

## Pemetaan Bioaktivitas Senyawa Metabolit Sekunder Pada Kayu Secang (*Caesalpinia sappan*) Secara *In Silico*

Dewi Ratih Tirto Sari<sup>1,2\*</sup>, Gabriella Chandrakirana Krisnamurti<sup>3</sup>, Yohanes Bare<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Ibrahimy, Situbondo, Jawa Timur, Indonesia

<sup>2</sup>Pusat Studi SMONAGENES, Universitas Brawijaya, Malang, Jawa Timur, Indonesia

<sup>3</sup>Biotechnology Program, School of Bioresources and Technology, King Mongkut's University of Technology Thonburi, 10150 Bang Khun Thian, Bangkok, Thailand,

<sup>4</sup>Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Nusa Nipa, Nusa Tenggara Timur, Indonesia.

\*E-mail: ([dratih303@gmail.com](mailto:dratih303@gmail.com))

### ABSTRAK

Kayu secang (*Caesalpinia sappan* L) merupakan salah satu tanaman yang tumbuh di Indonesia dan digunakan untuk berbagai keperluan baik dalam bidang tekstil dan kesehatan. Kayu secang mengandung senyawa bioaktif golongan homoisoflavonoid yang memberikan warna merah. pigmen alami ini banyak digunakan untuk pewarna alami tekstil dan juga dimanfaatkan sebagai obat tradisional. Penelitian ini bertujuan untuk memetakan fungsi biologis senyawa bioaktif yang terkandung di dalam ekstrak kayu secang. Senyawa bioaktif didapatkan dari kajian Pustaka penelitian sebelumnya dan dari database. Struktur masing-masing senyawa diprediksi aktivitas biologinya melalui program online PASS *Two Way Drug* dan ditampilkan dalam bentuk *heatmap*. Berdasarkan prediksi bioaktivitas senyawa berdasarkan struktur senyawa didapatkan masing-masing senyawa memiliki pola yang unik. Senyawa Quercetin-3,7-Di-O-Methyl Ether 3'-O-Methylbrazilin, 2'-Methoxyisoliquiritigenin, Isoliquiritigenin 2'-Methy Ether dan Quercetin-3',4'-Di-O-Methyl Ether menunjukkan aktivitas antioksidan dengan penangkapan radikal nitric oksida, antimikobakteri, antibakteri, antiinflamasi, pereda nyeri dengan penghambatan lipoxigenase, dan antagonis neurotransmitter. Selain itu senyawa Quercetin-3',4'-Di-O-Methyl Ether (17) juga menunjukkan aktivitas antivirus yang tinggi dibandingkan dengan senyawa lainnya. Sedangkan 2'-Methoxyisoliquiritigenin (20) dan Isoliquiritigenin 2'-Methy Ether (27) menunjukkan aktivitas neuroprotektif yang lebih tinggi dari senyawa lainnya. Penelitian lanjutan berupa *molecular docking* dan *molecular dynamic* perlu dilakukan untuk selanjutnya.

**Kata kunci:** *Caesalpinia sappan*, in silico, kayu secang, metabolit sekunder, pemetaan bioaktivitas.

## Virtual Mapping of secondary metabolite activities containing in *Caesalpinia sappan* L. heartwood through in silico study

### ABSTRACT

*Caesalpinia sappan* L heartwood is a leguminosae plant that grow in Indonesia landscape, uses as traditional herbal medicine and natural textile dye. *Caesalpinia sappan* heartwood also contains homoisoflavonoids as natural pigment and bioactive compound, promotes several human health benefits. This study provide biological function prediction and mapping through in silico approach. The compounds from *Caesalpinia sappan* were listed and downloaded from Knapsack webserver. PubChem NCBI was used to retrieve the canonical smiles of *Caesalpinia sappan* compounds. Biological activity of *Caesalpinia* were predicted by Online PASS Two Way drug website and performed in heatmap. Structure activity relationship (SAR) of quercetin-3,7-Di-O-Methyl Ether 3'-O-Methylbrazilin, 2'-Methoxyisoliquiritigenin, Isoliquiritigenin 2'-Methy Ether and Quercetin-3',4'-Di-O-Methyl Ether revealed antioxidant, nitric oxide scavenger, antimycobacterial, antibacterial, antiinflammation, and act as lipoxigenase inhibitor agent. Furthermore, Quercetin-3',4'-Di-O-Methyl Ether (17) proved higher antivirus activity than other compounds. 2'-Methoxyisoliquiritigenin (20) and Isoliquiritigenin 2'-Methy Ether (27) performed higher neuroprotective effect than others. Molecular docking and dynamis are required for further investigation.

**Keywords:** biological activity, bioactivity mapping, *Caesalpinia sappan* heartwood, in silico..

## 1. PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu negara dengan kekayaan megabiodiversitas flora tertinggi kedua setelah Brazil. Salah satu tanaman yang banyak ditemukan di Indonesia yaitu secang (*Caesalpinia sappan*). Kayu secang dimanfaatkan bagian dalam kayu atau disebut *heartwood* untuk pewarna alami pada tekstil, makanan, rempah masakan dan obat tradisional [1–8]. Pigmen alami pada kayu secang telah dilaporkan mengandung senyawa brazilin dan hematoxylin yang dimanfaatkan untuk pembuatan batik. Di daerah Indonesia timur, ekstrak kayu secang dipekatkan dan digunakan untuk pewarna kain tenun tradisional [7, 8]. Di bidang medis, juga tidak kalah penting. Kajian etnobotani pada masyarakat di Indonesia, kayu secang banyak digunakan untuk komposisi jamu tradisional. Manfaat kayu secang yaitu untuk demam, mencegah dan mengobati flu dan batuk, dan lainnya [2, 7].

