



POTENSI SENYAWA BIOAKTIF TANAMAN GENUS *Phyllanthus* SEBAGAI INHIBITOR REPLIKASI VIRUS HEPATITIS B

Potency of Plant Bioactive Compounds from the Genus *Phyllanthus* as Hepatitis B Virus Replication Inhibitor

Firdayani*, Susi Kusumaningrum, Yosephine Ria Miranti

Pusat Teknologi Farmasi dan Medika, Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi, Gedung 610-611
Kawasan Puspiptek Tangerang Selatan 15314

*Email: firdayani@bppt.go.id

ABSTRACT

In this research, simulations of molecular docking of Phyllanthus bioactive compounds were performed into the core protein of HBV. This simulation aimed to predict the interaction between compounds with virus core protein causing disruption of capsid formation and inhibiting its replication. The docking simulation was completed by Molegro Virtual Docker 6.0. The 3D stable conformation of molecule structures were docked into HBV core protein downloaded from Protein Data Bank, then the results were analyzed to view the minimum energy and interactions that occurred. The coordinate docking was done at the same coordinate as the previously docked reference ligand position and was validated. From the results it was known that repandusinic acid formed the most stable affinity bond with amino acid residues of viral core proteins. Interaction of B chain forming hydrogen bonds with the amino acid residues of Thr 33, Trp 102, Phe 23, Leu 140, Tyr 118 and Ser 141, and C chain with Thr 128, Val 124 and Glu 117. These compounds can be used as marker for anti HBV.

Keyword: Bioactive compounds, core protein, HBV, molecular docking, Phyllanthus

ABSTRAK

Pada penelitian ini dilakukan simulasi penambatan molekul senyawa-senyawa bioaktif *Phyllanthus* ke dalam protein inti virus hepatitis B. Simulasi ini bertujuan untuk memprediksi interaksi terbentuk antara senyawa dengan protein yang menyebabkan terganggunya pembentukan kapsid virus dan menghambat replikasinya. Simulasi penambatan molekul dilakukan menggunakan program Molegro Virtual Docker 6.0. Sebagai reseptor target digunakan struktur 3D protein inti yang diunduh dari Protein Data Bank. Posisi penambatan dilakukan pada koordinat yang sama dengan posisi ligan referensi yang sudah tertambat sebelumnya dan tervalidasi. Dari hasil simulasi diketahui bahwa asam repandusinat membentuk kompleks dengan energi afinitas ikatan yang paling kecil dengan residu asam amino protein inti virus. Interaksi terjadi dengan rantai B yang membentuk ikatan hidrogen dengan asam amino Thr 33, Trp 102, Phe 23, Leu 140, Tyr 118 dan Ser 141, dan rantai C dengan asam amino Thr 128, Val 124 dan Glu 117. Senyawa ini dapat dijadikan sebagai marka untuk anti VHB.

Kata kunci: Penambatan molekul, *Phyllanthus*, protein inti, senyawa bioaktif, VHB

PENDAHULUAN

Hepatitis B adalah penyakit infeksi hati yang berpotensi mengancam jiwa yang disebabkan oleh virus hepatitis B (VHB). Penyakit ini merupakan masalah kesehatan global karena dapat menyebabkan penyakit hati kronis dan menempatkan pasien pada risiko tinggi kematian. Diperkirakan sekitar 240 juta orang di dunia terinfeksi secara kronis oleh hepatitis B yang didefinisikan dengan mempunyai HBsAg positif setidaknya selama 6 bulan. Lebih dari 686 ribu orang meninggal tiap tahun akibat komplikasi hepatitis B termasuk sirosis dan kanker hati (Naghavi et al. 2015). Sekitar 75% penderita hepatitis B kronis berada di Asia. Endemis di Indonesia termasuk dalam level sedang hingga tinggi di beberapa wilayahnya (Kemenkes 2014; Yano et al. 2015).

