

## The design of bioactive marine peptides as a HIV-1 protease inhibitor

### Desain biomolekuler peptida bioaktif laut sebagai inhibitor HIV-1 protease

Taufik Muhammad Fakhri<sup>1\*</sup>, Mentari Luthfika Dewi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung

\*Corresponding author: [taufikmuhammadf@gmail.com](mailto:taufikmuhammadf@gmail.com)

---

#### Abstract

**Background:** Human immunodeficiency virus/acquired immunodeficiency syndrome (HIV/AIDS) is a disease related to the human immune system. Given its important role in viral replication, HIV-1 protease (HIV-1 PR) becomes the major therapeutic target in the treatment of AIDS. In this case, we need a dynamic aspect of molecular interactions that can demonstrate the important role of conformational variability in the design of HIV-1 PR inhibitors. There are several inhibitor candidates from marine organisms, such as the LLEYSL and LLEYSI bioactive peptides produced by oysters (*Crassostrea gigas*).

**Objective:** Protein-peptide docking method was used *in silico* to identify, evaluate, and explore the molecular interactions between bioactive peptide molecules and HIV-1 protease macromolecules.

**Methods:** The sequencing of bioactive peptide molecules was modeled into 3D conformation using the PEP-FOLD software. The best conformation was chosen for the study of molecular interactions against HIV-1 protease macromolecules using the PatchDock software. The molecular interactions formed were further observed using the BIOVIA Discovery Studio 2020 software.

**Results:** The results of this study indicated that the LLEYSL bioactive peptide had the best affinity with an ACE score of  $-1284.70$  kJ/mol.

**Conclusion:** Bioactive peptide molecule is predicted to be a candidate for HIV-1 protease inhibitor.

**Keywords:** AIDS, HIV-1 protease, bioactive peptides, protein-peptide docking, *in silico*

#### Intisari

**Latar belakang:** Infeksi *human immunodeficiency virus/acquired immunodeficiency syndrome* (HIV/AIDS) adalah penyakit yang berkaitan dengan sistem kekebalan tubuh pada manusia. Mengingat perannya yang penting dalam replikasi virus, HIV-1 protease (HIV-1 PR) merupakan target terapi utama dalam pengobatan AIDS. Dalam hal ini, maka diperlukan aspek dinamis dari interaksi molekuler yang dapat menunjukkan peran penting dari variabilitas konformasi dalam desain inhibitor HIV-1 PR. Terdapat beberapa kandidat *inhibitor* yang berasal dari organisme laut, seperti peptida bioaktif LLEYSL dan LLEYSI yang dihasilkan oleh tiram (*Crassostrea gigas*).

**Tujuan:** Metode penambatan molekuler berbasis protein-peptida dilakukan untuk mengidentifikasi, mengevaluasi, dan mengeksplorasi interaksi molekuler antara molekul peptida bioaktif dengan makromolekul HIV-1 protease secara *in silico*.

**Metode:** Sekuensing molekul peptida bioaktif terlebih dahulu dimodelkan menjadi konformasi 3D dengan menggunakan *software* PEP-FOLD. Konformasi terbaik dipilih untuk kemudian dilakukan studi interaksi molekuler terhadap makromolekul HIV-1 protease dengan menggunakan *software* PatchDock, adapun interaksi molekuler diamati dengan menggunakan *software* BIOVIA Discovery Studio 2020.

**Hasil:** Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa peptida bioaktif LLEYSL memiliki afinitas paling baik dengan ACE *score* sebesar  $-1284,70$  kJ/mol.

**Kesimpulan:** Molekul peptida bioaktif tersebut diprediksi dapat dijadikan sebagai kandidat inhibitor HIV-1 protease.

---

**Kata kunci :** AIDS, HIV-1 protease, peptida bioaktif, penambatan molekuler berbasis protein-peptida, *in silico*.

---

## 1. Pendahuluan

*Acquired immunodeficiency syndrome* (AIDS) adalah penyakit yang berhubungan dengan sistem kekebalan tubuh manusia (Sepkowitz, 2001). *Human immunodeficiency virus* (HIV) telah diidentifikasi sebagai agen etiologi AIDS (Clavel *et al.*, 1986). Sel-sel sistem kekebalan tubuh, seperti sel-T atau sel CD4 bertanggung jawab dalam menghambat infeksi dan gangguan fisiologis lainnya yang disebabkan oleh HIV. Salah satu enzim HIV esensial yang aktivitasnya diperlukan untuk replikasi virus adalah HIV-1 protease (HIV-1 PR) (Lebon & Ledecq, 2000). Faktanya, produksi partikel virus yang infeksius tergantung pada aktivitas proteolitik dari HIV-1 PR. Selain itu, enzim ini dapat digunakan sebagai target terapi utama dalam terapi AIDS dan telah menjadi subyek berbagai penelitian desain obat (Seelmeier *et al.*, 1988; Wlodawer & Vondrasek, 1998).

