04/3.81
Mahanimboline	349.47	6	2	41.49	5.45/5.51/3.89

Evaluasi tiga model logP menunjukkan bahwa hanya Koenimbine, O-Methylmurrayamine, dan Koenine memenuhi batas ketiga model lipofilisitas yang digunakan dalam naskah sumber. Kandidat lain memiliki setidaknya satu nilai logP di luar batas model. Mahanimbinine menunjukkan nilai tertinggi pada XLogP3 dan WLogP, masing-masing 7,00 dan 6,70. Tingginya lipofilisitas dapat menjadi keterbatasan karena dapat memengaruhi distribusi, kelarutan, dan selektivitas senyawa [16,20].

Prediksi kelarutan memperlihatkan variasi yang cukup besar. Berdasarkan ESOL, Murrayazoline, Koenimbine, O-Methylmurrayamine, Koenine, Murrayacinine, dan Mahanimboline termasuk agak larut, sedangkan Pyrayafoline D, Mahanine, Mahanimbine, Isomahanine, dan Mahanimbinine termasuk sukar larut. Temuan ini penting karena kandidat dengan afinitas penambatan tinggi tetapi kelarutan rendah dapat menghadapi hambatan pada tahap formulasi dan absorpsi oral. Dengan demikian, Murrayazoline dan Pyrayafoline D yang memiliki skor penambatan sangat baik masih memerlukan perhatian terhadap aspek fisikokimia sebelum dipertimbangkan lebih jauh [20,23].

3.5. Prediksi Farmakokinetik dan Toksisitas

Sebagian besar kandidat menunjukkan prediksi absorpsi GI (*gastro instestinal*) tinggi. Namun, profil distribusi dan metabolisme menunjukkan variasi yang cukup besar. Koenimbine, O-Methylmurrayamine, dan Koenine diprediksi dapat menembus *Blood-Brain Barrier* (BBB) dan merupakan substrat *permeability glycoprotein* (P-gp), sedangkan Pyrayafoline D tidak menembus BBB dan bukan substrat P-gp. Mahanimbinine mempunyai absorpsi GI rendah, sehingga menjadi kandidat yang kurang menguntungkan bila tujuan pengembangan diarahkan pada sediaan oral. Prediksi inhibisi berbagai isoform *Cytochrome P450* (CYP) juga menunjukkan kemungkinan interaksi metabolik yang perlu diperhatikan pada tahap lanjutan. Karena data ini berasal dari prediksi berbasis struktur, hasil tersebut tidak dapat dianggap sebagai bukti klinis adanya interaksi obat atau toksisitas [20,23].

Tabel 4. Ringkasan parameter farmakokinetik dan toksisitas 11 kandidat berdasarkan Swiss-ADME.

Senyawa	Absorpsi GI	BBB	Substrat P-gp	CYP inhibitor yang diprediksi	Log Kp
Pyrayafoline D	Tinggi	Tidak	Tidak	CYP1A2, 2C19, 2C9, 3A4	-3.97
Murrayazoline	Tinggi	Tidak	Ya	CYP2D6	-4.67
Mahanine	Tinggi	Tidak	Tidak	CYP1A2, 2C19, 2C9, 3A4	-3.97
Mahanimbine	Tinggi	Tidak	Ya	CYP1A2, 2C19, 2C9, 2D6, 3A4	-3.61
Isomahanine	Tinggi	Tidak	Tidak	CYP1A2, 2C19, 2C9, 3A4	-3.97
Koenimbine	Tinggi	Ya	Ya	CYP1A2, 2C19, 2C9, 2D6	-4.79
O-Methylmurrayamine	Tinggi	Ya	Ya	CYP1A2, 2C19, 2C9, 2D6	-4.79
Koenine	Tinggi	Ya	Ya	CYP1A2, 2C19, 2D6	-4.94
Mahanimbinine	Rendah	Tidak	Ya	CYP2C19, 2C9, 2D6, 3A4	-3.38
Murrayacinine	Tinggi	Tidak	Tidak	CYP1A2, 2C19, 2C9, 2D6, 3A4	-4.30
Mahanimboline	Tinggi	Ya	Tidak	CYP2C19, 2C9, 2D6, 3A4	-4.56

Secara keseluruhan, O-Methylmurrayamine dan Koenimbine menunjukkan kombinasi yang relatif menarik antara afinitas penambatan, profil fisikokimia, dan bioavailabilitas oral yang diprediksi. Koenine juga memiliki profil fisikokimia yang baik, tetapi naskah sumber mengidentifikasi keterbatasan pada kejenuhan, sehingga kandidat ini memerlukan optimasi struktur. Sebaliknya, Pyrayafoline D dan Murrayazoline unggul pada skor penambatan tetapi menghadapi keterbatasan lipofilisitas dan/atau polaritas. Hal ini memperlihatkan pentingnya menggabungkan hasil penambatan dengan penilaian ADME sebelum menetapkan prioritas kandidat [20,21,23].