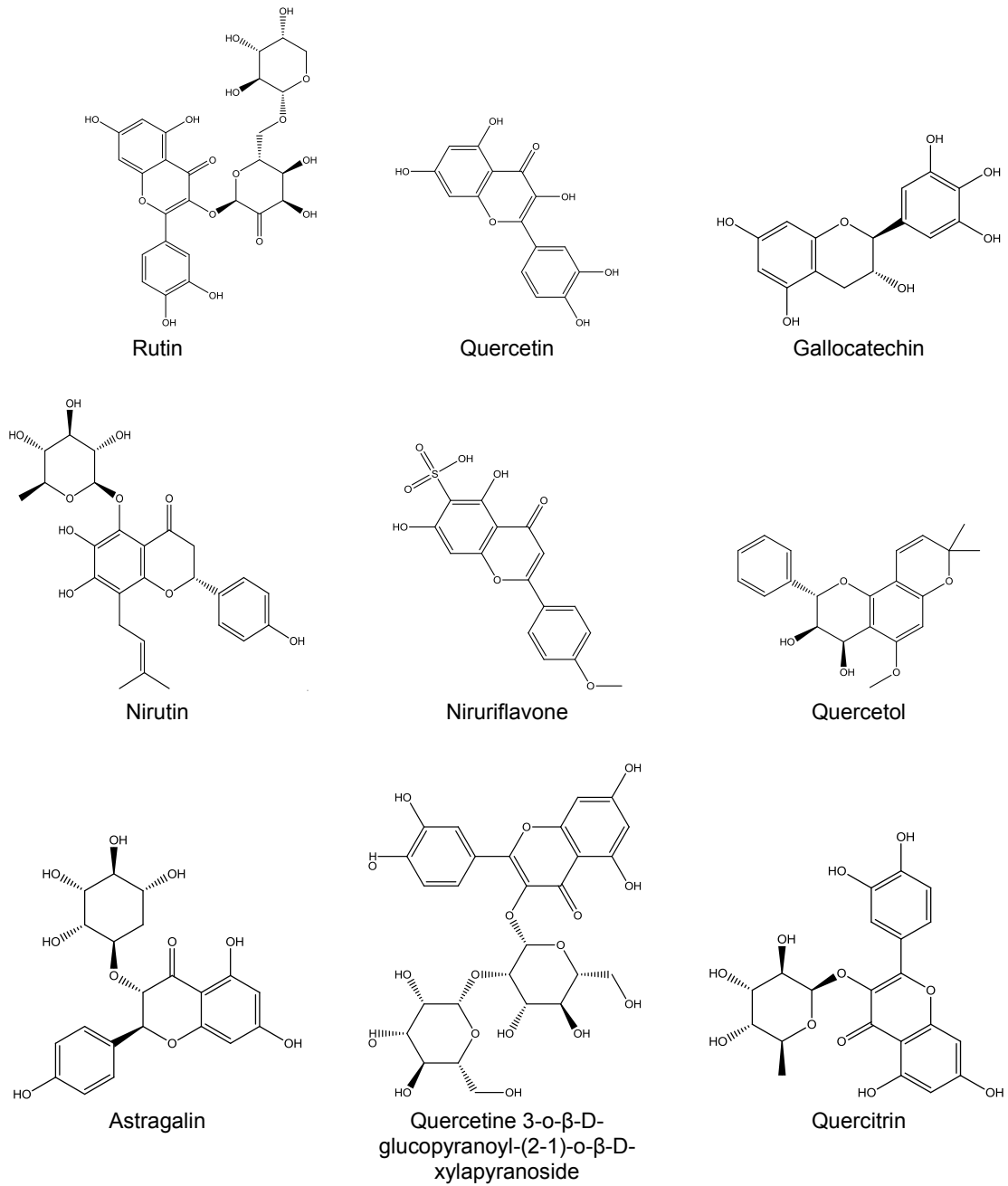
Obat untuk hepatitis B yang telah disetujui FDA saat ini ada 2 jenis, yaitu immunomodulator (IFN- α dan peg-IFN- α) dan analog nukleosida (lamivudin, adefovir dipivoksil, entecavir, telbivudin, tenofovir disoproksil fumarat). Interferon tidak aktif jika diberikan secara oral melainkan harus diberikan secara intravena atau subkutan dan dimetabolisme di dalam hati. Analog nukleosida bekerja dengan menghambat fungsi DNA polimerase virus dengan target *reverse transcriptase* (RT) VHB. Namun setelah penggunaan obat cukup lama, dapat terjadi efek samping akibat resistensi dan mutasi spesifik pada virus. Dengan demikian, masih diperlukan usaha dan penelitian untuk mencari dan menemukan obat baru untuk mengatasi penyakit akibat VHB.

Protein inti VHB merupakan target obat yang sedang diteliti akhir-akhir ini. Protein inti ini memegang peranan penting pada berbagai tahap siklus hidup virus, yaitu berinteraksi dengan protein inang dan membentuk kapsid yang cukup stabil untuk melindungi RNA dan DNA virus serta dapat melepaskan DNA virus pada saat yang tepat dalam siklus kehidupan virus. Dengan mengganggu peran protein inti ini maka replikasi virus akan terhambat. Oleh karena itu protein inti VHB ini merupakan target yang sangat baik untuk pengembangan antivirus baru yang selektif, aman dan efektif (Bourne et al. 2008; Campagna et al. 2013; Klumpp et al. 2015; Zlotnick et al. 2015; Venkatakrishnan et al. 2016).

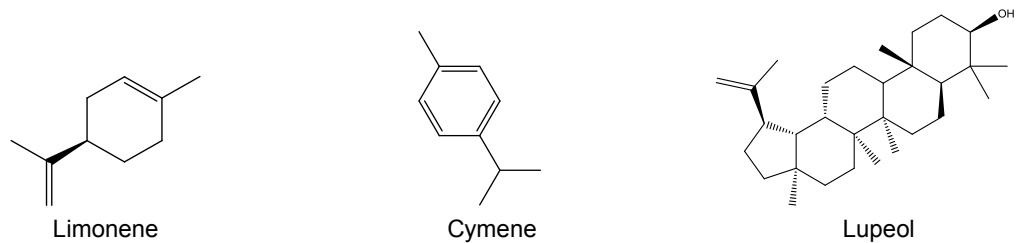
Genus *Phyllanthus* merupakan kelompok tumbuhan famili Euphorbiaceae yang terdiri dari 1000 spesies dan terdapat di daerah tropis maupun subtropis. *Phyllanthus* merupakan genus tanaman yang sebagian besar anggotanya telah digunakan sebagai obat herbal. Salah satu khasiat yang dimiliki dan banyak diteliti adalah sebagai anti hepatitis B, baik secara *in vitro*, *in vivo* maupun uji klinis (Mao et al. 2016). Ekstrak air dari tanaman meniran hijau (*Phyllanthus niruri*) menghambat endogenous DNA polimerase dari VHB dan berikatan dengan antigen permukaan (HBsAg) virus secara *in vitro* (Venkateswaran et al. 1987). Senyawa aktif yang dikandungnya antara lain nirtetralin. Nirtetralin A dan nirtetralin B mampu menekan sekresi HBsAg dan HBeAg secara *in vitro* dengan nilai IC₅₀ pada satuan mikromolar (Wei et al. 2012). Pasien yang menerima perlakuan ekstrak *Phyllanthus urinaria* (L), kadar HBsAg yang terdeteksi dari serumnya menurun (Wang et al. 1995; Xia et al. 2013). Sekresi HBsAg dan HBeAg juga menunjukkan penurunan secara signifikan setelah pemberian nirtetralin pada cell line HepG2.2.15 (Liu et al. 2014). Sedangkan asam elagat tidak menunjukkan efek pada replikasi VHB.

