

Skrening Kandungan Kimia *Macaranga gigantea* Reichb.f. & Zoll Interaksi terhadap GSTs

Chemical Compound Screening *Macaranga gigantea* Reichb.f. & Zoll Interaction against GSTs

Samsul Hadi^{1,*}, Kunti Nastiti², Dian Ekowati¹, Ana Muliana¹, Arif Subekti¹

¹Prodi Farmasi, Universitas Lambung Mangkurat

²Prodi Farmasi, Universitas Sari Mulia

*Email korespondensi: samsul.hadi@ulm.ac.id

Abstrak

Penelitian *Macaranga gigantea* sebagai antioksidan sudah banyak dilakukan, Metode yang dipakai yaitu penangkap radikal DPPH dan Lipidperoksidasi. Metode isolasi senyawa dari *Macaranga gigantea* juga sudah dilakukan dan menghasilkan berbagai macam kandungan. Sehingga penelitian ini bertujuan mencari senyawa yang mempunyai interaksi paling stabil terhadap reseptor GSTs, karena GSTs adalah salah satu enzim yang berperan dalam antioksidan secara alami di dalam tubuh. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah docking dengan metode PLANTS, persiapan ligand dengan Marvin Beans, dan visualisasi dengan Discovery studio. Dari penelitian ini diperoleh skor docking yang lebih baik dari ligand original pada 1TDI yaitu corilagin (-94,764), glyasperin A (-86,784), macagigantini (-104,752), musennin (-82,217), skor docking yang terbaik ketika berikatan dengan 3LJR adalah macagigantini (-110,028) dan dengan 18GS adalah macagigantini (-83,675). Kesimpulan dari penelitian ini adalah macagigantini dari *Macaranga gigantea* merupakan ligand potensial dalam hal stabilisasi interaksi dengan reseptor.

Kata Kunci: GSTs, *Macaranga gigantea*, stabilisasi

Abstract

Research on *Macaranga gigantea* as an antioxidant has been widely carried out. The method used is DPPH radical scavenger and lipid peroxidation. The method of isolating compounds from *Macaranga gigantea* has also been carried out and has resulted in various kinds of ingredients. So this study aims to find compounds that have the most stable interaction with the GSTs receptor, because GSTs are one of the enzymes that play a natural role in antioxidants in the body. The method used in this research

is docking with the PLANTS method, ligand preparation with Marvin Beans, and visualization with Discovery studio. From this study, it was obtained a better docking score than the original ligand at 1TDI, namely corilagin (-94,764), glyasperin A (-86,784), macagigantin (-104,752), musennin (-82,217), the best docking score when bound to 3LJR was macagigantin. (-110,028) and with 18GS is macagigantin (-83,675). The conclusion of this study is that macagigantin from *Macaranga gigantea* is a potential ligand in terms of stabilization of interactions with receptors.

Keywords: GSTs, *Macaranga gigantea*, stabilization

Submitted: 01 April 2021

Accepted: 12 Oktober 2021

DOI: <https://doi.org/10.25026/jsk.v3i5.576>

1 Pendahuluan

Glutathione S- transferases (GSTs) merupakan salah satu enzim antioksidan yang mempunyai mekanisme yang luar biasa yaitu memudahkan katalisis hubungan tioeter antara glutathione (GSH) serta pusat elektrofilik suatu senyawa. GSTs sitosol mempunyai polimorfisme genetik pada berbagai populasi. GSTs sitosol mempunyai aktivitas katalitik selaku protein homo- ataupun hetero- dimer, memungkinkan pembentukan beberapa enzim dari beberapa gen tetapi dimerisasi umumnya terbatas pada subunit dalam kategori yang serupa [1].