3.6. Drug-likeness dan Prioritas Kandidat

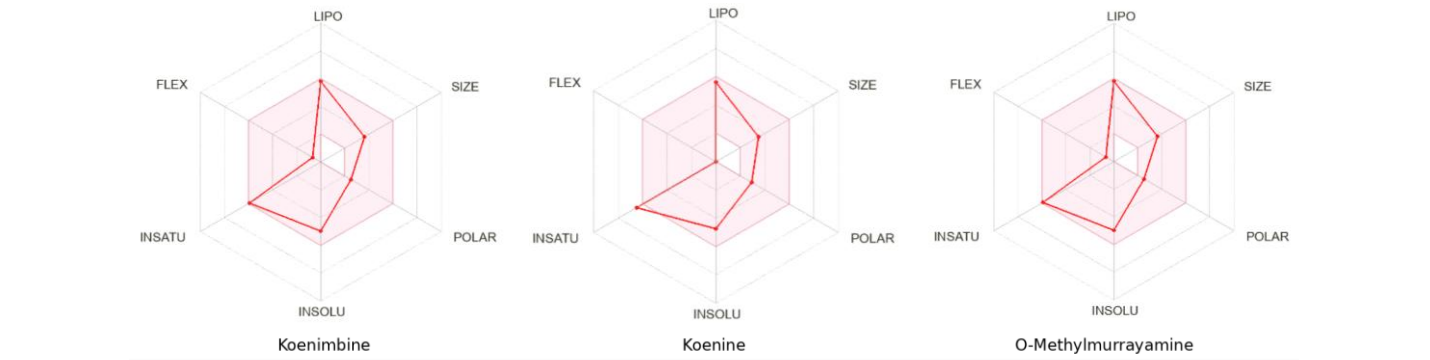
Hasil *drug-likeness* (Tabel 5) memberikan pemisahan yang lebih jelas dibandingkan penambatan. Koenimbine, O-Methylmurrayamine, dan Koenine memenuhi seluruh lima model yang digunakan, sedangkan kandidat lain memiliki setidaknya satu pelanggaran pada salah satu model. Mahanimboline memenuhi Lipinski, Ghose, dan Veber tetapi memiliki

satu pelanggaran pada Egan dan Muegge. Pyrayafoline D dan Mahanine masih menunjukkan satu pelanggaran pada beberapa model, sedangkan Murrayazoline mempunyai satu pelanggaran pada Lipinski, Ghose, Egan, dan Muegge [20]. Jika seluruh parameter dipertimbangkan secara bersama-sama, O-Methylmurrayamine dan Koenimbine muncul sebagai kandidat paling konsisten. Keduanya memiliki ΔG yang relatif baik (-9,01 dan -8,97 kcal/mol), interaksi dengan Glu353, profil lipofilisitas yang lebih terkendali dibandingkan sebagian besar kandidat lain, serta memenuhi seluruh lima model *drug-likeness*. Koenine juga memenuhi lima model *drug-likeness* dan memiliki ΔG -9,05 kcal/mol serta interaksi hidrogen dengan Glu353 dan Arg394, tetapi keterbatasan pada parameter kejenuhan dan status sebagai substrat P-gp perlu dipertimbangkan. Dengan demikian, ketiga senyawa tersebut lebih rasional diprioritaskan untuk validasi biologis dibandingkan memilih kandidat hanya berdasarkan skor penambatan [20,21,23].