*Inhibitor* HIV-1 PR diyakini mampu menonaktifkan HIV-1 protease yang menyebabkan partikel virus menjadi tidak menular (Kohl *et al.*, 1988). Sebagian besar *inhibitor* HIV-1 protease yang dikembangkan adalah molekul peptidomimetik (Ungwitayatorn *et al.*, 2011). Kelemahan utama senyawa peptidomimetik adalah bioavailabilitas rendah yang timbul akibat dari berat molekul tinggi dan kelarutan yang buruk (Durdagi *et al.*, 2008). Karena keterbatasan ini, banyak peneliti berfokus pada *inhibitor* HIV-1 PR yang berasal dari peptida bioaktif laut (Chrusciel & Strohbach, 2004; Jadhav *et al.*, 1997; Lebon & Ledecq, 2000).

Amprenavir, atazanavir, darunavir, indinavir, fosamprenavir, lopinavir, nelfinavir, ritonavir, Ssaquinavir dan tipranavir adalah obat anti-AIDS yang telah disetujui oleh *United States Food and Drug Administration* (US FDA) sebagai *inhibitor* HIV-1 PR. Obat-obat tersebut saat ini digunakan dalam terapi kombinasi dengan *reverse transcriptase inhibitor* (Arusksakunwong *et al.*, 2007; Temesgen *et al.*, 2006). Meskipun beberapa obat baru telah dikembangkan untuk mengobati AIDS, namun menunjukkan munculnya resistensi obat yang cepat terhadap sebagian besar penghambat HIV-1 PR (Temesgen *et al.*, 2006). Dalam hal ini, banyak penelitian yang dilakukan untuk mengembangkan agen anti-protease baru dengan efek samping minimum dan tidak menyebabkan resistensi (Bosi *et al.*, 2003; Hou & Yu, 2007).

Penelitian ini bertujuan untuk melakukan pemodelan struktur berdasarkan sekuensing molekul peptida bioaktif (Ebadi *et al.*, 2014; Razzaghi-Asl *et al.*, 2013) dan menjelaskan lebih lanjut mengenai peran penting dari penyesuaian target terhadap hasil

penambatan molekuler. Selain itu, dipelajari juga eksplorasi pentingnya fleksibilitas HIV-1 PR apabila dilakukan studi interaksi terhadap molekul peptida bioaktif. Sebelumnya telah dibuktikan bahwa terdapat dua molekul peptida bioaktif laut yang berasal dari tiram (*Crassostrea gigas*) yaitu LLEYSL dan LLEYSI yang disintesis secara kimia serta menunjukkan nilai IC<sub>50</sub> masing-masing sebesar 20 dan 15 nM. Di samping itu, molekul peptida bioaktif tersebut juga berperan sebagai *inhibitor* kompetitif untuk HIV-1 protease dengan nilai Ki 13 dan 10 nM (Lee & Maruyama, 1998). Dengan demikian, melalui penelitian ini diharapkan mampu menghasilkan struktur molekul peptida bioaktif yang berpotensi sebagai *inhibitor* HIV-1 protease.

## 2. Metode

### 2.1. Makromolekul reseptor target

Makromolekul reseptor target yang digunakan dalam penelitian ini merupakan struktur kristal dari makromolekul enzim HIV-1 protease yang telah membentuk kompleks dengan amprenavir. Makromolekul reseptor target tersebut diperoleh dari web Protein Data Bank (<http://www.rcsb.org/pdb>) dengan kode PDB 1HPV dan memiliki resolusi 1,90 Å (Gambar 1) (Kim *et al.*, 1995).

### 2.2. Molekul peptida bioaktif laut

Molekul peptida bioaktif yang digunakan dalam penelitian ini adalah dua peptida bioaktif yang telah terbukti melalui penelitian sebelumnya memiliki aktivitas terhadap enzim HIV-1 protease. Sekuensing dari kedua molekul peptida bioaktif tersebut antara lain LLEYSL dan LLEYSI yang dihasilkan oleh tiram (*Crassostrea gigas*) (Wang *et al.*, 2017).

### 2.3. Preparasi makromolekul reseptor target

Struktur makromolekul reseptor target yang telah diunduh sebelumnya dari web Protein Data Bank kemudian dilakukan preparasi terlebih dahulu dengan menggunakan software MGLTools 1.5.6 yang dilengkapi dengan AutoDock 4.2. Preparasi makromolekul reseptor ini dilakukan dengan menghilangkan molekul air dan amprenavir yang berperan sebagai ligan alami dari enzim HIV-1 protease, selanjutnya menambahkan atom hidrogen polar dan menghitung muatan parsial Kollman (Kurniawan *et al.*, 2018).