Microsomal GSTs memiliki 3 isoform yang dikenal sebagai mGST 1, 2, dan 3 yang dikodekan oleh satu gen yang terdapat pada kromosom 12 (MGST1) serta ikut serta dalam metabolisme endogen leukotrien serta prostaglandin. GSTs berperan dalam melawan karsinogen, dan stress oksidatif seluler [2]. GSTs juga mengelola biosintesis serta transport hormon intraseluler. Bersumber pada kesamaan sekuens serta ciri substratnya. GSTs dipecah menjadi 10 subfamili: alfa, omega, zeta, delta, epsilon, P, theta, sigma, kappa, mu. Pada riset ini berfokus pada subfamily GSTP (PDB ID: 18GS), GSTA3 (PDB ID: 1TDI) serta GSTT2 (PDB ID: 3LJR) karena ketiga family GSTs itu terekspresi ketika suatu radikal terbentuk. Uji antioksidan dari tanaman banyak dilakukan, tujuannya mencari ekstrak atau fraksi yang berpotensi sebagai antioksidan dan pada tahap akhir mengisolasi senyawa yang bertanggungjawab. Salah satu tanaman yang sudah diteliti kemampuan antioksidan yaitu

Macaranga gigantea dikenal dengan Ambaratan.

Aktivitas antioksidan tanaman ini dengan metode DPPH memiliki berbagai macam IC_{50} tergantung bagian tanaman dan pelarut yang digunakan. Bagian kulit kayu ekstrak metanol IC_{50} : 145 ppm; fraksi heksan 157; diklorometan 188; etil asetat 217; butanol 302; air 285. Bagian daun ekstrak methanol IC_{50} : 166 ppm; fraksi heksan 179, diklorometan 196; etil asetat 199, butanol 257, air 244 [3], bagian kayu ekstrak metanol memiliki nilai IC_{50} 27 ppm [4]. Metode inhibisi lipid peroxidase, dengan metode ini bagian kulit kayu ekstrak methanol memiliki kemampuan 91 %; fraksi heksan 86; diklorometan 88; etil asetat 89; butanol 56; air 64. Bagian daun ekstrak methanol memiliki kemampuan 92 %; fraksi heksan 90; diklorometan 89, etil asetat 88; butanol 90; air 90 [3]. Dari berbagai penelitian yang telah dilakukan belum ada penelitian mengenai interaksi ligand terhadap salah satu enzim antioksidan yaitu GSTs, sehingga peneliti ingin mengetahui stabilisasi interaksi antara senyawa dari *Macaranga gigantea* terhadap berbagai tipe GSTs.

2 Metode Penelitian

2.1 Peralatan

Laptop acer I3 dengan ram 4GB, software PLANTS 1,2 [5], MarvinBeans [6], Discovery studio [7]

2.2 Bahan

Kandungan kimia *Macaranga gigantea* yaitu macagigantin, glyasperin A, apigenin [8], asam sikimat, musennin, rhamnetin, lupeol asetat, corilagin, quercetrin, [9], luteolin[10]

2.3 Prosedur

Tahap pertama yang dilakukan adalah melakukan redocking terhadap ligand original. Setelah didapatkan nilai RMSD, dan dinyatakan valid selanjutnya dilakukan docking kandungan kimia *Macaranga gigantea* terhadap GSTs dengan berbagai tipe. Sebelum dilakukan proses docking, terlebih dahulu ligand di preparasi di MarvinBean dan dilakukan konformasi sebanyak 10, sehingga ligand akan memiliki berbagai macam pose.

2.4 Validasi Metode

Validasi metode dengan cara melakukan redocking ligand originl

2.5 Analisis data

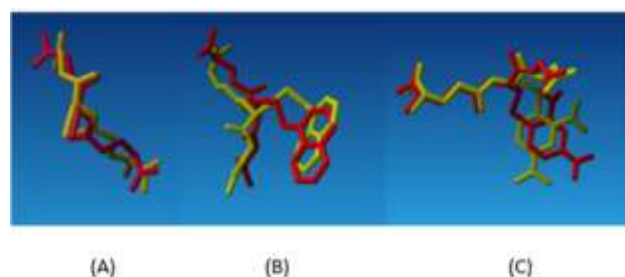
Analisis data dengan melihat pola kemiripan residu asam amino dari kandungan kimia *Macaranga gigantea* yang dikomparatifkan dengan ligand original yang berikatan dengan tipe GSTs dan skor docking yang mendekati nilai ligand original.