Tanaman *Phyllanthus* telah dilaporkan mengandung senyawa seperti flavonoid, alkaloid, terpenoid, lignan, polifenol, tannin, coumarin, dan saponin. Beberapa senyawa yang telah dilaporkan terkandung dalam *Phyllanthus* (Gambar 1-7)

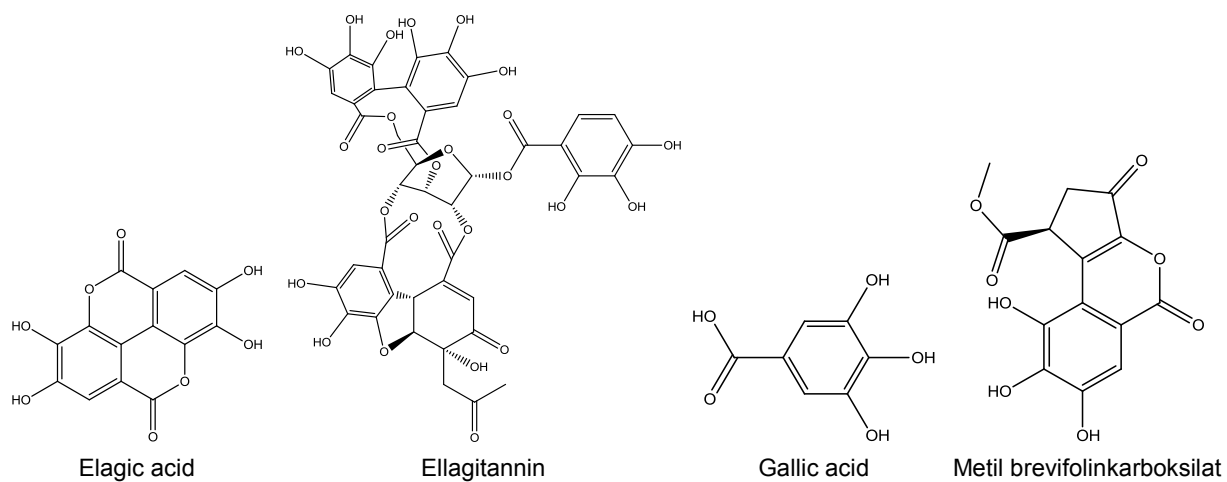
Penambatan molekular (*molecular docking*) adalah prosedur komputasional yang bekerja untuk memprediksi ikatan nonkovalen antar makromolekul atau lebih seringnya pada makromolekul (reseptor) dan molekul kecil (ligan) secara efisien. Simulasi penambatan molekular bertujuan untuk memprediksi konformasi ikatan dan afinitas ikatan sehingga dapat digunakan untuk memilah senyawa-senyawa mirip obat sebagai senyawa penuntun untuk dikembangkan menjadi kandidat obat selanjutnya. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui interaksi yang terjadi antara senyawa bioaktif yang dikandung oleh tanaman dalam genus *Phyllanthus* dengan protein inti VHB menggunakan teknik simulasi penambatan molekular. Dengan melihat hasil simulasi ini dapat diprediksi senyawa yang berperan dalam replikasi VHB sehingga



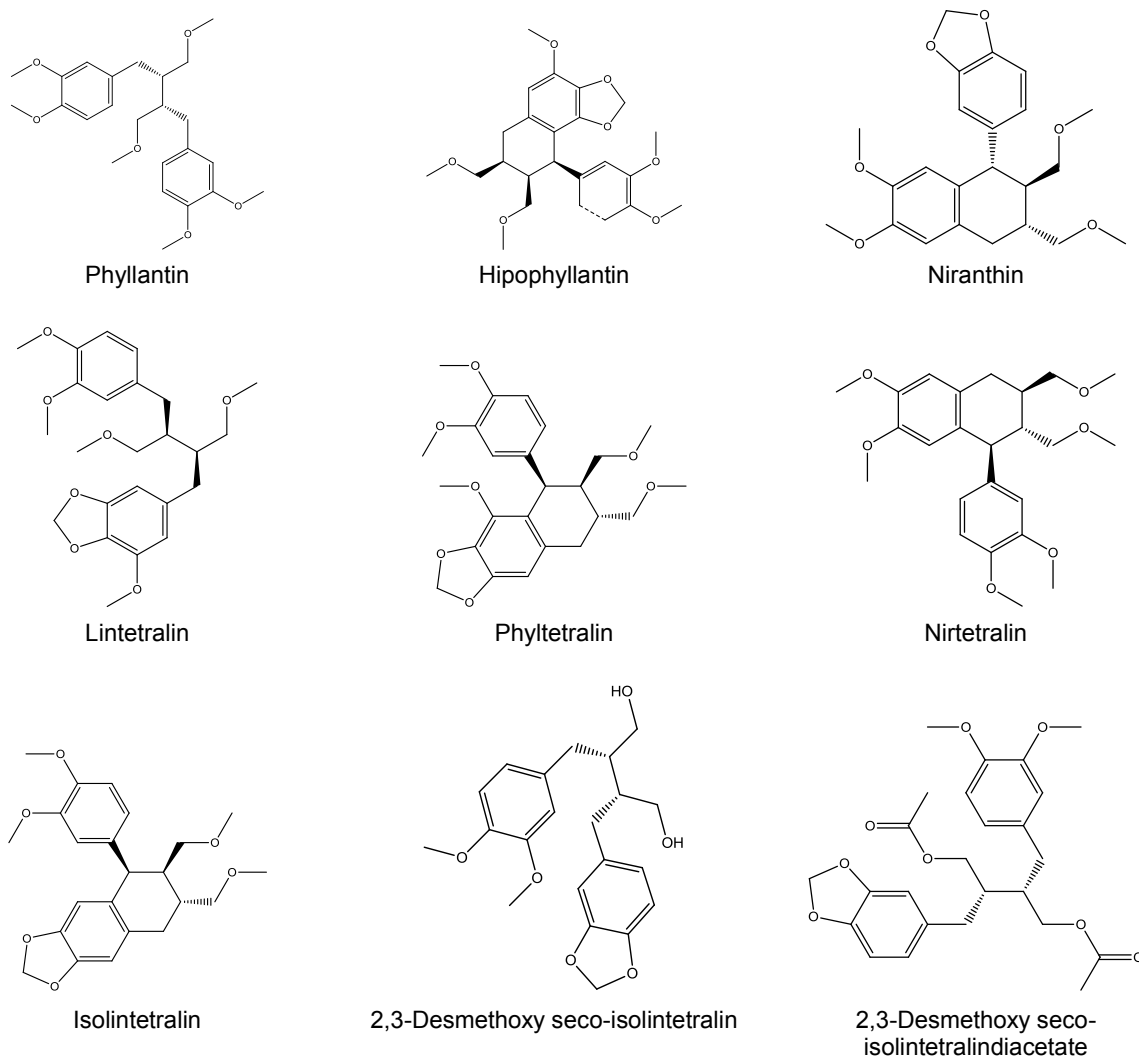
Gambar 1. Struktur senyawa golongan flavonoid dalam *Phyllanthus*