#### 2.4. Eksplorasi sisi aktif makromolekul reseptor target

Makromolekul reseptor target yang telah dilakukan preparasi selanjutnya diidentifikasi, diamati, dan dieksplorasi bagian sisi aktif pengikatan yang berperan terhadap aktivitas biologis dengan menggunakan *software* BIOVIA Discovery Studio 2020 (Kemish *et al.*, 2017). Amprenavir yang berperan sebagai ligan alami dari makromolekul enzim HIV-1 protease digunakan untuk mengamati karakteristik dari bagian sisi aktif makromolekul reseptor target tersebut.

#### 2.5. Pemodelan molekul peptida bioaktif laut

Pemodelan molekul peptida bioaktif dilakukan dengan menggunakan *server* PEP-FOLD (<http://bioserv.rpbs.univ-paris-diderot.fr/PEP-FOLD/>) (Gambar 3). *Server* PEP-FOLD merupakan suatu *software* yang digunakan untuk memodelkan sekuensing peptida bioaktif menjadi konformasi struktur 3D dengan memanfaatkan metode *de novo* (Chavan & Deobagkar, 2015).

#### 2.6. Simulasi penambatan molekuler berbasis protein-peptida

Simulasi penambatan molekuler berbasis protein-peptida dilakukan dengan menggunakan *software* PatchDock untuk mengamati dan mengidentifikasi interaksi molekuler antara makromolekul enzim HIV-1 protease dengan molekul peptida bioaktif. Jarak antara permukaan makromolekul reseptor target dengan peptida bioaktif dibatasi dengan radius maksimum 4.0 Å. Terdapat beberapa parameter yang digunakan dalam simulasi ini antara lain berdasarkan representasi bentuk molekul, bagian sisi aktif pengikatan makromolekul reseptor target, serta pemilihan dan penilaian. Simulasi penambatan molekuler ini dilakukan secara efisien tanpa adanya ikatan antar molekul yang bersifat *rigid* (Aruleba *et al.*, 2018).

#### 2.7. Identifikasi hasil simulasi penambatan molekuler berbasis protein-peptida

Interaksi molekuler yang terjadi antara makromolekul enzim HIV-1 protease dan peptida bioaktif diidentifikasi dan dievaluasi berdasarkan *Atomic Contact Energy (ACE) score* (Prabhu & Rajeswari, 2016). Eksplorasi lebih lanjut dilakukan terhadap residu asam amino yang terdapat di sekitar bagian sisi aktif dan berperan terhadap terbentuknya interaksi molekuler protein-peptida dengan menggunakan *software* BIOVIA Discovery Studio 2020.

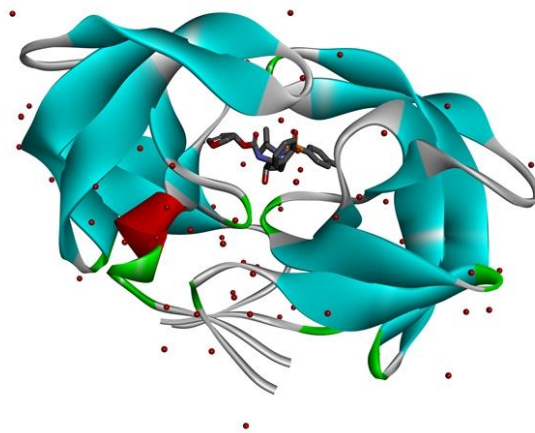
### 3. Hasil dan pembahasan

Penelitian sebelumnya telah berhasil melakukan karakterisasi, preparasi, dan purifikasi terhadap beberapa peptida bioaktif yang berasal dari organisme laut. Peptida bioaktif tersebut dibuat dengan cara memanfaatkan proses sintesis organik, seperti *Microwave Assisted Extraction* (MAE), hidrolisis kimia, dan hidrolisis enzim. Kemudian dilanjutkan dengan tahapan proses pemurnian peptida bioaktif menggunakan kromatografi eksklusi gel, kromatografi penukar ion, dan kromatografi cair kinerja tinggi. Terdapat dua sekuensing peptida bioaktif yang memiliki aktivitas terhadap enzim HIV-1 protease, antara lain LLEYSL dan LLEYSI yang dihasilkan oleh tiram (*Crassostrea gigas*) (Wang *et al.*, 2017). Oleh karena itu, perlu dilakukan identifikasi dan eksplorasi lebih lanjut mengenai potensi dari peptida bioaktif tersebut sebagai inhibitor enzim HIV-1 protease dengan menggunakan metode penambatan molekuler berbasis protein-peptida secara *in silico*.