Ekstrak kayu secang telah dilaporkan memiliki berbagai macam aktivitas biologi seperti aktivitas antioksidan, antibakteri, dan antiinflamasi [2–5, 7, 9–11]. Aktivitas tersebut disebabkan oleh kandungan senyawa metabolit sekunder pada kayu secang. Kayu secang secara umum terdeteksi beberapa senyawa seperti alkaloid, flavonoid, fenolik, homoisoflavonid, triterpenoid, dan tannin [10, 12–15]. Pemetaan bioaktivitas senyawa bioaktif kayu secang belum banyak informasi. Penelitian ini bertujuan untuk memetakan fungsi biologis senyawa bioaktif yang terkandung di dalam ekstrak kayu secang.

## 2. METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan pendekatan bioinformatika dengan data sekunder yang diunduh dari pangkalan data di *National center for biotechnology information (NCBI)*. Informasi kandungan senyawa pada kayu secang (*Caesalpinia sappan*) diperoleh dari kajian literatur dan database knapsack (<http://www.knapsackfamily.com/>) [16]. *Canonical smile* dari masing-masing senyawa didapatkan dari database PubChem NCBI (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) untuk prediksi bioaktivitas masing-masing senyawa. Bioaktivitas senyawa diprediksi menggunakan program PASS-two way drug (<http://www.way2drug.com/>) dan dianalisis dengan Origin Pro 2021 untuk tampilan pemetaan atau *heatmap*.

## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 3.1 Senyawa yang terkandung di dalam kayu secang (*Caesalpinia sappan*)

Jumlah senyawa yang teridentifikasi dalam ekstrak kayu secang yaitu 29 senyawa yang disajikan dalam Tabel 1.

**Tabel 1. Senyawa yang teridentifikasi dalam kayu secang (*Caesalpinia sappan*)**

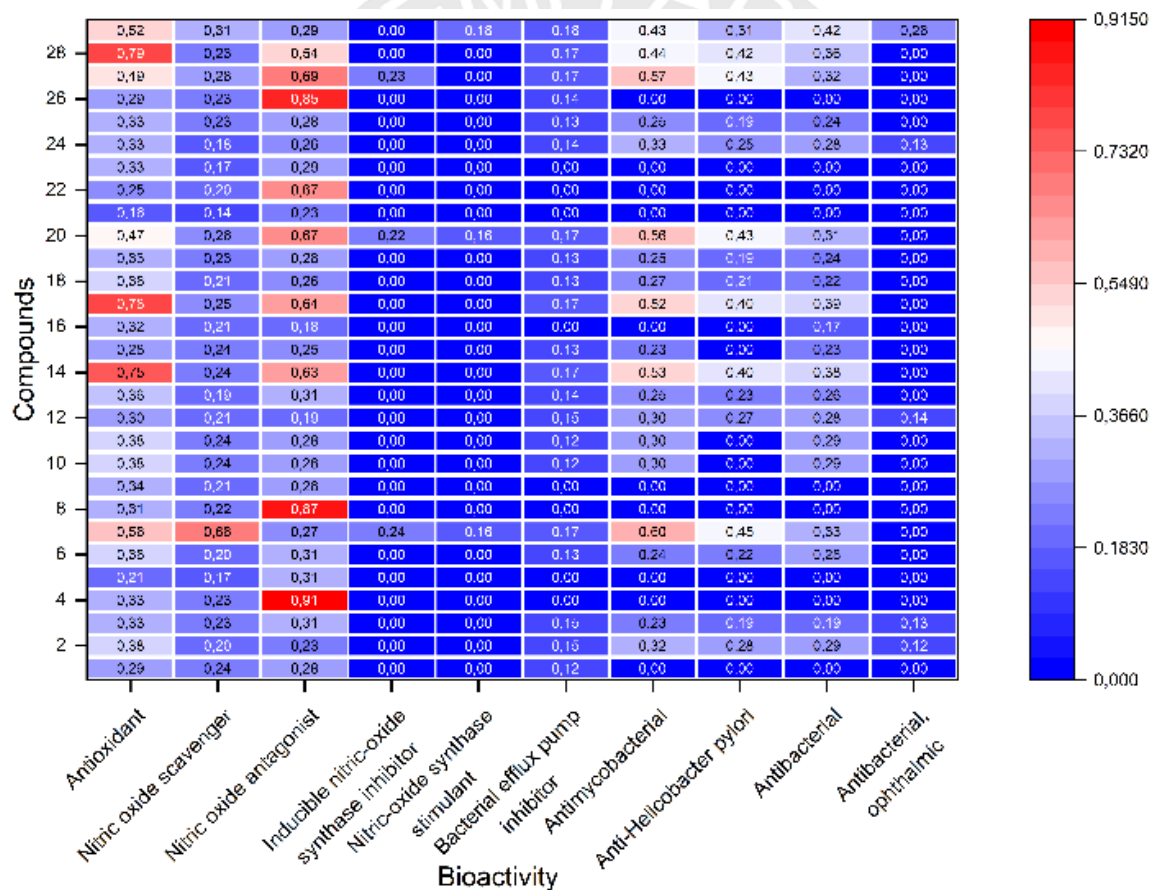
No	Senyawa	Referensi	CID
1	Brazilin	[6, 12, 18]	73384
2	Sappanone A	[6, 12, 18]	9817274
3	Protosappanin	[6, 9, 12, 18]	128001
4	Hematoksilin	[6, 12]	442514
5	Caesalpin J	[9, 18]	139600686
6	Sappanone B	[9, 18]	13888976
7	Sappanchalcone	[9]	5319493
8	Caesalpiniaaphenol E	[17]	71450718
9	Caesalpiniaaphenol F	[17]	14522836
10	Episappanol	[18]	13846650
11	Sappanol	[18]	13846649
12	3'-Deoxysappanone A	[19]	44443280
13	Caesalpiniaaphenol A	[19]	71454364
14	Quercetin-3,7-Di-O-Methyl Ether	[19]	5280417
15	3'-Deoxy-4-O-Methylepisappanol 10,11-	[19]	71463283
16	Dihydroxydracaenone C	[19]	71450773
17	Quercetin-3',4'-Di-O-Methyl Ether	[19]	5380905
18	3-Deoxysappanone B	[16]	15703606
19	4-O-Methyl Episappanol 2'-	[16]	13888974
20	Methoxyisoliquiritigenin	[16]	13842401
21	Phanginin K	[16]	24854301
22	Neosappanone A	[16]	101353537
23	Protosappanin E-2	[16]	14608471
24	8-Methoxybonducellin	[16]	73299135
25	4-O-Methylsappanol	[16]	13888973
26	3'-O-Methylbrazilin	[16]	13846641
27	Isoliquiritigenin 2'-Methy Ether	[16]	5319688
28	Ombuin	[16]	5320287
29	Gallic Acid	[16]	370