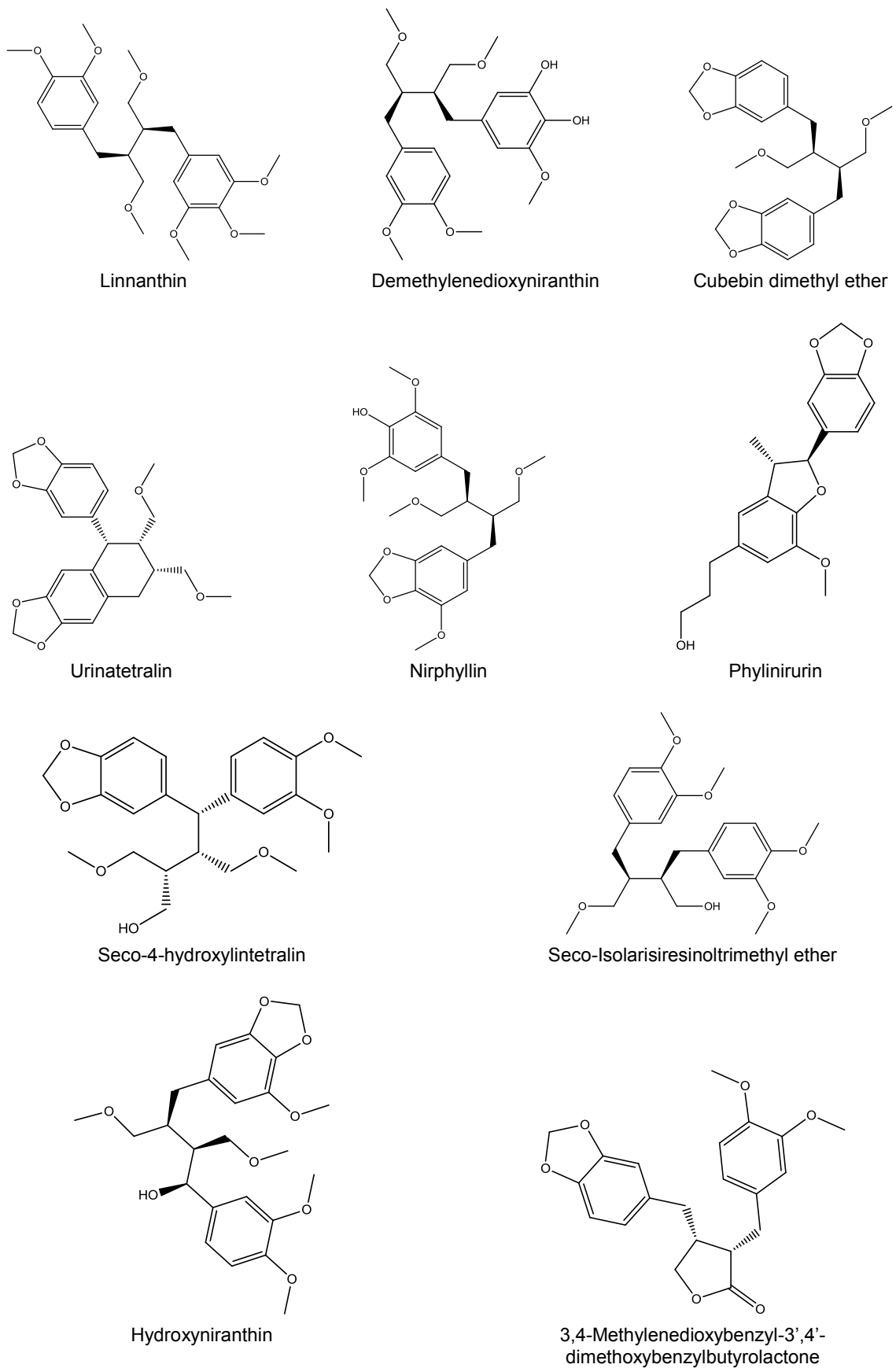
Gambar 2. Struktur senyawa golongan terpenoid dalam *Phyllanthus*