Tabel 5. Ringkasan drug-likeness 11 kandidat pada lima model Swiss-ADME. [20]

Senyawa	Lipinski	Ghose	Veber	Egan	Muegge
Pyrayafoline D	Baik	1 pelanggaran	Baik	1 pelanggaran	1 pelanggaran
Murrayazoline	1 pelanggaran	1 pelanggaran	Baik	1 pelanggaran	1 pelanggaran
Mahanine	Baik	1 pelanggaran	Baik	1 pelanggaran	1 pelanggaran
Mahanimbine	1 pelanggaran	1 pelanggaran	Baik	1 pelanggaran	1 pelanggaran
Isomahanine	Baik	1 pelanggaran	Baik	1 pelanggaran	1 pelanggaran
Koenimbine	Baik	Baik	Baik	Baik	Baik
O-Methylmurraya-mine	Baik	Baik	Baik	Baik	Baik
Koenine	Baik	Baik	Baik	Baik	Baik
Mahanimbinine	1 pelanggaran	1 pelanggaran	Baik	1 pelanggaran	1 pelanggaran
Murrayacinine	Baik	1 pelanggaran	Baik	1 pelanggaran	1 pelanggaran
Mahanimboline	Baik	Baik	Baik	1 pelanggaran	1 pelanggaran

Murrayazoline dan Pyrayafoline D tetap merupakan kandidat penting dari perspektif *target engagement* karena masing-masing memberikan ΔG -10,68 dan -10,11 kcal/mol. Namun, keduanya menunjukkan keterbatasan fisikokimia, terutama lipofilisitas yang tinggi; Murrayazoline juga mempunyai polaritas rendah. Temuan ini menggarisbawahi adanya *trade-off* antara afinitas target dan *drug-likeness*. Dalam penemuan obat berbasis bahan alam, kandidat yang paling menjanjikan bukan selalu molekul dengan skor penambatan paling negatif, tetapi molekul yang memiliki keseimbangan antara afinitas, interaksi residu kunci, kelarutan, permeabilitas, metabolisme, dan sifat *drug-likeness* [20,24].



Gambar 3. Radar bioavailabilitas kandidat prioritas Koenimbine, Koenine, dan O-Methylmurrayamine berdasarkan prediksi Swiss-ADME.

Profil bioavailabilitas oral dari ketiga senyawa kandidat diprediksi menggunakan *Bioavailability Radar* pada platform SwissADME (Gambar 3). Area berwarna merah muda menggambarkan ruang fisikokimia ideal untuk absorpsi oral yang

optimal berdasarkan enam parameter utama: lipofilisitas (LIPO), ukuran molekul (SIZE), polaritas (POLAR), kelarutan (INSOLU), fleksibilitas (FLEX), dan tingkat insaturasi (INSATU) [16,25].

Hasil analisis menunjukkan bahwa Koenimbine, Koenine, dan O-Methylmurrayamine secara konsisten memenuhi lima dari enam kriteria ideal fisikokimia. Ketiga molekul memiliki profil lipofilisitas, bobot molekul, polaritas permukaan (TPSA), kelarutan akuatik, dan fleksibilitas konformasi yang seluruhnya berada di dalam area optimal. Satu-satunya deviasi terpantau pada parameter INSATU, di mana garis merah keluar dari batas ruang ideal akibat rendahnya fraksi karbon sp^3 ($Csp3 < 0{,}25$). Hal ini wajar mengingat ketiga kandidat merupakan alkaloid jenis karbazol yang kaya akan sistem cincin terkonjugasi aromatik [26,27]. Secara keseluruhan, deviasi tunggal pada tingkat saturasi ini tidak menggagalkan sifat *drug-likeness* molekul, sehingga ketiga senyawa diprediksi memiliki bioavailabilitas oral dan permeabilitas membran yang sangat baik sebagai kandidat obat [25-27].

Penelitian ini memiliki keterbatasan inherent pada pendekatan *in silico*. Penambatan molekular menggunakan model struktur dan fungsi *scoring* tertentu sehingga tidak sepenuhnya menggambarkan fleksibilitas protein, dinamika pelarut, perubahan konformasi jangka panjang, maupun efek lingkungan biologis. Selain itu, prediksi Swiss-ADME merupakan prediksi berbasis struktur yang perlu dikonfirmasi secara eksperimental. Oleh sebab itu, hasil penelitian ini harus diposisikan sebagai tahap prioritisasi, bukan sebagai bukti bahwa senyawa tersebut telah terbukti menghambat ER-α atau memiliki efektivitas antikanker pada manusia. Tahap berikutnya sebaiknya mencakup uji *in vitro* terhadap ER-α atau sel kanker payudara ER-positif, dilanjutkan uji *in vivo* dan evaluasi keamanan untuk kandidat yang paling konsisten.