Senyawa tersebut termasuk dalam kelompok senyawa flavonoid, fenolik, dan alkaloid. Kayu secang memiliki fenotip dan ekstrak dengan warna merah – oranye. Pigmen kayu secang ini disebabkan oleh kandungan homoisoflavonoid berupa senyawa brazilin, sappanon A, protosappanin dan hematoxylin [6, 12]. Selain itu, pigmen kayu secang juga teridentifikasi mengandung senyawa turunan sappanin yang larut di dalam pelarut ethanol 70%. Senyawa bioaktif tersebut antarlain protosappanin A, protosappanin C, protosappanin B, (3R,4S)-3-(3,4-hydroxybenzyl)-3,4-dihydro-2''',3'''-dimethyl-3H-[1,3]dioxolo[4,5-c]chromen-7-ol, caesalpin J, sappanone B, dan sappanchalcone [9]. Min et al mengidentifikasi dua senyawa fenolik, derivatif sappanin, yaitu caesalpinaphenol E dan caesalpinaphenol F [17]. Mueller et al., (2016)

juga melaporkan lima senyawa turunan sappanin yang teridentifikasi dalam ekstrak kayu secang yakni episappanol, protosappanin C, brazilin, isoprotosappanin B dan sappanol [18]. Beberapa senyawa lainnya yaitu caesalpinaphenol A – D, quercetin-3,7-di-O-methyl ether, 3-deoxysappanone B, sappanone A, 3'-deoxy-4-O-methylepisappanol, 10,11-dihydroxydracaenone C, quercetin-3',4'-di-O-methyl ether, 3'-deoxysappanone B, dan 3'-deoxysappanone A juga terdeteksi di dalam ekstrak kayu secang [19].

### 3.2 Aktivitas Antioksidan dan antimikroba senyawa *Caesalpinia sappan*

Profil aktivitas antioksidan dan antimikroba senyawa *Caesalpinia sappan* tertera pada Gambar 1.



Gambar 1. Pemetaan aktivitas antioksidan dan antimikroba senyawa *Caesalpinia sappan*

Aktivitas antibakteri 29 senyawa kayu secang secara umum rendah, yaitu dibawah 60%. Parameter antimikroba yang digunakan antarlain *Bacterial efflux pump inhibitor*, *Antimycobacterial*, *Anti-Helicobacter pylori*, *Antibacterial*, dan *Antibacterial ophthalmic* (Gambar 1). Senyawa