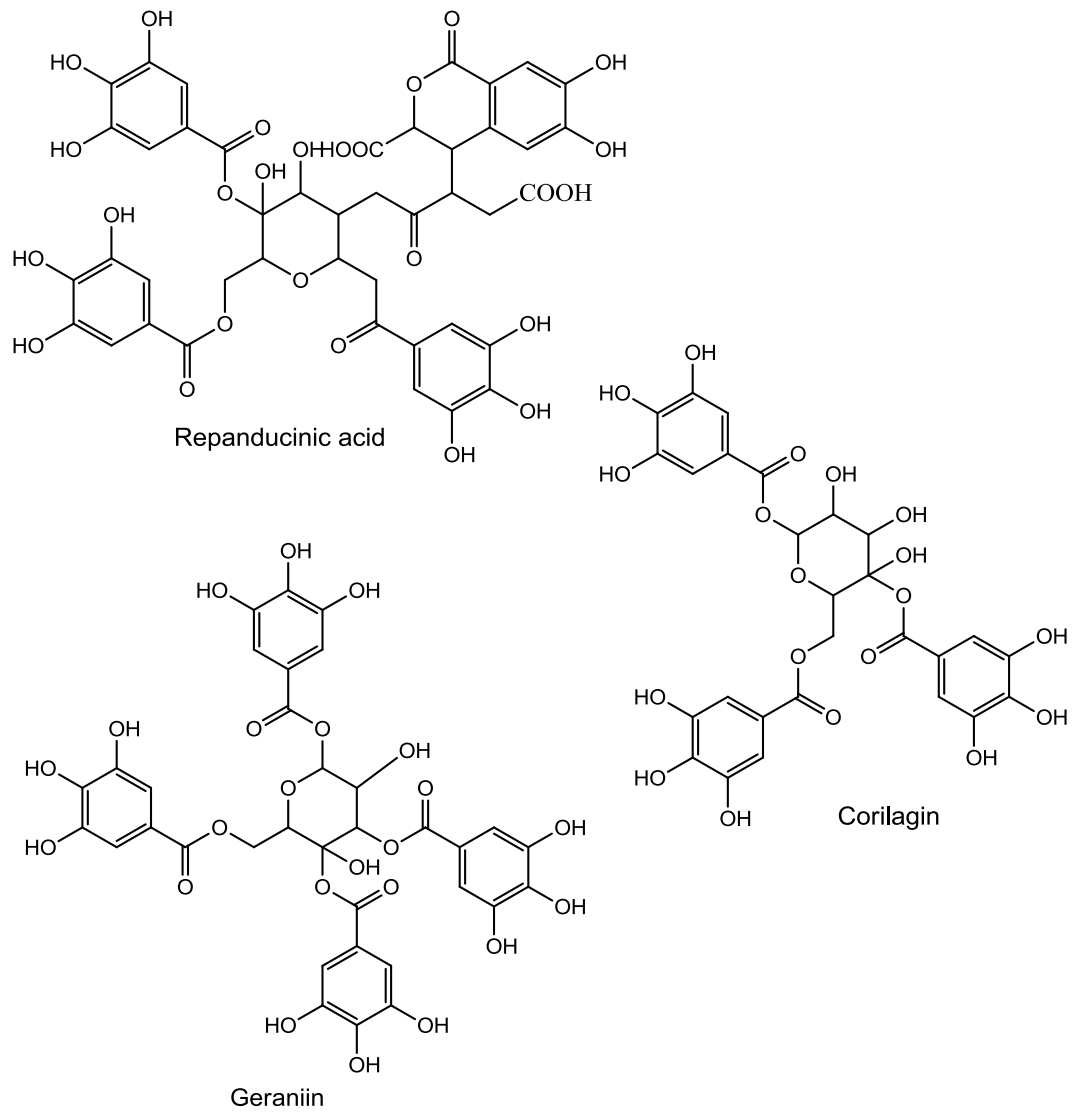
Gambar 3. Struktur senyawa golongan coumarin dalam *Phyllanthus*



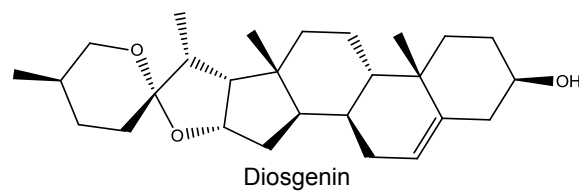
Gambar 4. Struktur senyawa golongan lignan dalam *Phyllanthus*



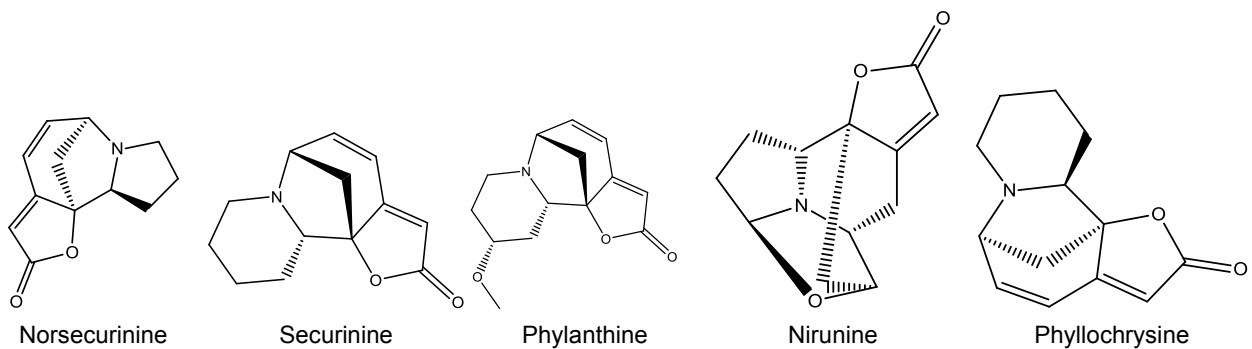
Gambar 5. Struktur senyawa golongan tannin dalam *Phyllanthus* (bersambung ke halaman berikutnya)



Gambar 5. Struktur senyawa golongan tannin dalam *Phyllanthus*



Gambar 6. Struktur senyawa golongan saponin dalam *Phyllanthus*



Gambar 7. Struktur senyawa golongan alkaloid dalam *Phyllanthus*

dapat dijadikan sebagai marka atau sebagai senyawa penuntun untuk dikembangkan lebih lanjut.

BAHAN DAN METODE

Prosesor AMD Athlon™II X3 445 dengan RAM 4 GB dan windows 32-bit sebagai sistem operasi. Struktur senyawa aktif diperoleh dari beberapa publikasi baik nasional maupun internasional. Struktur kristal protein inti VHB yang digunakan sebagai reseptor diperoleh dari Protein Data Bank (PDB) yang diakses melalui URL <http://www.rcsb.org/pdb> dengan kode: 5GMZ. Protein ini dengan resolusi 1,7 Å, yang membentuk kompleks dengan senyawa 4-metil heteroarildihidropirimidin. Metode penambatan molekul dilakukan menggunakan software Molegro Virtual Docker (MVD) 6.0.