3 Hasil dan Pembahasan

GSTs merupakan salah satu enzim di dalam tubuh yang berperan sebagai antioksidan, dari berbagai tipe yang ada, peneliti menggunakan Glutathione S-transferase tipe A3 dengan kode 1TDI [11], Glutathione S-transferase tipe theta-2 dengan kode 3 LJR[12], Glutathione S-transferase tipe P kode 18 GS[13]. Tahapan pertama dalam proses docking adalah validasi docking dengan melakukan re-docking ligand original terhadap masing masing reseptor, hasilnya dapat dilihat pada gambar 1. 1TDI memiliki ligand original adalah glutathione ($C_{10}H_{17}N_3O_6S$) setelah proses docking mendapatkan nilai RMSD 0,9033 \AA . 3LJR ligand originalnya adalah 1-menaphthyl glutathione conjugate ($C_{21}H_{25}O_6S$) dengan nilai RMSD sebesar 1,8741 \AA . 18GS memiliki ligand original adalah Glutathione S-2,4 dinitrobenzene dengan RMSD: 1,8173 \AA . Ketiga

proses docking mempunyai nilai RMSD dibawah 2 \AA sehingga proses docking valid dan dapat dilanjutkan docking terhadap senyawa yang terdapat pada *Macaranga gigantea* [14].

Glutathione S-transferase tipe A3 pada tahap ini digunakan sebagai model reseptor yang berikatan dengan senyawa *Macaranga gigantea*, dimulai dari apigenin. Apigenin, corilagin, glyasperin A, lupeol asetat, luteolin, macagigantin quercetrin memiliki kemiripan residu 50% yaitu TRP 21. Musennin kemiripan 100 % yaitu ARG155 dan TRP21. Rhamnetin dan asam sikimaat tidak mempunyai kemiripan. Untuk keseluruhan dapat dilihat pada tabel 1.



Gambar 1. Visualisasi ligand sebelum dan setelah docking

Kuning adalah ligand original sebelum docking; merah adalah ligand original setelah docking, metode docking menggunakan PLANTS dan melihat nilai RMSD dengan YASARA. A adalah 1TDI; B adalah 3LJR; C adalah 18GS.

Glutathione S-transferase tipe theta-2 selanjutnya menjadi target docking selanjutnya. Senyawa pertama yang dockingkan adalah apigenin dengan tingkat kemiripan 45% yaitu SER67, PRO13, ARG15, GLU172, MET168. Corilagin dengan tingkat kemiripan 45% yaitu VAL10, MET168, ARG107, ARG15, GLU172. Glyasperin A tingkat kemiripan 54% yaitu GLU172, ARG15, PRO13, MET168, GLN12. Lupeol asetat tingkat kemiripan 36% yaitu VAL10, PRO13, ARG15, MET168. Luteolin tingkat kemiripan 54% yaitu SER67, PRO13, ARG15, GLU172, MET168, GLN12. Macagigantin tingkat kemiripan 54% yaitu HIS102, GLU172, ARG15, PRO13, ARG107, MET168. Musennin tingkat kemiripan 27% yaitu GLU172, ARG15, PRO13. Quercetrin tingkat kemiripan 27% yaitu GLU172 dan ARG15 dan ARG107. Rhamnetin

tingkat kemiripan 63% yaitu GLN12, HIS102, ARG15, PRO13, ARG107, GLU172, MET168. Asam sikimat memiliki tingkat kemiripan 45%

yaitu ARG15, SER14, PRO13, GLN12, GLU172. Untuk keseluruhan dan interaksi dapat dilihat pada table 2.