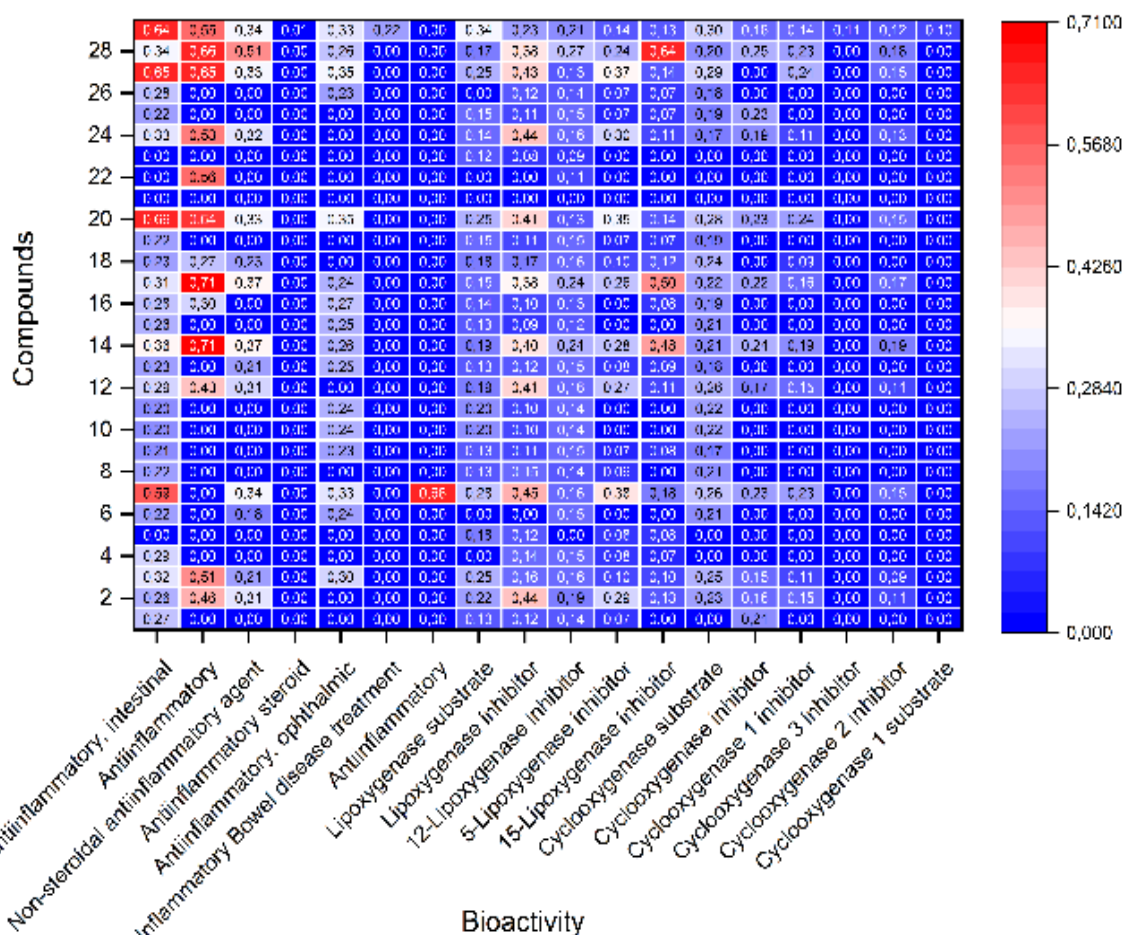
7,14, 17, 20, 27,28, 29 menunjukkan aktivitas antimycobacterial yang lebih tinggi dari lainnya. senyawa yang memiliki aktivitas *Anti-Helicobacter pylori* yaitu senyawa 7, 14, 17, 20, 26 dan 27. Sedangkan aktivitas antibacterial yang tinggi lebih yaitu 2, 6, 7, 11, 12, 13, 14, 15, 17, 18, 19, 20, 24,

25, 27, 28, dan 29.

### 3.3 Aktivitas antiinflamasi senyawa *Caesalpinia sappan*

Untuk menguji aktivitas antiinflamasi pada 29 senyawa, 18 parameter antiinflamasi digunakan untuk uji. Parameter tersebut antara lain *Antiinflammatory intestinal*, *Antiinflammatory*, *Non-steroidal antiinflammatory agent*, *Antiinflammatory steroid*, *Antiinflammatory ophthalmic*, *Inflammatory Bowel disease treatment*, *Antiinflammatory*, *Lipoxygenase substrate*, *Lipoxygenase inhibitor*, *12-Lipoxygenase inhibitor*, *5-Lipoxygenase inhibitor*, *15-Lipoxygenase inhibitor*, *Cyclooxygenase substrate*,

*Cyclooxygenase inhibitor*, *Cyclooxygenase 1 inhibitor*, *Cyclooxygenase 3 inhibitor*, *Cyclooxygenase 2 inhibitor*, dan *Cyclooxygenase 1 substrate*. Berdasarkan *Antiinflammatory intestinal*, *Antiinflammatory*, *Non-steroidal antiinflammatory agent*, *Antiinflammatory ophthalmic*, dan *Lipoxygenase inhibitor*, semua senyawa kayu secang menunjukkan aktivitas antiinflamasi (Gambar 2). Senyawa 7, 20, 24, 27, 28, dan 29 memiliki aktivitas *anti-inflammatory intestinal* yang lebih tinggi dari senyawa lainnya. Senyawa 2, 3, 14, 17, 20, 22, 24, 27, 28, dan 29 menunjukkan antiinflamasi yang tinggi secara umum. Senyawa 14, 17, 28 menunjukkan potensi sebagai agen inhibitor 15 – lipoxygenase.