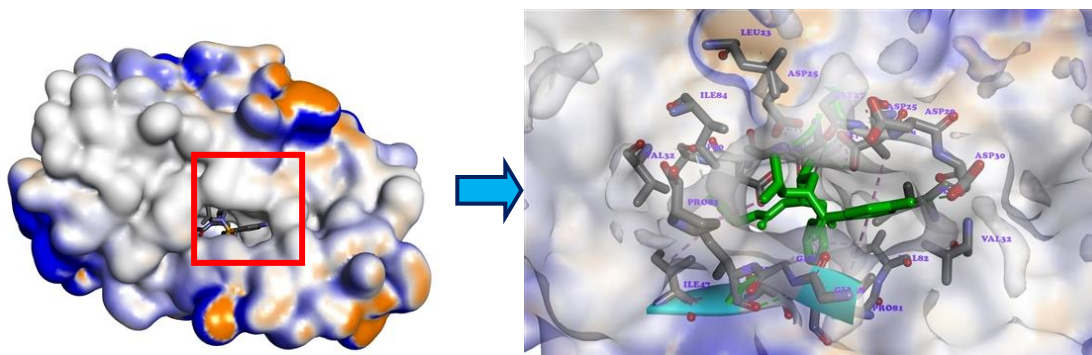
Makromolekul enzim HIV-1 protease dipilih sebagai reseptor target untuk mengamati aktivitas *inhibitor* kompetitif dari peptida bioaktif. Terlebih dahulu dilakukan preparasi terhadap makromolekul reseptor target dengan cara menghilangkan molekul air dan amprenavir yang berperan sebagai ligan alami, kemudian selanjutnya dilakukan penambahan atom hidrogen polar, dan menghitung muatan parsial Kollman dengan menggunakan *software* MGLTools 1.5.6 yang dilengkapi dengan AutoDock 4.2 (Kurniawan *et al.*, 2018). Preparasi makromolekul reseptor target ini bertujuan untuk memastikan agar interaksi molekuler antara enzim HIV-1 protease dengan kedua peptida bioaktif dapat membentuk ikatan yang stabil sehingga afinitasnya dapat diketahui. Kemudian, untuk menilai aktivitas *inhibitor* kompetitif dari peptida bioaktif dapat digunakan amprenavir sebagai molekul pembandingan.

Setelah dilakukan tahapan preparasi makromolekul reseptor target kemudian diidentifikasi dan dievaluasi karakteristik dan sifat dari bagian sisi aktif enzim HIV-1 dengan menggunakan *software* BIOVIA Discovery Studio 2020 sehingga dapat diprediksi area yang bertanggung jawab sebagai tempat pengikatan protein-peptida. Sebagaimana yang ditunjukkan pada Gambar 2, interaksi yang terjadi antara enzim ACE dengan captopril terdiri dari 7 ikatan hidrogen (dengan Asp25, Gly27, Asp30, dan Gly49) dan 7 interaksi hidrofobik (dengan Ala28, Ile47, Ile50, Pro81, dan Val82). Berdasarkan fenomena tersebut maka dapat diprediksi bahwa residu asam amino tersebut bertanggung jawab sebagai komponen

penyusun bagian sisi aktif pengikatan dari enzim HIV-1 sebagai makromolekul reseptor target.



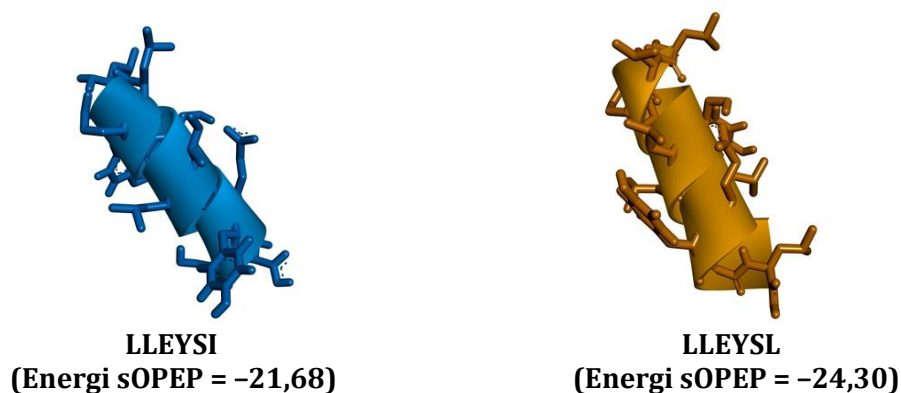
**Gambar 1.** Struktur kristal makromolekul reseptor target enzim HIV-1 protease yang telah membentuk kompleks dengan amprenavir