Senyawa aktif atau ligan yang telah digambar struktur 2D kemudian dikonversi menjadi 3D dan ditentukan konformasi yang paling stabil. Struktur disimpan dalam format .mol2. Struktur reseptor dimasukkan ke dalam program MVD 6.0 dengan tidak menyertakan molekul air. Selanjutnya dilakukan analisis penambatan untuk melihat energi minimum dan interaksi yang terjadi seperti adanya ikatan hidrogen yang dihasilkan dari kompleks tersebut. Validasi metode dilakukan dengan mengekstrak ligan yang sudah terdapat dalam protein dan dilakukan proses penambatan. Metode penambatan dinyatakan valid apabila diperoleh nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD) kurang dari 2,0 Å (Hevener et al. 2009) Selanjutnya ligan emodin dan turunannya diimpor ke dalam program dan dilakukan pensejajaran (*alignment*) dengan ligan referensi. Simulasi penambatan dilakukan untuk masing-masing senyawa tersebut dengan mengubah menjadi ligan aktif (*set as active ligand*) dan dianalisis hasilnya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tujuan utama simulasi penambatan molekul adalah untuk memahami dan memprediksi cara kerja obat pada tingkat molekul dengan melihat interaksi obat dengan reseptor. Protein inti merupakan target obat yang diteliti dan dikembangkan akhir-akhir ini untuk mencari antivirus hepatitis B baru. Protein inti ini memegang peranan penting pada berbagai tahap siklus hidup virus, yaitu

berinteraksi dengan protein inang dan membentuk kapsid yang cukup stabil untuk melindungi RNA dan DNA virus serta dapat melepaskan DNA virus pada saat yang tepat dalam siklus kehidupan virus. Protein inti VHB terdiri dari 183-185 asam amino yang membentuk domain N-terminal (asam amino 1-149) untuk perakitan kapsid dan domain C-terminal (asam amino 150-185) untuk mengikat asam nukleat.

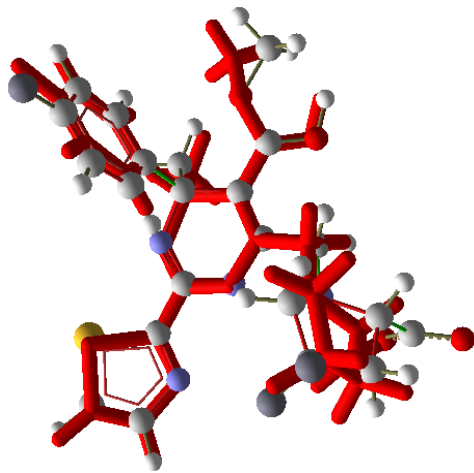
Sebagai model reseptor dalam pemodelan molekul ini dipilih protein inti VHB dengan PDB ID: 5GMZ. Struktur tiga dimensi protein ini dipilih karena memiliki resolusi tinggi yaitu 1,7 Å dan telah tertambat oleh ligan ko-kristal senyawa dari 4-metil heteroarildihidropirimidin di dalamnya. Protein 5GMZ ini terdapat 6 monomer protein dan masing-masing telah tertambat oleh ligan-ligan berikatan pada antarmuka dimer-dimer dari protein inti, membentuk suatu interaksi permukaan protein-protein baru, menginduksi perakitan protein dan meningkatkan stabilitas (Qiu et al. 2016). Dengan demikian posisi dan koordinat ligan ini dapat dijadikan referensi untuk penambatan senyawa lain yang dirancang sebagai kandidat inhibitor baru.

Sebelum simulasi penambatan dilakukan terhadap ligan emodin dan turunannya, dilakukan re-docking ligan referensi ke dalam protein inti VHB. Validasi metode dilakukan dengan mengekstraksi ligan yang ada dalam protein dan dilakukan proses penambatan kembali (*re-docking*). RMSD adalah patokan untuk akurasi dari posisi tambatan (*docking pose*). RMSD antara posisi tambatan yang dihasilkan dan konformasi ligan eksperimental menunjukkan patokan untuk kemampuan algoritma docking untuk memprediksi konformasi protein yang terikat ligan. RMSD relatif mengacu pada langkah penjajaran tambahan molekul-molekul sebelum perhitungan RMSD yang sebenarnya. Mode ini berguna untuk investigasi keakuratan model generator konformasi. Nilai RMSD yang baik jika bernilai kurang dari 2,0 Å (Vyas et al. 2008).

Penambatan molekul kembali ligan referensi pada daerah antarmuka rantai B dan C sebagai tempat penambatan untuk skrining selanjutnya terhadap senyawa aktif dalam *Phyllanthus*. Daerah penambatan dilakukan pada koordinat $x=-25,15$; $y=-8,83$; dan $z=-6,76$ dalam radius/dimensi: 15 Å yang memberikan nilai RMSD rata-rata dari 3 kali pengulangan sebesar 0,7 Å dengan rerank skor -140,87.

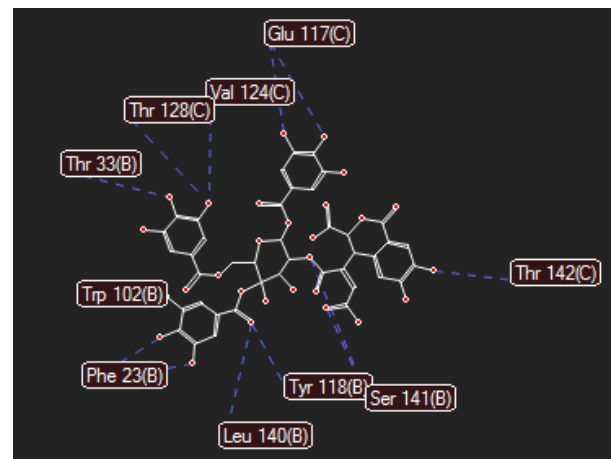
Tabel 1. Hasil simulasi penambatan senyawa aktif *Phyllanthus* ke dalam reseptor protein inti VHB (PDB ID: 5GMZ)