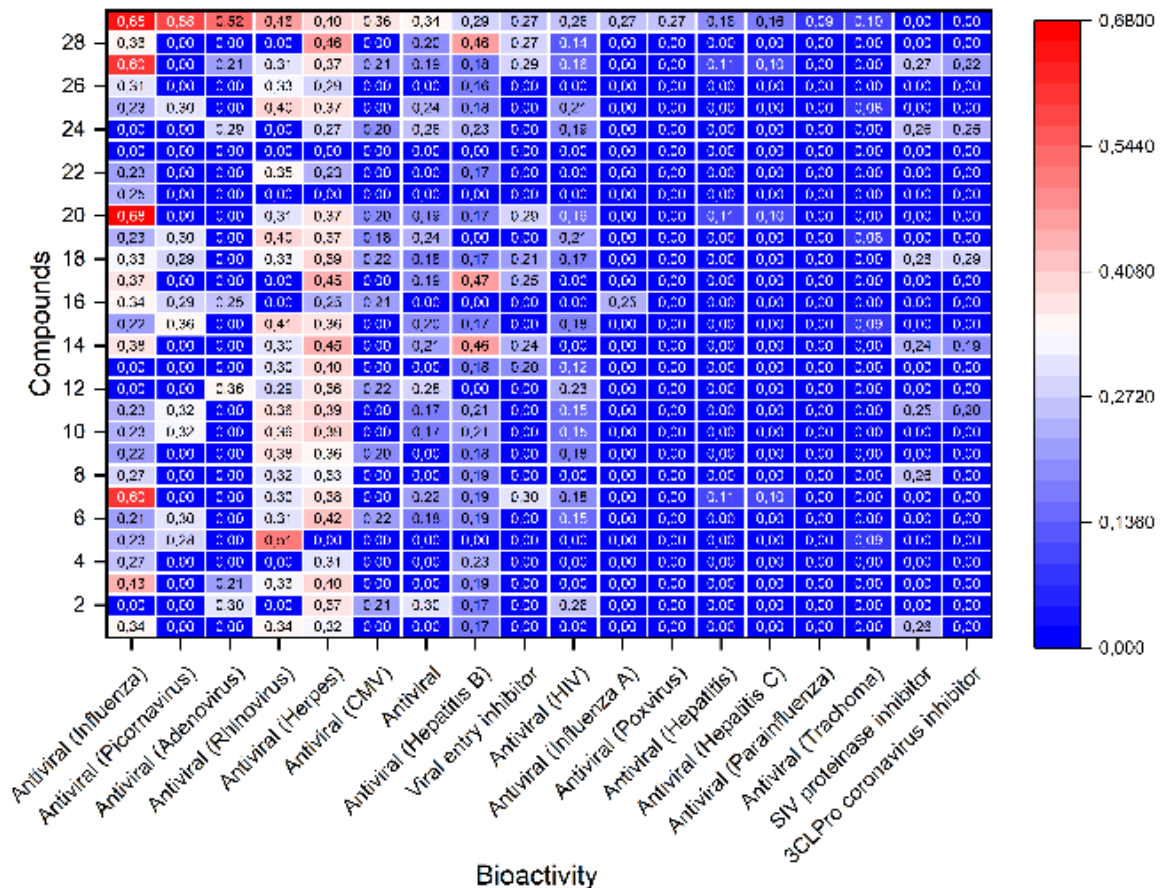
Gambar 2. Pemetaan aktivitas antiinflamasi senyawa *Caesalpinia sappan*

### 3.4 Aktivitas anti-virus senyawa *Caesalpinia sappan*

Senyawa 29 menunjukkan aktivitas antivirus yang relatif lebih tinggi dari senyawa lainnya (Gambar 3). Kandungan senyawa pigmen kayu secang memiliki efektivitas antivirus influenza

yang cukup tinggi. selain itu secara umum aktivitas antivirus terhadap virus *Rhinovirus* dan herpes menunjukkan aktivitas yang tinggi. menariknya beberapa senyawa kayu secang seperti 12, 14, 18, 24, dan 27 menunjukkan aktivitas antivirus dengan target protein 3C like-protease coronavirus.