Tabel 1. Interaksi Glutathione S-transferase tipe A3 dengan ligand

	Tipe Interaksi		
	Ikatan hidrogen	Interaksi hidrofob	Interaksi lain (elektrostatik, PI-lone Pair, PI-Sulfur, water bridge)
ligand original	TRP21, MET16	-	ARG155, HOH479, HOH568
apigenin	TRP21, LEU22, ARG15, PRO18, SER159, TYR166, ILE158,	TYR166, TRP21, LEU163, ILE19, LEU72	TRP21
corilagin	SER159, LEU163, MET16, SER159	LEU72, PRO18	GLU162, TRP21, TRP21
glyasperin A		TRP21, LEU163, VAL167, LEU163, ARG69, LEU72, TYR166, ILE19	HOH479
Lupeol asetat	-	TRP21, LEU72, LEU163, PRO18, ILE19, TYR166	-
luteolin	ARG15	TYR166, TRP21, LEU163, ILE19, LEU72	SER159, HOH479, TRP21,
macagigaqntin	SER159	PRO18, LEU163, TRP21, ILE71	HOH435, GLU162
musennin	ARG15, MET99, MET16, PRO18, ARG155, SER159, THR96	ARG13, PRO18, LEU107, VAL161, ARG13, PRO18, ARG13, LEU107, VAL161, LEU164, TRP21, TYR165, TYR166	HOH370, HOH566,
quercetrin	LEU22, HLU162, ASN103, SER159	MET16, TYR166, LEU72	HOH415, HOH561, HOH568, TRP21
rhamnetin	SER159, LEU163, PRO18, ILE158, THR68	LEU72, PPRO18, ILE19	HOH435
asam sikimat	GLU162, ARG15, SER159	-	-

Table 2. Interaksi Glutathione S-transferase theta-2 dengan ligand

	Tipe Interaksi		
	ikatan hidrogen	Interaksi hidrofob	Interaksi lain (elektrostatik, PI-lone Pair, PI-Sulfur, water bridge)
ligand original	SER14, GLY108, GLU172, GLN12, SER67, HIS102, ARG107, MET168, GLU172	PRO13, ARG15, VAL10	GLU172, ARG107
apigenin	SER67, GLU17	PRO13, ALA16, ARG15	GLU172, MET168
corilagin	GLN175, VAL10, GLU171, HIS210, PRO55, MET168, GLU172,	ARG107, ARG15, MET174	SO4245, GLU172
glyasperin A	GLU172,	GLU171, ALA16, LEU71, ARG15, MET174, ILE213, ARG15, ILE213, HIS210, PRO13, ALA16	SO4245, GLU172, MET168, GLN12
Lupeol asetat	ALA169	VAL10, PRO13, ARG15, ALA16, MET168, ILE213	HIS102
luteolin	SER67, GLN175, SER67	PRO13, ALA16, ARG15	GLU172, MET168, GLN12
macagigaqntin	ALA16, VAL17, HIS102, GLU172, HIS102	ARG15, ALA16, MET168, MET174, ILE213, MET174, ILE213, PRO13, HIS210, PRO13, ARG107, MET168	GLU172, MET168
musennin	ALA16, ALA169, GLU172, LEU9,	ARG15, MET174, ALA178, ALA209, ILE213, PRO13, LEU35, LEU54, PRO55, ILE213, MET174, LEU214, HIS210, MET168	ARG15, HIS210
quercetrin	LEU167, GLU172	ARG15, ARG107	SO4245, GLU172, GLN175
rhamnetin	SER11, GLN12, GLU171	HIS102, ARG15, MET174, HIS210, ARG15, PRO13, ARG107	GLU172, MET168,
Asam sikimat	-	-	ALA16, ARG15, SER14, PRO13, GLN12, GLU172