No	Senyawa	Skor reranking	Energi ikatan Hidrogen
1	Repandusinic acid	-156	-19,7
2	Corilagin	-138	-15,0
3	Rutin	-133	-14,3
4	1-O-galloyl-6-O-luteoyl-alpha-D-glucoside	-124	-16,9
5	Nirurin	-124	-7,3
6	Phyltetralin	-116	0
7	Nirphyllin	-115	-2,3
8	Cubebin dimethyl ether	-115	-0,03
9	2,3-Desmethoxy seco-isolintetralin	-114	-6,5
10	Astragaln	-113	-12,6
11	Quercitrin	-112	-10,8
12	Beta-Glucogallin	-111,5	-13,6
13	Demethylenedioxyrinantin	-108,5	-5,7
14	Urinatetralin	-107	0
15	Isolintetralin	-106	0
16	Quersetin 3-O-Beta-D-glucoopyranosil-(2-1)-O-Beta-D-xylopyranocide	-105	-11,7
17	Seco-isolariciresinol trimethyl ether	-104	-2,5
18	Gallocatekin	-102	-10,4
19	2,3- Desmetoxy seco-isolintetralin diacetate	-102	-3,5
20	Linnantiin	-102	-2,0
21	Seco-4-hydroxylintetralin	-100	-3,3
22	Lintetralin	-100	-0,15
23	Hidroxyiniranthin	-98	-2,4
24	Methyl brevifolincarboxylate	-97	-8,7
25	Quersetol	-96	-0,9
26	3,4-Methylenedioxybenzil-3'-4'-dimetoxiybenzilbutirolacton	-94	-3,9
27	Hipophylantine	-94	-1,4
28	Phylantin	-94	0
29	Hexahydroxyldiphenoyl	-92	-13,4
30	Quersetin	-92	-4,2
31	Phylnirurin	-89	-4,96
32	Niruriflavone	-87	-4,7
33	Elagic acid	-87	-2,6
34	Niranthin	-87	-1,5
35	Ellagitannin	-85	-14,7
36	Diosgenin	-83	-2,6
37	Lupeol	-78	-2,5
38	Nirtetralin	-75	-1,8
39	Gallic acid	-73	-11,6
40	Sekurinin	-72	-2,5
41	Phylocricin	-70	-21,2
42	Norsekurinin	-68	-2,5
43	Nirunine	-61	0
44	Geraniin	-60	-13,7
45	Limonen	-51	0
46	p-cymen	-49	0
47	Niruricide	-27	-9,0



Gambar 8. Posisi ligan referensi sebelum dan setelah ditambatkan kembali (re-docking). Molekul dalam model *ball and stick* merupakan posisi awal sedangkan bentuk *stick* setelah dilakukan *re-docking* dengan RMSD 0,7 Å

Berdasarkan hasil simulasi penambatan molekul, dapat diprediksi bahwa beberapa senyawa aktif dari tanaman *Phyllanthus* memiliki ikatan yang stabil (energi afinitas ikatan atau skor *reranking* bernilai negatif) dengan protein inti VHB. Hal ini merupakan indikasi bahwa senyawa tersebut memiliki aktivitas dalam mengintervensi struktur protein inti VHB. Semakin negatif nilai skor *reranking* identik dengan energi ikatan yang semakin stabil. Oleh karenanya, senyawa ini akan mengganggu atau menghambat replikasi VHB dan berakibat terganggunya pembentukan kapsid yang dirakit oleh protein inti (HBc) yang berikatan pada daerah antarmuka dimer-dimer protein, sehingga kapsid berbentuk tidak seragam lagi. Senyawa asam repandusinat dari golongan tannin mempunyai nilai atau skor yang tertinggi dibandingkan dengan senyawa lain dalam *Phyllanthus*, bahkan melebihi nilai atau skor dari senyawa 4-metil heteroarildihidropirimidin yang merupakan inhibitor protein inti telah teruji memiliki aktivitas penghambat pembentukan kapsid VHB. Interaksi senyawa ini dengan protein inti VHB dimungkinkan dengan banyaknya gugus fenol yang membentuk ikatan hidrogen dengan residu asam amino pada protein inti baik dengan rantai B maupun rantai C. Adanya ikatan dan interaksi ini akan membuat terganggunya pembentukan dimer protein inti yang akan berakibat



Gambar 9. Interaksi asam repandusinat dengan residu asam amino dari protein inti VHB. Garis biru putus-putus menunjukkan ikatan hidrogen.

terhambatnya pembentukan kapsid virus yang seragam sehingga akan menghambat replikasi virus.

Gambar 9 menunjukkan interaksi yang berupa ikatan hidrogen yang terjadi antara senyawa asam repandusinat dengan residu asam amino dari reseptor. Gugus fenol dari asam repandusinat berinteraksi dengan rantai B residu asam amino Thr 33, Trp 102 dan Phe 23. Sedangkan dengan rantai C membentuk ikatan hidrogen dengan asam amino Thr 128, Val 124 dan Glu 117. Selain itu atom oksigen dari gugus karbonil pada senyawa ini berinteraksi membentuk ikatan hidrogen dengan Leu 140 Tyr 118 dan Ser 141 dari rantai B protein inti VHB.

Senyawa asam repandusinat ini diketahui merupakan senyawa yang berpotensi menghambat enzim *reverse transcriptase* HIV-1 dan juga replikasi VHB (Lewis dan Elvin-Lewis 2003; Sarin et al. 2014). Namun belum ada penjelasan lebih lanjut mengenai mekanisme penghambatan senyawa ini terhadap VHB. Dengan demikian penelitian ini dapat memprediksi mekanisme penghambatannya secara *in silico* melalui interaksinya dengan protein inti virus.

Namun sayangnya, senyawa ini memiliki berat molekul yang besar yaitu 972 Dalton sehingga tidak memungkinkan untuk dijadikan kandidat obat oral, yang biasanya di bawah 500 Dalton sesuai dengan aturan Lipinski (Lipinski 2004). Akan tetapi tidak menutup kemungkinan senyawa ini dikembangkan menjadi marka bagi ekstrak tanaman dalam genus *Phyllanthus* untuk

aktivitas anti VHB. Untuk senyawa lain dalam *Phyllanthus* berpotensi pula untuk dikembangkan sebagai kandidat obat hepatitis B dengan melakukan modifikasi struktur.

KESIMPULAN

Tanaman dalam genus *Phyllanthus* mempunyai aktivitas sebagai anti VHB. Berdasarkan hasil simulasi penambatan molekul, diprediksi senyawa asam repandusinat mempunyai aktivitas menghambat replikasi virus melalui penghambatan pembentukan kapsid yang dibentuk dimer-dimer protein inti VHB. Walaupun tidak memungkinkan untuk dijadikan kandidat obat oral, senyawa asam repandusinat bisa dikembangkan menjadi marka bagi ekstrak tanaman dalam genus *Phyllanthus* untuk aktivitas anti VHB.