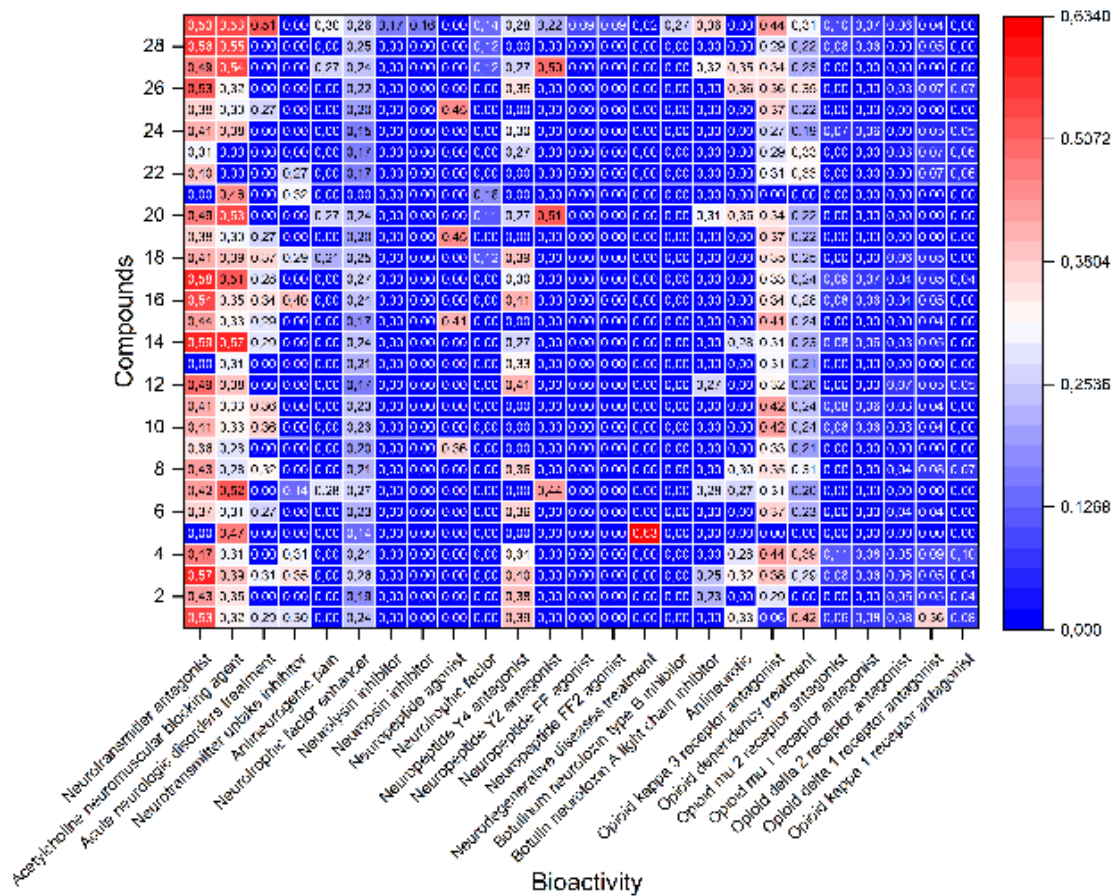


Gambar 3. Pemetaan aktivitas antiinflamasi senyawa *Caesalpinia sappan*

### 3.5 Aktivitas neuroprotektif senyawa *Caesalpinia sappan*

Semua senyawa yang teridentifikasi dalam ekstrak kayu secang menunjukkan aktivitas neuroprotektif dan penghambat opioid (Gambar 4). Aktivitas neuroprotektif ini dapat berperan untuk mencegah Alzheimer, dementia, dan penyakit neuron lainnya. aktivitas penambatan opioid reseptor oleh senyawa yang terkandung dalam kayu secang dapat digunakan sebagai bahan terapi ketergantungan terhadap opium. Sepuluh dari 25 parameter neuroprotektif dan agen penambat reseptor opioid, yaitu *Neurotransmitter antagonist*, *Acetylcholine neuromuscular blocking agent*, *Neurotrophic factor enhancer*, *Opioid kappa 3 receptor antagonist*, *Opioid dependency treatment*, *Opioid mu 2 receptor antagonist*, *Opioid delta 2 receptor antagonist*, *Opioid delta 1 receptor antagonist*, dan *Opioid kappa 1 receptor antagonist* menunjukkan aktivitas neuron yang didominasi oleh semua senyawa.

Senyawa 1, 3, 12, 14, 16, 17, 20, 26, 27, 28, dan 29 memiliki aktivitas neurotransmitter antagonis yang tinggi. Aktivitas *acetylcholine neurotransmitter blocking agent* yang tinggi ditunjukkan oleh senyawa 5, 7, 14, 17, 20, 27, 28, dan 29. Senyawa 29 menunjukkan potensi *acute neurologic disorder treatment* yang tinggi. Senyawa 7, 20, dan 27 menunjukkan potensi agonis *neuropeptide Y4*. Senyawa 5 juga menunjukkan potensi *Neurodegenerative diseases treatment* yang paling tinggi dibandingkan lainnya. Target senyawa kayu secang sebagai inhibitor reseptor *opioid didominasi oleh reseptor opioid kappa 3* dan *Opioid dependency treatment*. Berdasarkan aktivitas neuroprotektif, senyawa 20 dan 27 menunjukkan potensi yang lebih tinggi dari senyawa lainnya.



Gambar 4. Pemetaan aktivitas neuroproteksi senyawa *Caesalpinia sappan*

Prediksi aktivitas biologi yang didasarkan struktur disebut sebagai *structure-activity relationships* (SAR). Melalui struktur, karakter fisikokimia dan aktivitas biologi suatu senyawa dapat diprediksi [11, 13, 20, 21]. Prediksi bioaktivitas berdasarkan struktur senyawa lebih efisien dalam pendekatan *in silico*. Prediksi ini dapat meminimalisir kegagalan dalam penelitian, utamanya penelitian *in vitro* dan *in vivo*. Selain itu, skrining awal juga bertujuan untuk menentukan senyawa yang paling berpotensi di dalam suatu bahan. Penemuan dalam penelitian ini yaitu terdapat beberapa senyawa dengan pola dan bioaktivitas masing-masing. Senyawa Quercetin-3,7-Di-O-Methyl Ether (14) dan Quercetin-3',4'-Di-O-Methyl Ether (17) memiliki aktivitas Antioksidan, *antagonis nitric oxide*, *antimycobacterial*, *Anti-Helicobacter pylori*, *antibacterial*, *antiinflamasi*, *inhibitor 15-lipoxygenase*, *neurotransmitter antagonis*. Senyawa Quercetin-3',4'-Di-O-Methyl Ether (17) juga menunjukkan aktivitas antivirus yang tinggi dibandingkan dengan senyawa lainnya.