Table 3. Interaksi Glutathione S-transferase tipe P dengan ligand

	Tipe Interaksi		
	Ikatan hidrogen	Interaksi hidrofob	Interaksi lain (elektrostatik, PI-lone Pair, PI-Sulfur, water bridge)
ligand original	TYR7, LEU17, ARG100, TYR103, TYR153, ASN93, GLY12, PHE150, ASP157	ALA15	ARG13, ARG100, ASP157, HOH212, HOH215, HOH230, ARG100, HOH242, HOH340
apigenin	VAL96,	LEU158, ALA15, MET19, ALA16, ARG100	HOH220, HOH230, ASP157
corilagin	ALA16, ARG100, GLY12,	ARG13, ALA16, ALA15, LEU69	ARG100, HOH215, HOH220, HOH228, HOH283
glyasperin A	-	ARG13, ARG100, ILE104, LEU155, LEU156, LEU158, LEU159, ALA15, LEU69, MET19	HOH228, ARG100, ASP157
Lupeol acetat	ASN154, ALA151	ARG11, ALA15, ALA16, VAL96, ARG18, MET19, PHE192, TYR198	
luteolin	VAL96, LEU155	ALA15, MET19, ARG18, ALA16, ARG100, LEU158	HOH215, HOH220, HOH230, HOH217, ASP157
macagigaqntin	ARG100, LEU99	TYR103, ALA15, ALA16, MET19, LEU69, LEU17, ARG11, ARG13, CYS14, TYR7, TYR153, ARG100, ALA16, LEU158, ILE161, ALA16	HOH242, ARG100
musennin	MET19, ARG18, PHE150, ARG18, ARG100, ASP152, VAL10, TYR198,	ARG13, ALA16, ARG100, ILE143, ALA151, LEU155, LEU158, VAL96, ILE143, LEU155, VAL96, PHE129	HOH215, HOH230, HOH242, HOH283
quercetrin	LEU20, ARG100, CYS14, ASN154, LEU155	ALA16, LEU69, MET19, ALA15, ARG18, ALA16, ILE161	ASP157, MET19, GLY12
rhamnetin	ASN154, ARG100, ILE203, ALA16	ALA15, ARG11, ARG13, ALA16, MET19	HOH219, HOH220, HOH243, ARG100
Asam sikimat	ALA16, ASP157	-	ARG100, HOH219, HOH220

Tabel 4. Skor docking dari masing masing ligand

	Glutathione S-transferase tipe A3	Glutathione S-transferase tipe theta-2	Glutathione S-transferase tipe P
ligand original	-81,611	-122,813	-110,495
apigenin	-75,471	-79,531	-70,924
corilagin	-94,764	-71,213	-76,241
glyasperin A	-86,784	-92,413	-70,118
Lupeol acetat	-68,856	-65,028	-54,919
luteolin	-75,689	-79,593	-73,822
macagigaqntin	-104,752	-110,028	-83,675
musennin	-82,217	-68,823	-80,921
quercetrin	-77,152	-91,687	-73,850
rhamnetin	-74,304	-71,562	-66,647
Asam sikimat	-60,391	-69,053	-66,127

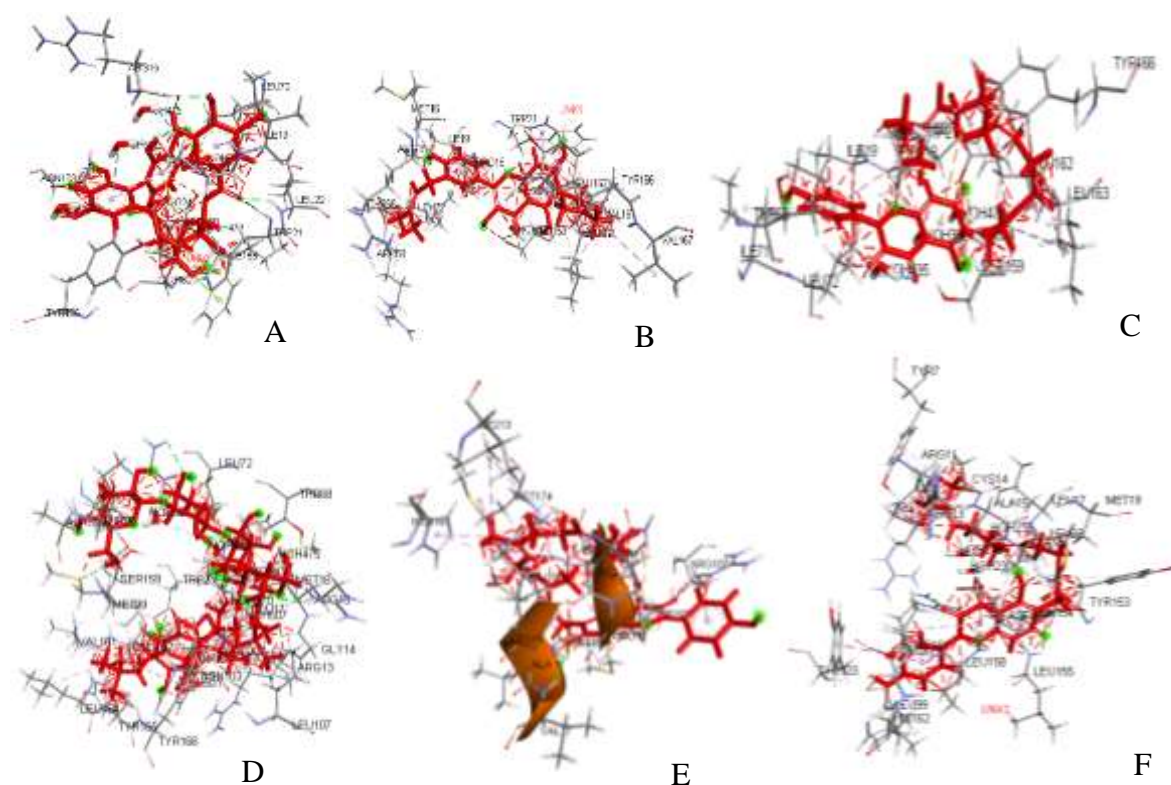
Glutathione S-transferase tipe P digunakan sebagai tahap akhir docking. Senyawa pertama yang didocking adalah Apigenin. Apigenin memiliki tingkat kemiripan 15% yaitu ARG100, ASP157. Corilagin tingkat kemiripan 30% yaitu ARG100, ARG13, ALA15. Glyasperin A tingkat kemiripan 38% yaitu ARG13, ARG100, ALA15, ARG100, ASP157. Lupeol asetat tingkat kemiripan 7% yaitu ALA15. Luteolin tingkat kemiripan 23% yaitu ALA15, ARG100, ASP157. Macagigantintin tingkat kemiripan 46% yaitu ARG100, TYR103, ALA15, ARG13, TYR153, ARG100. Musennin kemiripannya 23% yaitu PHE150, ARG100, ARG13. Quercetrin kemiripan 30% yaitu ARG100, ALA15, ASP157, GLY12. Rhamnetin tingkat kemiripan 23% yaitu ARG100, ALA15, ARG13. Asam sikimat kemiripan 15% yaitu ASP157 dan ARG100.