**Gambar 2.** Bagian sisi aktif pengikatan amprenavir pada struktur makromolekul reseptor target HIV-1 protease

Tahapan selanjutnya adalah melakukan pemodelan struktur tiga dimensi molekul peptida biaktif dari sekuensing peptida yang didapatkan dari penelitian sebelumnya dengan menggunakan *server* PEP-FOLD. Molekul peptida bioaktif dengan konformasi paling baik dipilih berdasarkan energi sOPEP (*Optimized Potential for Efficient Structure Prediction*) (Shen *et al.*, 2014; Thévenet *et al.*, 2012). Energi sOPEP yang terintegrasi dalam *server* PEP-FOLD menggambarkan konformasi struktur molekul peptida bioaktif yang telah dimodelkan

mendekati keadaan aslinya sehingga diharapkan mampu menghasilkan afinitas dan interaksi yang stabil dengan makromolekul reseptor target HIV-1 protease. Sebagaimana yang ditunjukkan pada hasil pemodelan molekul peptida bioaktif yang terdapat pada Gambar 3 dapat diprediksi bahwa molekul peptida tersebut akan dapat berinteraksi dengan bagian sisi aktif pengikatan enzim HIV-1.



**Gambar 3.** Molekul peptida bioaktif yang berasal dari tiram (*Crassostrea gigas*) berserta nilai energi sOPEP (*Optimized Potential for Efficient Structure Prediction*)

Studi komputasi dengan memanfaatkan simulasi penambatan molekuler berbasis protein-peptida dengan menggunakan *software* PatchDock dilakukan untuk mengamati afinitas paling baik diantara kedua molekul peptida bioaktif, serta mengidentifikasi dan mengevaluasi interaksi molekuler yang terjadi terhadap makromolekul reseptor target HIV-1 protease. Sistem kompleks protein-peptida dengan konformasi terbaik hasil penambatan molekuler dipilih berdasarkan PatchDock *score*, selanjutnya molekul peptida bioaktif tersebut dibandingkan berdasarkan *Atomic Contact Energy (ACE) score* (Prabhu & Rajeswari, 2016). Hasil simulasi penambatan molekuler pada Tabel 1 menunjukkan bahwa molekul peptida bioaktif LLEYSL memiliki afinitas yang lebih baik apabila dibandingkan molekul peptida LLEYSI, yaitu dengan *ACE score* masing-masing adalah  $-1284,70$  kJ/mol dan  $-639,65$  kJ/mol. Berdasarkan hasil simulasi ini juga dapat dimati bahwa molekul peptida LLEYSL memiliki interaksi yang signifikan pada bagian sisi aktif pengikatan dari makromolekul reseptor target HIV-1 protease (Veeraragavan *et al.*, 2017).

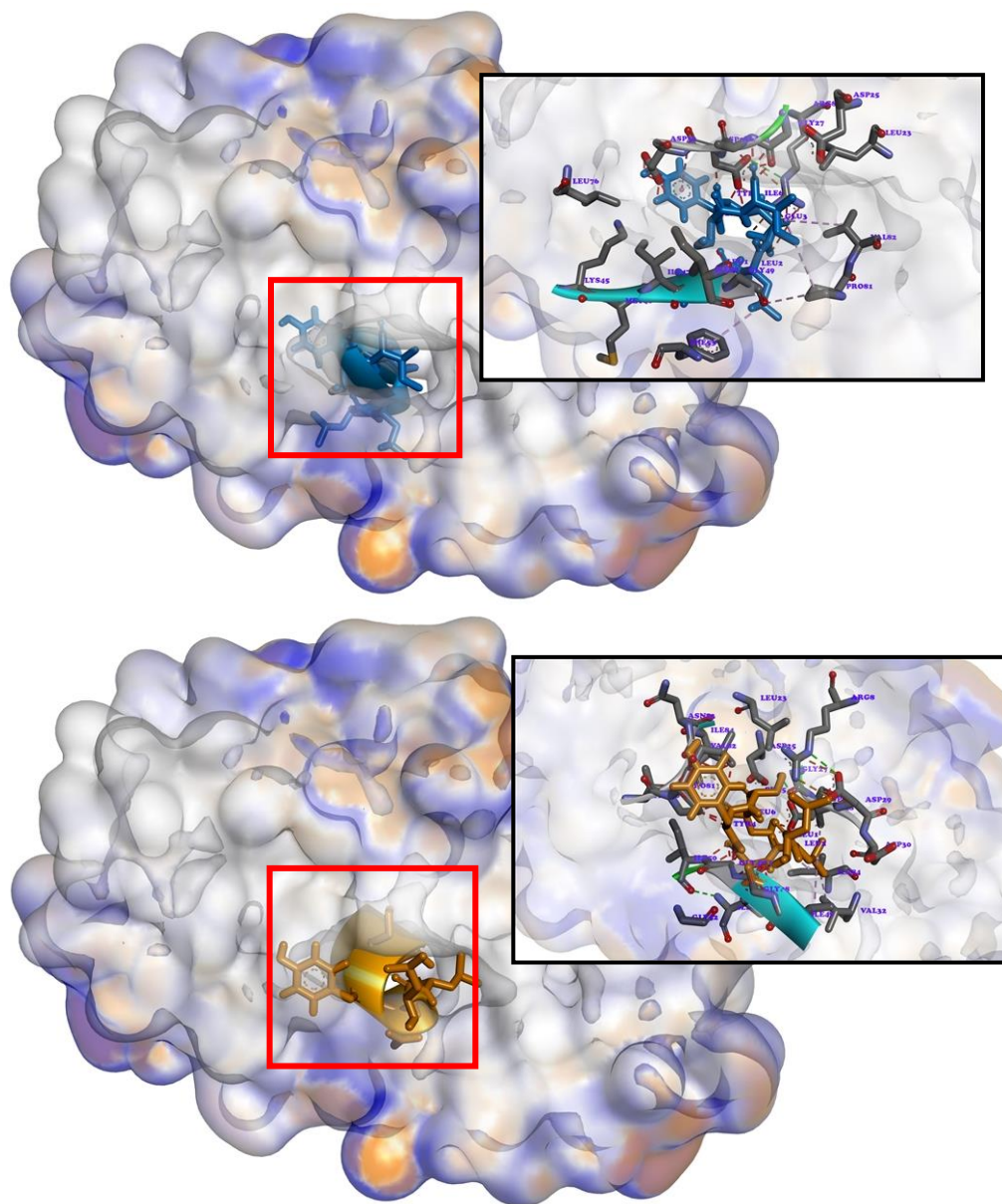
**Tabel 1.** Energi bebas pengikatan hasil simulasi penambatan molekuler berbasis protein-peptida