Senyawa 3'-O-Methylbrazilin (26) menunjukkan bioaktivitas sebagai antioksidan, antagonis nitric oxide, *Anti-Helicobacter pylori*, neurotransmitter antagonis. Senyawa 2'-Methoxyisoliquiritigenin (20) dan Isoliquiritigenin 2'-Methyl Ether (27) antagonis nitric oxide, antimycobacterial, *Anti-Helicobacter pylori*, antibacterial, anti-inflammatory intestinal, antiinflamasi, *Neurotransmitter antagonis*, *Acetylcholine neuromuscular blocking agent*, *neuropeptide Y4*, neurotransmitter antagonis. Senyawa Ombuin (28) dan Gallic Acid (29) berpotensi sebagai antimycobacterial, antibacterial, anti-inflammatory intestinal, antiinflamasi, *acetylcholine neurotransmitter blocking agent*, dan neurotransmitter antagonis.

Quercetin-3,7-Di-O-Methyl Ether dan Quercetin-3',4'-Di-O-Methyl Ether merupakan turunan dari senyawa quercetin dengan tambahan gugus metil (CH<sub>3</sub>) dan ether [22]. Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa 3'-O-Methylbrazilin, senyawa turunan brazilin dan menentukan warna merah pada ekstrak kayu

secang. Senyawa ini memiliki serapan maksimum pada panjang gelombang 445nm dan 518nm. Brazilin dan turunannya merupakan kelompok homoisoflavan yang memiliki struktur dasar inti 2-phenylchroman. 2-phenylchroman terdiri dari dua cincin aromatik yang dihubungkan dengan atom C3. Struktur dasar ini lah yang menyebabkan adanya pigmen merah dan terdapatnya karakteristik serapan pada cahaya tampak (*visible*) [1, 12, 21, 23, 24]. Ombuin merupakan senyawa yang terbentuk akibat metilasi quercetin. Senyawa ombuin dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan dan dapat ditemukan pada beberapa tanaman dengan genus *Caesalpinia* [25].

#### 4. KESIMPULAN

Senyawa Quercetin-3,7-Di-O-Methyl Ether (14) dan Quercetin-3',4'-Di-O-Methyl Ether (17) menunjukkan bioaktivitas yang paling tinggi sebagai antioksidan, penangkap *nitric oxide*, *antagonis nitric oxide*, antibakteri, *antimycobacteria*, antiinflamasi, penambat 15-lipoxygenase. Selain itu senyawa Quercetin-3',4'-Di-O-Methyl Ether (17) juga menunjukkan aktivitas antivirus yang tinggi dibandingkan dengan senyawa lainnya. Sedangkan 2'-Methoxyisoliquiritigenin (20) dan Isoliquiritigenin 2'-Methyl Ether (27) menunjukkan aktivitas neuroprotektif yang lebih tinggi dari senyawa lainnya. Uji molecular docking dan molecular dynamic perlu dilakukan untuk mengetahui mekanisme biologis tersebut.

#### 5. UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih kepada CV Delta Science yang telah memberikan pelatihan analisis data dengan pendekatan *in silico*.

#### 6. PENDANAAN

Penelitian ini didanai oleh hibah riset CV Delta Science, Malang.

#### 7. KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada konflik kepentingan dalam penelitian dan publikasi ini.