Keseluruhan interaksi dapat dilihat pada table 3.

Skor docking ligand terhadap reseptor Glutathione S-transferase tipe A3 memperlihatkan nilai yang lebih baik dari ligand originalnya yaitu corilagin -94,764 (116%), glyasperin A -86,784 (106%), macagigantintin -104,752 (128%) dan musennin -82,217 (100%). Skor docking ligand original ini, hanya mampu membentuk interaksi hidrogen, Pi-sulfur dan water bridge tanpa adanya interaksi elektrostatik terhadap residu asam amino [11]. Untuk Glutathione S-transferase tipe theta-2 skor docking terbaik dari senyawa *Macaranga gigantea* dimiliki oleh macagigantintin -110,028 (89%) hal ini karena ligand original mampu membentuk interaksi 11 residu asam amino dengan model interaksi elektrostatik, hidrogen, hidrofob [12]. Glutathione S-

transferase tipe P skor docking terbaik yaitu macagigantin -83,675 (75%), hal ini ligand original mampu membuat interaksi 13 residu asam amino sehingga terbentuk interaksi

elektrostatik, hidrogen, hidrofob dan waterbridge [13]. Pose ligand berinteraksi dengan residu yang memberikan skor docking terbaik dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Pose ligand dengan reseptornya

Ligand adalah warna merah, A adalah Corilagin dengan reseptor 1TDI, B adalah glyasperin dengan reseptor 1TDI, C adalah macagigantin dengan reseptor 1TDI, D adalah musennin dengan reseptor 1TDI, E adalah macagigantin dengan reseptor 3LJR, F macagigantin dengan reseptor 18GS. Visualisasi interaksi 3D menggunakan discovery studio.

4 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian ini, diperoleh ligand macagigantin yang potensial dalam hal stabilasi interaksi dengan reseptor, sehingga dapat dikembangkan lebih lanjut

5 Ucapan Terimakasih

Peneliti mengucapkan terimakasih terhadap FMIPA universitas Lambung Mangkurat, yang telah memberi kesempatan melakukan penelitian.