4. KESIMPULAN

Dua puluh metabolit sekunder *Murraya koenigii* menunjukkan variasi afinitas prediktif terhadap ER-α (PDB 3ERT). Protokol penambatan tervalidasi melalui penambatan ulang dengan RMSD 1,049 Å. Sebelas senyawa mempunyai energi ikatan yang mendekati 4-hidroksitamoksifen, dengan Murrayazoline (-10,68 kcal/mol) dan Pyrayafoline D (-10,11 kcal/mol) memberikan skor paling negatif di antara ligan uji. Sepuluh dari 11 kandidat menunjukkan interaksi dengan residu *binding site* yang relevan, sedangkan Isomahanine tidak berinteraksi langsung dengan Glu353/Arg394. Integrasi hasil penambatan dan Swiss-ADME menunjukkan O-Methylmurrayamine dan Koenimbine sebagai kandidat paling konsisten, sedangkan Koenine juga menjanjikan tetapi mempunyai keterbatasan pada kejenuhan. Hasil ini mendukung prioritisasi ketiga senyawa tersebut untuk validasi biologis lebih lanjut. Seluruh temuan tetap bersifat prediktif dan memerlukan konfirmasi melalui uji *in vitro* dan *in vivo*.

KONTRIBUSI PENULIS: -.

PENDANAAN: -

UCAPAN TERIMA KASIH: Penulis mengucapkan terima kasih kepada Fakultas Farmasi Universitas Mulawarman atas dukungan fasilitas penelitian dan akademik.

KONFLIK KEPENTINGAN: Penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan.

REFERENSI

1. Adebayo, K.S., Ajao, J.J., Oderemi, O.M., Ughagwu, K.P. Breast Cancer Therapies: A Review. *Asia Pac. J. Cancer Biol.* **2024**, *9*, 53–59. DOI: 10.31557/APJCB.2024.9.1.53.
2. Herawati, A., Rijal, S., Arsal, A.S., Purnamasari, R., Abdi, D.A., Wahid, S. Karakteristik Kanker Payudara. *Fakumi Med. J.* **2021**, *1*, 44–53.
3. Liu, Y., Ma, H., Yao, J. ERα, A Key Target for Cancer Therapy: A Review. *OncoTargets Ther.* **2020**, *13*, 2183–2191