#### DAFTAR PUSTAKA

1. Fatoni A, Anggraeni MD, Zufahair, et al. Natural reagent from Secang (*Caesalpinia sappan* L.) heartwood for urea biosensor. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering* 2019; 509: 0–7.
2. Naik Bukke A, Nazneen Hadi F, Babu KS, et al. In vitro studies data on anticancer activity of *Caesalpinia sappan* L. heartwood and leaf extracts on MCF7 and A549 cell lines. *Data in Brief* 2018; 19: 868–877.
3. Muhamad A, Akbar I, Muhamad A, et al. Antioxidant Activity In Sappan Wood (*Caesalpinia sappan* L.) Extract Based On Ph Of The Water Aktivitas Antioksidan Pada Ekstrak Kayu Sepang (*Caesalpinia Sappan* L.) Berdasarkan Ph Air. *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari* 2021; 12: 39–44.
4. Febriyanti; Suharti, N; Lucida, H; Husni, E; Sedona O. Karakterisasi dan Studi Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Etanol Secang (*Caesalpinia sappan* L.). *Jurnal Sains Farmasi & Klinis* 2018; 5: 23–27.
5. Kumala S, Tulus D. Aktivitas Antibakteri Rebusan Secang (*Caesalpinia Sappan* L.) Terhadap *Salmonella Thypii* Secara In Vivo (Antibacterial Activity of Boiled Secang Extract (*Caesalpinia Sappan* L.) Againsts *Salmonella Typhii* in Vivo). *Agritech* 2013; 33: 46–52.
6. Nirmal NP, Rajput MS, Prasad RGSV, et al. Brazilin from *Caesalpinia sappan* heartwood and its pharmacological activities: A review. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* 2015; 8: 421–430.
7. Mathew G, Skaria BP, Mathew S, et al. *Caesalpinia sappan* - an economic medicinal tree for the tropics. *National symposium on Medicinal and Aromatic Plants for the Economic benefit of Rural People (MAPER)*, 2007; 1–7.
8. Widyasti, AR; Lestari, A; Amri, K; Naufal, F; Budiasih K. Pengembangan Standarisasi Pewarna Alami Batik Dari Kulit Kayu Secang (*Caesalpinia Sappan* L.) Dengan Teknik Spektroskopi. *Jurnal Penelitian Sainstek* 2017; 22: 49–58.
9. Niu Y, Wang S, Li C, et al. Effective Compounds From *Caesalpinia sappan* L. on the Tyrosinase In Vitro and In Vivo. *Natural Product Communications*; 15. Epub ahead of print 2020. DOI: 10.1177/1934578X20920055.
10. Dwi Rusita Y, Suhartono. Flavonoids content in extracts secang (*Caesalpinia Sappan* L.) maceration method infundation analysis and visible ultraviolet spectrophotometer. *International Journal of Medical Research & Health Sciences* 2016; 5: 176–181.
11. Sari DRT, Bare Y. Physicochemical properties and biological activity of bioactive compound in Pepper nigrum: In silico study. *Spizaetus: Jurnal Biologi dan Pendidikan Biologi* 2020; 1: 1–6.
12. Nguyen VB, Vu BD, Pham GK, et al. Phenolic Compounds from *Caesalpinia sappan*. *Pharmacognosy Journal* 2020; 12: 410–414.
13. Zengin G, Zheleva-Dimitrova D, Gevrenova R, et al. Identification of phenolic components via LC–MS analysis and biological activities of two *Centaurea* species: *C. drabifolia* subsp. *drabifolia* and *C. lycopifolia*. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*

- 2018; 149: 436–441.
14. Hwang HS, Shim JH. Brazilin and Caesalpinia sappan L. extract protect epidermal keratinocytes from oxidative stress by inducing the expression of GPX7. *Chinese Journal of Natural Medicines* 2018; 16: 203–209.
  15. Widigdyo A, Widodo E, Djunaidi IH. Extract of Caesalpinia sappan L. as Antibacterial Feed Additive on Intestinal Microflora of Laying Quail. *The Journal of Experimental Life Sciences* 2017; 7: 7–10.
  16. Nakamura Y, Asahi, Hiroko; Altaf-Ul-Amin; Kurokawa, Ken; Kanaya S. KNAPsAcK: A Comprehensive Species-Metabolite Relationship Database, <http://www.knapsackfamily.com/KNAPsAcK/> (2008, accessed 12 January 2022).
  17. Min BS, Cuong TD, Hung TM, et al. Compounds from the heartwood of Caesalpinia sappan and their anti-inflammatory activity. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* 2012; 22: 7436–7439.
  18. Mueller M, Weinmann D, Toegel S, et al. Compounds from Caesalpinia sappan with anti-inflammatory properties in macrophages and chondrocytes. *Food and Function* 2016; 7: 1671–1679.
  19. Cuong TD, Hung TM, Kim JC, et al. Phenolic compounds from caesalpinia sappan heartwood and their anti-inflammatory activity. *Journal of Natural Products* 2012; 75: 2069–2075.
  20. Guha R. On exploring structure-activity relationships. *Methods in Molecular Biology* 2013; 993: 81–94.
  21. Krihariyani D, Wasito EB, Isnaeni I, et al. In Silico Study on Antibacterial Activity and Brazilin ADME of Sappan Wood (Caesalpinia Sappan L.) against Escherichia coli (Strain K12). *Systematic Reviews in Pharmacy* 2020; 11: 290–296.
  22. Guerrero MF, Puebla P, Carrón R, et al. Quercetin 3,7-dimethyl ether: a vasorelaxant flavonoid isolated from Croton schiedeanus Schlecht. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 2010; 54: 1373–1378.
  23. Dapson RW, Bain CL. Brazilwood, sappanwood, brazilin and the red dye brazilin: From textile dyeing and folk medicine to biological staining and musical instruments. *Biotechnic and Histochemistry* 2015; 90: 401–423.
  24. Warinhomhaun S, Sritularak B, Charnvanich D. A simple high-performance liquid chromatographic method for quantitative analysis of brazilin in caesalpinia sappan L. extracts. *Thai Journal of Pharmaceutical Sciences* 2018; 42: 208–213.
  25. Pan C, Lü H. Preparative separation of quercetin, ombuin and kaempferide from Gynostemma pentaphyllum by high-speed countercurrent chromatography. *Journal of Chromatographic Science* 2019; 57: 265–271.