6 Kontribusi Penulis

Samsul Hadi menjalankan persiapan ligand proses docking, Kunti nastiti membuat

visualisasi, Dian ekowati, Ana Muliana, Arif Subekti menyusun naskah

7 Daftar Pustaka

- [1] N. P. Vermeulen, J. G. Bessems, and R. Van de Straat, "Molecular aspects of paracetamol-induced hepatotoxicity and its mechanism-based prevention.," *Drug Metab. Rev.*, vol. 24, no. 3, pp. 367–407, 1992, doi: 10.3109/03602539208996298.
- [2] C. E. Presnell *et al.*, "Computational insights into the role of glutathione in oxidative stress.," *Curr. Neurovasc. Res.*, vol. 10, no. 2, pp. 185–194, May 2013, doi: 10.2174/1567202611310020011.
- [3] N. A. Mazlan *et al.*, "Antioxidant, Antityrosinase, Anticholinesterase, and Nitric Oxide Inhibition Activities of Three Malaysian *Macaranga*

- Species," *Sci. World J.*, vol. 2013, p. 312741, 2013, doi: 10.1155/2013/312741.
- [4] E. T. Arung *et al.*, "Antioxidant and Antimelanogenesis Activities of Glyasperin A from *Macaranga pruinosa* Leaves," *Nat. Prod. Commun.*, vol. 14, no. 7, 2019, doi: 10.1177/1934578X19867192.
- [5] O. Korb, T. Stütze, and T. E. Exner, "Empirical scoring functions for advanced Protein-Ligand docking with PLANTS," *J. Chem. Inf. Model.*, vol. 49, no. 1, pp. 84–96, 2009, doi: 10.1021/ci800298z.
- [6] ChemAxon, "ChemAxon - Software Solutions and Services for Chemistry and Biology," *MarvinSketch, Version 16.10.31*, 2016. <https://chemaxon.com/>.
- [7] D. Systèmes, "Free Download: BIOVIA Discovery Studio Visualizer - Dassault Systèmes." 2020, [Online]. Available: https://discover.3ds.com/discovery-studio-visualizer-download#_ga=2.4935860.685747970.1587999055-a5d1c1c0-3176-11e9-a86f-e302515d21c8.
- [8] M. Tanjung, E. H. Hakim, D. Mujahidin, M. Hanafi, and Y. M. Syah, "Macagigantin, a farnesylated flavonol from *Macaranga gigantea*," *J. Asian Nat. Prod. Res.*, vol. 11, no. 11, pp. 929–932, 2009, doi: 10.1080/10286020903302315.
- [9] F. O. Akerina, T. Nurhayati, and R. Suwandi, "Isolation and Characterization of Antibacterial Compounds from Sea Urchin," *J. Pengolah. Has. Perikan. Indones.*, vol. 18, no. 1, 2015, doi: 10.17844/jphpi.v18i1.9564.
- [10] N. F. Mohd Rasid, N. Ahmat, and A. S. Kamarozaman, "Two flavonoids isolated from the leaves of *Macaranga gigantea*," *Planta Med.*, vol. 82, no. S 01, p. P141, 2016, doi: 10.1055/s-0036-1596305.
- [11] Y. Gu *et al.*, "Crystal structure of human glutathione S-transferase A3-3 and mechanistic implications for its high steroid isomerase activity," *Biochemistry*, vol. 43, no. 50, pp. 15673–15679, Dec. 2004, doi: 10.1021/bi048757g.
- [12] J. Rossjohn *et al.*, "Human theta class glutathione transferase: the crystal structure reveals a sulfate-binding pocket within a buried active site," *Structure*, vol. 6, no. 3, pp. 309–322, Mar. 1998, doi: 10.1016/s0969-2126(98)00034-3.
- [13] A. J. Oakley, M. Lo Bello, M. Nuccetelli, A. P. Mazzetti, and M. W. Parker, "The ligandin (non-substrate) binding site of human Pi class glutathione transferase is located in the electrophile binding site (H-site)," *J. Mol. Biol.*, vol. 291, no. 4, pp. 913–926, Aug. 1999, doi: 10.1006/jmbi.1999.3029.
- [14] K. E. Hevener *et al.*, "Validation of molecular docking programs for virtual screening against dihydropteroate synthase," *J. Chem. Inf. Model.*, vol. 49, no. 2, pp. 444–460, Feb. 2009, doi: 10.1021/ci800293n