No.	Sekuensing molekul peptida bioaktif	PatchDock score	ACE score (kJ/mol)
1	LLEYSI	5760	-639,65
2	LLEYSL	5720	-1284,70

Kemudian, untuk mengamati interaksi molekuler yang terjadi maka dilakukan identifikasi dan evaluasi terhadap visualisasi dari kompleks molekul peptida bioaktif dan makromolekul reseptor target HIV-1 protease. Seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4 dapat diamati bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan karena sebagian besar molekul peptida bioaktif berada pada bagian sisi aktif pengikatan enzim HIV-1 protease. Kemudian, apabila dilakukan eksplorasi terhadap interaksi molekuler terhadap residu asam amino yang bertanggung jawab, kedua molekul peptida tidak menunjukkan perbedaan yang berarti karena keduanya memiliki 7 interaksi yang terbentuk. Gambar 4 juga menjelaskan bahwa ikatan yang terbentuk antara peptida LLEYSI dengan enzim HIV-1 protease terdiri dari 5 interaksi hidrofobik (dengan Asp29, Asp30, Phe53, Pro81, dan Val82) dan 2 interaksi elektrostatik (dengan Arg8). Sementara, interaksi yang terbentuk antara peptida LLEYSL dengan enzim HIV-1 protease meliputi 2 ikatan hidrogen (dengan Gly27 dan Gly48) dan 5 interaksi hidrofobik (dengan Ala28, Val32, Ile47, dan Ile84). Fenomena ini membuktikan bahwa afinitas yang baik dari peptida LLEYSL terhadap makromolekul reseptor target HIV-1 protease dapat disebabkan karena adanya 2 ikatan hidrogen terbentuk sehingga menyebabkan interaksi yang lebih kuat jika dibandingkan dengan peptida LLEYSI (Norel *et al.*, 2001).

Sebagaimana yang telah dibuktikan berdasarkan hasil dari pengamatan terhadap afinitas dan interaksi dari kedua molekul peptida bioaktif dengan makromolekul reseptor target HIV-1 protease, keduanya memperlihatkan perbedaan yang signifikan pada ACE score. Molekul peptida tersebut hanya berbeda pada asam amino yang terletak di bagian ujung dari sekuensing (LLEYSI = Isoleusin dan LLEYSL = Leusin). Oleh karena itu, perubahan sekuensing asam amino akan sangat berpengaruh terhadap aktivitas dari molekul peptida bioaktif sehingga diperlukan kehati-hatian dalam melakukan modifikasi terhadap suatu molekul peptida yang akan dijadikan sebagai suatu kandidat obat.