UCAPAN TERIMA KASIH

Tulisan ini merupakan hasil kegiatan yang didanai oleh Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi melalui Program Insentif Sistem Inovasi Nasional (Insinas) tahun 2017.

DAFTAR PUSTAKA

- Bourne C, Lee S, Venkataiah B, Lee A, Korba B, Finn MG, Zlotnick A (2008) Small-molecule effectors of hepatitis B virus capsid assembly give insight into virus life cycle. *J Virol* 82:10262-10270. doi: 10.1128/JVI.01360-08
- Campagna MR, Liu F, Mao R, Mills C, Cai D, Guo F, Zhao X, Ye H, Cuconati A, Guo H, Chang J, Xu X, Block TM, Guo JT (2013) Sulfamoylbenzamide derivatives inhibit the assembly of hepatitis B virus nucleocapsids. *J Virol* 87:6931-6942. doi: 10.1128/JVI.00582-13
- Hevener KE, Zhao W, Ball DM, Babaoglu K, Qi J, White SW, Lee RE (2009) Validation of molecular docking programs for virtual screening against dihydropteroate synthase. *J Chem Inf Model* 49:444-460. doi: 10.1021/ci800293n
- Kemenkes (2014) InfoDATIN: Situasi dan analisis hepatitis. Pekan peduli hepatitis B, 4-12 September. Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI, Jakarta
- Klump K, Lam AM, Lukacs C, Vogel R, Ren S, Espiritu C, Baydo R, Atkins K, Abendroth J, Liao G, Efimov A, Hartman G, Flores OA (2015) High-resolution crystal structure of a hepatitis B virus replication inhibitor bound to the viral core protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 112:15196-15201. doi: 10.1073/pnas.1513803112
- Lewis WH, Elvin-Lewis MPF (2003) *Medical Botany: Plants Affecting Human Health*. Second Edition. John Wiley & Sons Inc, New Jersey
- Lipinski CA (2004) Lead- and drug-like compounds: the rule-of-five revolution. *Drug Discov Today Technol* 1:337-341. doi: 10.1016/j.ddtec.2004.11.007
- Liu S, Wei W, Li Y, Lin X, Shi K, Cao X, Zhou M (2014) *In vitro* and *in vivo* anti-hepatitis B virus activities of the lignan nirtetralin B isolated from *Phyllanthus niruri* L. *J Ethnopharmacol* 157:62-68. doi: 10.1016/j.jep.2014.09.019
- Mao X, Wu LF, Guo HL, Chen WJ, Cui YP, Qi Q, Liang WY, Yang GH, Shao YY, Zhu D, She GM, You Y, Zhang LZ (2016) The genus *Phyllanthus*: An ethnopharmacological, phytochemical, and pharmacological review. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2016:7584952. doi: 10.1155/2016/7584952
- Naghavi M, Wang H, Lozano R & 700 others (2015) Global, regional, and national age-sex specific all-cause and cause-specific mortality for 240 causes of death, 1990-2013: a systematic analysis for the global burden of disease study 2013. *Lancet*, 385:117-171. doi: 10.1016/S0140-6736(14)61682-2
- Qiu Z, Lin X, Zhou M, Liu Y, Zhu W, Chen W, Zhang W, Guo L, Liu H, Wu G, Huang M, Jiang M, Xu Z, Zhou Z, Qin N, Ren S, Qiu H, Zhong S, Zhang Y, Zhang Y, Wu X, Shi L, Shen F, Mao Y, Zhou X, Yang W, Wu JZ, Yang G, Mayweg AV, Shen HC, Tang G (2016) Design and synthesis of orally bioavailable 4-methyl heteroaryldihydropyrimidine based hepatitis B virus (HBV) capsid inhibitors. *J Med Chem* 59:7651-7666.

- doi: 10.1021/acs.jmedchem.6b00879
- Sarin B, Verma N, Martin JP, Mohanty A (2014) An overview of important ethnomedicinal herbs of *Phyllanthus* species: Present status and future prospects. *Sci World J* 2014:839172. doi: 10.1155/2014/839172
- Venkatakrisnan B, Katen SP, Francis S, Chirapu S, Finn MG, Zlotnick A (2016) Hepatitis B virus capsids have diverse structural responses to small-molecule ligands bound to the heteroaryldihydropyrimidine pocket. *J Virol* 90:3994-4004. doi: 10.1128/JVI.03058-15
- Venkateswaran PS, Millman I, Blumberg BS (1987) Effects of an extract from *Phyllanthus niruri* on hepatitis B and woodchuck hepatitis viruses: In vitro and in vivo studies. *Proc Natl Acad Sci USA* 84:274-278. doi: 10.1073/pnas.84.1.274
- Vyas V, Jain A, Jain A, Gupta A (2008) Virtual screening: A fast tools for drug design. *Sci Pharm* 76:333-360. doi: 10.3797/scipharm.0803-03
- Wang M, Cheng H, Li Y, Meng L, Zhao G, Mai K (1995) Herbs of the genus *Phyllanthus* in the treatment of chronic hepatitis B: observations with three preparations from different geographic sites. *J Lab Clin Med* 126:350-352.
- Wei W, Li X, Wang K, Zheng Z, Zhou M (2012) Lignans with anti-hepatitis B virus activities from *Phyllanthus niruri* L. *Phytother Res* 26:964-968. doi: 10.1002/ptr.3663
- Xia Y, Luo H, Liu JP, Gluud C (2013) *Phyllanthus* species versus antiviral duga for chronic hepatitis B virus Inspection. *Cochrane Database Syst Rev* 4:CD009004. doi: 10.1002/14651858.CD009004.pub2
- Yano Y, Utsumi T, Lusida MI, Hayashi Y (2015) Hepatitis B virus infection in Indonesia. *World J Gastroenterol* 21:10714-10720. doi: 10.3748/wjg.v21.i38.10714
- Zlotnick A, Venkatakrisnan B, Tan Z, Lewellyn E, Turner W, Francis S (2015) Core protein: A pleiotropic keystone in the HBV lifecycle. *Antiviral Res* 121:82-93. doi: 10.1016/j.antiviral.2015.06.020