

## INTI SARI

**Latar belakang:** Kanker ovarium merupakan keganasan ginekologi yang paling umum di Indonesia, serta memiliki tingkat kematian yang tinggi. Di Indonesia, belum ada data nasional mengenai insidensi kanker ovarium, namun tahun 2022 diperkirakan ada 829 kasus baru yang ditemukan. Terapi standar lini pertama yang dipilih saat ini untuk kanker stadium lanjut HER2 positif adalah kombinasi trastuzumab dan pertuzumab. Walaupun dalam penggunaannya terdapat perbaikan mayor, masih ada banyak tantangan yang dihadapi, seperti kekambuhan pasien dan resistensi terhadap terapi anti-HER2. Adanya tantangan ini mendorong peneliti untuk mencari obat lain yang memiliki efek anti-kanker, seperti pyrazolin. Pyrazoline yang digunakan dalam penelitian ini merupakan sintesis turunan pyrazoline, yakni *N-phenylpyrazoline C*.

**Tujuan:** Untuk mengetahui aktivitas anti-kanker turunan *N-phenylpyrazoline C* pada kanker ovarium (*cell line* SKOV-3) secara *in silico* dan *in vitro*

**Metode:** Penelitian dilakukan *in silico* dengan menggunakan data SMILES dari *N-phenylpyrazoline C* yang dikombinasikan dengan website *Swiss Target Prediction*, *Swiss Dock*, dan *One Click Docking Mcule*. Kemudian juga dilakukan tes log-rank untuk dilakukan pada dataset ketahanan hidup kanker ovarium yang didapatkan dari UCSC Xena yang disajikan dalam Kaplan-Meier plot. Secara *in vitro*, uji dilakukan dengan menggunakan tujuh tingkat konsentrasi *N-phenylpyrazoline C* (1.25, 2.5, 5, 10, 20, 40, 80  $\mu$ M) pada *cell line* SKOV-3. Aktivitas *N-phenylpyrazoline C* dalam menghambat pertumbuhan *cell line* SKOV-3 dianalisis dengan menggunakan aplikasi GraphPad Prism 7.00.

**Hasil:** Analisis protein target menunjukkan 5 protein target dengan probabilitas tertinggi, yakni ERBB2, EGFR, PRKCZ, PTK2, dan KDR. Uji *molecular docking* secara *in silico* menunjukkan bahwa *N-phenylpyrazoline C* memiliki afinitas yang lebih tinggi dibandingkan obat standarnya yakni lapatinib. Analisis public dataset menunjukkan bahwa ekspresi HER2 berkorelasi dengan *overall survival rate* (*p-value* <0,05), pasien yang mengekspresikan HER2 secara berlebihan memiliki prognosis yang lebih buruk. *N-phenylpyrazoline C* tidak menghambat pertumbuhan *cell line* SKOV-3 (model kanker ovarium) dengan  $IC_{50}$  sebesar >80  $\mu$ M (konsentrasi tertinggi yang diuji).

**Kesimpulan:** *N-phenylpyrazoline C* memiliki protein target utama ERBB2 (HER2) dan EGFR. ERBB2 (HER2) sangat berkorelasi dengan *overall survival rate* pada pasien kanker ovarium. Namun uji aktivitas secara *in vitro* *N-phenylpyrazoline C* tidak memiliki aktivitas anti-kanker untuk menghambat pertumbuhan dari *cell line* SKOV-3

**Kata kunci:** *N-phenylpyrazoline*, kanker ovarium, SKOV-3, ERBB2, protein target.

## ABSTRACT

**Background:** Ovarian cancer is the most common gynecological malignancy in Indonesia and has a high mortality rate. In Indonesia, there is no national data on the incidence of ovarian cancer; however, in 2022, an estimated 829 new cases were reported. The current first-line standard therapy for advanced-stage HER2-positive ovarian cancer is a combination of trastuzumab and pertuzumab. Although this therapy has shown major improvements, several challenges remain, including patient relapse and resistance to anti-HER2 therapy. These challenges have driven researchers to explore alternative anticancer agents, such as pyrazoline derivatives. The pyrazoline derivative used in this study is N-phenylpyrazoline C.

**Objective:** To evaluate the anticancer activity of the N-phenylpyrazoline C derivative in ovarian cancer (SKOV-3 cell line) through in silico and in vitro studies.

**Methods:** In silico analysis was conducted using the SMILES data of N-phenylpyrazoline C, combined with Swiss Target Prediction, SwissDock, and One Click Docking Mcule. A log-rank test was performed on ovarian cancer survival datasets obtained from UCSC Xena, presented in a Kaplan-Meier plot.

For in vitro analysis, seven concentrations of N-phenylpyrazoline C (1.25, 2.5, 5, 10, 20, 40, 80  $\mu$ M) were tested on SKOV-3 cell lines. The inhibitory activity of N-phenylpyrazoline C on SKOV-3 cell growth was analyzed using GraphPad Prism 7.00.

**Results:** Protein target analysis identified five proteins with the highest probability: ERBB2, EGFR, PRKCZ, PTK2, and KDR. In silico molecular docking studies showed that N-phenylpyrazoline C exhibited a higher affinity than the standard drug lapatinib. Public dataset analysis revealed that HER2 expression correlates with overall survival rate (p-value <0.05), with HER2-overexpressing patients having a poorer prognosis. However, N-phenylpyrazoline C did not inhibit the growth of SKOV-3 ovarian cancer cells, with an IC<sub>50</sub> > 80  $\mu$ M (the highest tested concentration).

**Conclusion:** N-phenylpyrazoline C primarily targets ERBB2 (HER2) and EGFR. ERBB2 (HER2) is strongly correlated with the overall survival rate of ovarian cancer patients. However, in vitro activity testing showed that N-phenylpyrazoline C lacks anticancer activity in inhibiting SKOV-3 cell growth.

**Keywords:** N-phenylpyrazoline, ovarian cancer, SKOV-3, ERBB2, protein target.