**Gambar 4.** Konformasi molekul peptida bioaktif LLEYSI (biru) dan LLEYSL (kuning) pada bagian sisi aktif pengikatan makromolekul reseptor target HIV-1 protease

#### 4. Kesimpulan

Pada penelitian ini telah berhasil dilakukan identifikasi, evaluasi, dan eksplorasi terhadap interaksi molekuler yang terjadi antara molekul peptida bioaktif dengan makromolekul reseptor target HIV-1 protease menggunakan metode penambatan molekuler berbasis protein-peptida secara *in silico*. Berdasarkan hasil simulasi penambatan molekuler terbukti bahwa molekul peptida bioaktif LLEYSL memiliki afinitas paling baik dengan ACE *score* sebesar  $-1284,70$  kJ/mol. Dengan demikian, molekul peptida bioaktif tersebut berpotensi sebagai kandidat inhibitor alami enzim HIV-1 protease.

#### Daftar pustaka

- Aruleba, R. T., Adekiya, T. A., Oyinloye, B. E., & Kappo, A. P. (2018). Structural Studies of Predicted Ligand Binding Sites and Molecular Docking Analysis of Slc2a4 as a Therapeutic Target for the Treatment of Cancer. *Int J Mol Sci*, 19(2). doi:10.3390/ijms19020386
- Arusksakunwong, O., Promsri, S., Witta, K., Nimmanpipug, P., Lee, V., Wijitkosoom, A., Sompornpisut, P., & Hannongbua, S. (2007). Current Development on HIV-1 Protease Inhibitors. *Current Computer-Aided Drug Design*, 3(3), 201-213. doi:10.2174/157340907781695431
- Bosi, S., Da Ros, T., Spalluto, G., Balzarini, J., & Prato, M. (2003). Synthesis and Anti-HIV Properties of New Water-soluble bis-functionalized[60]fullerene Derivatives. *Bioorg Med Chem Lett*, 13(24), 4437-4440. doi:10.1016/j.bmcl.2003.09.016
- Chavan, S. G., & Deobagkar, D. D. (2015). An in Silico Insight into Novel Therapeutic Interaction of LTNF Peptide-LT10 and Design of Structure Based Peptidomimetics for Putative Anti-diabetic Activity. *PLoS One*, 10(3), e0121860. doi:10.1371/journal.pone.0121860
- Chrusciel, R. A., & Strohbach, J. W. (2004). Non-peptidic HIV Protease Inhibitors. *Curr Top Med Chem*, 4(10), 1097-1114. doi:10.2174/1568026043388312
- Clavel, F., Guyader, M., Guétard, D., Sallé, M., Montagnier, L., & Alizon, M. (1986). Molecular Cloning and Polymorphism of the Human Immune Deficiency Virus Type 2. *Nature*, 324(6098), 691-695. doi:10.1038/324691a0
- Durdagi, S., Mavromoustakos, T., Chronakis, N., & Papadopoulos, M. G. (2008). Computational Design of Novel Fullerene Analogues as Potential HIV-1 PR Inhibitors: Analysis of the Binding Interactions Between Fullerene Inhibitors and HIV-1 PR Residues using 3D QSAR, Molecular Docking and Molecular Dynamics Simulations. *Bioorg Med Chem*, 16(23), 9957-9974. doi:10.1016/j.bmc.2008.10.039
- Ebadi, A., Razzaghi-Asl, N., Shahabipour, S., & Miri, R. (2014). Ab-initio and Conformational Analysis of a Potent VEGFR-2 Inhibitor: A Case Study on Motesanib. *Iran J Pharm Res*, 13(2), 405-415.
- Hou, T. J., & Yu, Y. (2007). Molecular Dynamics and Free Energy Studies on the Wild-Type and Double Mutant HIV-1 Protease Complexed with Amprenavir and Two Amprenavir-Related Inhibitors: Mechanism for Binding and Drug Resistance. *J. Med. Chem.*, 50(6), 1177-1188. doi:10.1021/jm0609162