4. Sharma, D., Kumar, S., Narasimhan, B. Estrogen alpha receptor antagonists for the treatment of breast cancer: a review. *Chemistry Central Journal* **2018**, *12*(1), 107.
5. Shiau, A.K., Barstad, D., Loria, P.M., Cheng, L., Kushner, P.J., Agard, D.A., Greene, G.L. The structural basis of estrogen receptor/coactivator recognition and the antagonism of this interaction by tamoxifen. *Cell* **1998**, *95*(7), 927-937.
6. Paterni, I., Granci, C., Katzenellenbogen, J.A., Minutolo, F. Estrogen receptors alpha (ERα) and beta (ERβ): Subtype-selective ligands and clinical potential. *Steroids* **2014**, *90*, 13–29.
7. Balakrishnan, R., Vijayraja, D., Jo, S.-H., Ganesan, P., Su-Kim, I., Choi, D.-K. Medicinal Profile, Phytochemistry, and Pharmacological Activities of *Murraya koenigii* and Its Primary Bioactive Compounds. *Antioxidants* **2020**, *9*, 101.
8. Singh, S., Ahuja, A., Murti, Y., Khaliq, A. Phyto-Pharmacological Review on *Murraya koenigii* (L.) Spreng: As an Indigenous Plant of India with High Medicinal Potential. *Chem. Biodivers.* **2023**, *20*, 1–20.
9. Sadwal, S., Bharati, S., Dar, Z.A., Kaur, S. Chemopreventive potential of hydroethanolic *Murraya koenigii* leaves extract against DMBA induced breast carcinogenesis: In-silico and in-vivo study. *J. Ethnopharmacol.* **2024**, *319*, 117–124.
10. Kumar, D., Sharma, P., Mahajan, A., Dhawan, R., Dua, K. Pharmaceutical interest of in-silico approaches. *Phys. Sci. Rev.* **2023**, *8*, 2547–2560.
11. Suhud, F. Uji Aktivitas In-silico Senyawa Baru 1-Benzil-3-benzoilurea Induk dan Tersubstitusi sebagai Agen Antiproliferatif. *J. Farm. Indones.* **2015**, *7*, 242–251.
12. Helgren, T.R., Hagen, T.J. Demonstration of AutoDock as an Educational Tool for Drug Discovery. *J. Chem. Educ.* **2017**, *94*, 345–349.
13. Khan, S.A., Wu, Y., Li, A.S.M., Fu, X.Q., Yu, Z.L. Network pharmacology and molecular docking-based prediction of active compounds and mechanisms of action of *Cnidii Fructus* in treating atopic dermatitis. *BMC Complement. Med. Ther.* **2022**, *22*, 275.
14. Puranik, N.V., Srivastava, P., Bhatt, G., John Mary, D.J.S., Limaye, A.M., Sivaraman, J. Determination and analysis of agonist and antagonist potential of naturally occurring flavonoids for estrogen receptor (ERα) by various parameters and molecular modelling approach. *Scientific Reports* **2019**, *9*(1), 7450. DOI: 10.1038/s41598-019-43768-5.
15. Dermawan, D., Sumirtanurdin, R., Dewantisari, D. Molecular dynamics simulation estrogen receptor alpha againts andrographolide as anti-breast cancer. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology* **2019**, *6*(2), 65-76.
16. Daina, A., Michielin, O., Zoete, V. SwissADME: A free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific Reports* **2017**, *7*, 42717.
17. Mohanty, M., Mohanty, P.S. Molecular docking in organic, inorganic, and hybrid systems: A tutorial review. *Monatshefte Chem.* **2023**, *154*, 683–707. DOI: 10.1007/s00706-023-03076-1.
18. Alam, P., Sharma, P., Arshad, M.F. Comprehensive Computational Screening and Analysis of Natural Compounds Reveals Promising Estrogen Receptor Alpha Inhibitors for Breast Cancer Therapy. *Chem. Biodivers.* **2025**, *22*, e202402052. DOI: 10.1002/cbdv.202402052.
19. Arifian, H., Maharani, R., Megantara, S., Ikram, N.K.K., Muchtaridi. Glycine-Conjugated α-Mangostins as Potential Estrogen Receptor Alpha (ERα) Antagonists through Pharmacophore Modeling, Docking Analysis, and Molecular Dynamics Simulations. *Appl. Sci.* **2024**, *14*, 5549. DOI: 10.3390/app14135549.
20. Ancuceanu, R., Lascu, B.E., Drăgănescu, D., Dinu, M. In Silico ADME Methods Used in the Evaluation of Natural Products. *Pharmaceutics* **2025**, *17*, 1002. DOI: 10.3390/pharmaceutics17081002.
21. Samanta, S. K., Choudhury, P., Kandimalla, R., Aqil, F., Moholkar, D.N., Gupta, R.C., Das, M., Gogoi, B., Gogoi, N., Sarma, P.P., Devi, R., Talukdar, N.C. Mahanine mediated therapeutic inhibition of estrogen receptor-α and CDK4/6 expression, decipher the chemoprevention-signaling cascade in preclinical model of breast cancer. *Journal of Ethnopharmacology* **2024**, *319*, 117235.

22. Chan, E.W.C., Wong, S.K. Constituents of carbazole alkaloids and anti-cancer properties of extracts, mahanine, isomahanine, mahanimbine, and girinimbine from *Bergera koenigii*. *J. Appl. Pharm. Sci.* **2024**, *14*(10), 25–34. DOI: 10.7324/JAPS.2024.192931
23. Bose, D., Shetty, S., Udupi, A., Srinivasan, K. *Murraya koenigii* as a phytotherapeutic agent in breast cancer: A comprehensive review. *Pharmacol. Res. Nat. Prod.* **2025**, *10*, 100487. DOI: 10.1016/j.prenap.2025.100487.
24. Bake, M.M., Fofack, H.M.T., Abdelli, W., Ntie-Kang, F., Berga, G., Ndassa, I.M., Vercauteren, D.P., Mohammad-Salim, H.A., Vicente De Julian-Ortiz, J. Unlocking potential natural products from African sources targeting overexpressed estrogen receptor alpha (ERα) in breast cancer: In silico studies. *Comput. Struct. Biotechnol. Rep.* **2025**, *2*, 100033. DOI: 10.1016/j.csbr.2025.100033.
25. Lipinski, C.A., Lombardo, F., Dominy, B.W., Feeney, P.J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews* **2001**, *46*(1-3), 3-26. https://doi.org/10.1016/S0169-409X(00)00129-0
26. Daina, A., Zoete, V. A BOILED-Egg to predict gastrointestinal absorption and brain penetration of small molecules. *ChemMedChem* **2016**, *11*(11), 1117-1121. https://doi.org/10.1002/cmdc.201600182
27. Tan, S.P., Nishigaki, T., Ito, C. Carbazole alkaloids and their biological activities. *Natural Product Communications* **2014**, *9*(2), 273-288.