- Jadhav, P. K., Ala, P., Woerner, F. J., Chang, C. H., Garber, S. S., Anton, E. D., & Bacheler, L. T. (1997). Cyclic Urea Amides: HIV-1 Protease Inhibitors with Low Nanomolar Potency Against both Wild Type and Protease Inhibitor Resistant Mutants of HIV. *J Med Chem*, *40*(2), 181-191. doi:10.1021/jm960586t
- Kemmish, H., Fasnacht, M., & Yan, L. (2017). Fully Automated Antibody Structure Prediction using BIOVIA Tools: Validation study. *PLoS One*, *12*(5), e0177923. doi:10.1371/journal.pone.0177923
- Kim, E. E., Baker, C. T., Dwyer, M. D., Murcko, M. A., Rao, B. G., Tung, R. D., & Navia, M. A. (1995). Crystal Structure of HIV-1 Protease in Complex with VX-478, A Potent and Orally Bioavailable Inhibitor of the Enzyme. *Journal of the American Chemical Society*, *117*(3), 1181-1182. doi:10.1021/ja00108a056
- Kohl, N. E., Emini, E. A., Schleif, W. A., Davis, L. J., Heimbach, J. C., Dixon, R. A., Scolnick, E. M., & Sigal, I. S. (1988). Active Human Immunodeficiency Virus Protease is Required for Viral Infectivity. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *85*(13), 4686-4690. doi:10.1073/pnas.85.13.4686
- Kurniawan, F., Miura, Y., Kartasasmita, R. E., Yoshioka, N., Mutalib, A., & Tjahjono, D. H. (2018). In Silico Study, Synthesis, and Cytotoxic Activities of Porphyrin Derivatives. *Pharmaceuticals (Basel)*, *11*(1). doi:10.3390/ph11010008
- Lebon, F., & Ledecq, M. (2000). Approaches to the Design of Effective HIV-1 Protease Inhibitors. *Curr Med Chem*, *7*(4), 455-477. doi:10.2174/0929867003375146
- Lee, T. G., & Maruyama, S. (1998). Isolation of HIV-1 Protease-inhibiting Peptides from Thermolysin Hydrolysate of Oyster Proteins. *Biochem Biophys Res Commun*, *253*(3), 604-608. doi:10.1006/bbrc.1998.9824
- Norel, R., Sheinerman, F., Petrey, D., & Honig, B. (2001). Electrostatic Contributions to Protein-protein Interactions: Fast Energetic Filters for Docking and Their Physical Basis. *Protein Sci*, *10*(11), 2147-2161. doi:10.1110/ps.12901
- Prabhu, D. S., & Rajeswari, V. D. (2016). *In Silico Docking Analysis of Bioactive Compounds from Chinese Medicine Jinqi Jiangtang Tablet (JQJTT) using Patch Dock*.
- Razzaghi-Asl, N., Ebadi, A., Edraki, N., Shahabipour, S., & Miri, R. (2013). Fragment-based Binding Efficiency Indices in Bioactive Molecular Design: A Computational Approach to BACE-1 Inhibitors. *Iran J Pharm Res*, *12*(3), 423-436.
- Seelmeier, S., Schmidt, H., Turk, V., & von der Helm, K. (1988). Human Immunodeficiency Virus has an Aspartic-type Protease that can be Inhibited by Pepstatin A. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *85*(18), 6612-6616. doi:10.1073/pnas.85.18.6612
- Sepkowitz, K. A. (2001). AIDS--the First 20 Years. *N Engl J Med*, *344*(23), 1764-1772. doi:10.1056/nejm200106073442306
- Shen, Y., Maupetit, J., Derreumaux, P., & Tufféry, P. (2014). Improved PEP-FOLD Approach for Peptide and Miniprotein Structure Prediction. *J Chem Theory Comput*, *10*(10), 4745-4758. doi:10.1021/ct500592m
- Temesgen, Z., Warnke, D., & Kasten, M. J. (2006). Current Status of Antiretroviral Therapy. *Expert Opin Pharmacother*, *7*(12), 1541-1554. doi:10.1517/14656566.7.12.1541
- Thévenet, P., Shen, Y., Maupetit, J., Guyon, F., Derreumaux, P., & Tufféry, P. (2012). PEP-FOLD: An Updated De Novo Structure Prediction Server for Both Linear and Disulfide Bonded Cyclic Peptides. *Nucleic Acids Res*, *40*(Web Server issue), W288-293. doi:10.1093/nar/gks419

- Ungwitayatorn, J., Wiwat, C., Samee, W., Nunthanavanit, P., & Phosrithong, N. (2011). Synthesis, in Vitro Evaluation, and Docking Studies of Novel Chromone Derivatives as HIV-1 Protease Inhibitor. *Journal of Molecular Structure*, 1001(1), 152-161. doi:<https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2011.06.035>
- Veeraragavan, V., Narayanaswamy, R., & Chidambaram, R. (2017). Predicting the Biodegradability Nature of Imidazole and Its derivatives by Modulating Two Histidine Degradation Enzymes (Urocanase and Formiminoglutamase) Activities. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 10, 383. doi:10.22159/ajpcr.2017.v10i11.20999
- Wang, X., Yu, H., Xing, R., & Li, P. (2017). Characterization, Preparation, and Purification of Marine Bioactive Peptides. *Biomed Res Int*, 2017, 9746720. doi:10.1155/2017/9746720
- Wlodawer, A., & Vondrasek, J. (1998). Inhibitors of HIV-1 Protease: A Major Success of Structure-assisted Drug Design. . *Annual Review of Biophysics and Biomolecular Structure*, 27(1), 249-284. doi:10.1146/annurev.biophys.27.1.249