

## Studi *Molecular Docking* dan Evaluasi Farmakokinetik Senyawa Analog Pirazol Turunan Benzen-Sulfonilurea sebagai Inhibitor Enzim Aldose Reduktase and $\alpha$ -Glukosidase Menggunakan Pendekatan *In Silico*

Yuni Fatisa<sup>1</sup>, Lisa Utami<sup>1</sup>, Jufrizal Syahri<sup>2</sup>, Jasril<sup>3</sup>, and Lazulva<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Chemistry Education, Faculty of Tarbiyah and Keguruan, Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim, Kampar, Indonesia

<sup>2</sup>Department of Chemistry, Faculty of Sciences and Mathematics, Muhammadiyah Riau University, Pekanbaru, Indonesia

<sup>3</sup>Department of Chemistry, Faculty of Sciences and Mathematics, Riau University, Pekanbaru, Indonesia

Corresponding Author:  
Lazulva  
lazulva@uin-suska.ac.id

Received: August 2023  
Accepted: May 2024  
Published: September 2024

© Lazulva et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

### Abstract

The pyrazole scaffold modification in various chemical structures on several studies has shown various biopharmacological activities. This study aims to predict the potential inhibition of pyrazole analogs derived benzene-sulfonylurea (**4A**, **4B**, **4E**, **5A**, **5C**, **5D**) against the  $\alpha$ -glucosidase (3A4A) and aldose reductase (3RX2) enzymes based on a molecular docking approach using Molecular Operating Environment (MOE) 2020.0102 software and evaluate pharmacokinetic profile (ADMET). In this study, the six test compounds were obtained from previous studies that have been proven antihyperglycemic. The results showed that all the 3,5-disubstituted benzene-sulfonylurea derivative pyrazole analogs are predicted to have low inhibitory activity against the  $\alpha$ -glucosidase enzyme. Further, all compounds showed good aldose reductase inhibitor activity and had lower binding free energy values than tolrestat as the positive control (-6.82 kcal/mol). Compound **5C** has the best potential inhibitory activity against the aldose reductase enzyme compared to the other test compounds, because it has the lowest binding free energy value (-8.76 kcal/mol) and interacts with important residues on the receptor forming four hydrogen bonds, namely the carbonyl group of SO<sub>2</sub> with residues Trp111 and His110, and the carbonyl group of the amide with residues His110 and Tyr48, as well as 3 hydrophobic bonds, namely a pyrazole ring with residues Leu300, Trp219 and a furan ring with Phe122. ADMET properties of the compounds are also predicted. This information provides an opportunity for a **5C** compound as an aldose reductase inhibitor agent to develop drug candidates with better and safer activities.

**Keywords:** *Analogs derived benzene-sulfonylurea,  $\alpha$ -glucosidase inhibitor, inhibitor aldose reductase, molecular docking*

### Pendahuluan

Diabetes mellitus (DM) merupakan penyakit gangguan metabolik yang disebabkan oleh kegagalan produksi insulin, kerja insulin atau

keduanya yang ditandai dengan meningkatnya kadar glukosa darah (hiperglikemia). Sekitar 85-90 % kasus dari jumlah penderita DM adalah diabetes mellitus tipe 2 (T2DM). Obat-obat yang digunakan dalam manajemen terapi

T2DM saat ini dihubungkan dengan berbagai faktor patofisiologis yang menimbulkan hiperglikemia pada pasien T2DM<sup>[1]</sup>, seperti jenis diabetes, keparahan penyakit diabetes, umur, kondisi kesehatan dan komplikasi patogen. Selain itu, sifat multifaktor metabolik penyebab hiperglikemik pada pasien diabetes juga dikaitkan dengan berbagai aktifitas reseptor dan enzim yang terlibat dalam metabolisme glukosa<sup>[2]</sup>.

Inhibitor  $\alpha$ -glukosidase atau  *$\alpha$ -glukosidase Inhibitors* (AGIs) merupakan salah satu obat antihiperglikemik untuk terapi pasien T2DM terutama bagi penderita *post-prandial* hiperglikemia. AGIs bekerja menghambat pencernaan senyawa karbohidrat menjadi glukosa oleh enzim  $\alpha$ -glukosidase sehingga memperlambat penyerapan glukosa oleh usus sebelum memasuki sirkulasi darah. Hal ini dapat mencegah atau memperlambat peningkatan gula darah pada pasien<sup>[3]</sup>. Beberapa jenis AGIs yaitu akarbose, voglibosa, dan miglitol mampu menghambat secara kompetitif enzim  $\alpha$ -glukosidase. Akarbose lebih banyak digunakan, namun memiliki efek samping, seperti diare, perut kembung dan meteorisme yang dihasilkan dari fermentasi karbohidrat yang tidak termetabolisme oleh bakteri kolon<sup>[4]</sup>.

Komplikasi yang ditimbulkan oleh penyakit diabetes juga menjadi momok yang memperberat penderitaan pasien diabetes. Hiperaktivitas enzim aldose reduktase akibat glukosa darah yang tinggi pada jalur poliol dihubungkan dengan berbagai patogenik yang menimbulkan komplikasi tersebut seperti penyakit nefropati, retinopati dan neuropati<sup>[5]</sup>. Enzim aldosa reduktase (ALR2) mengkatalisis reaksi reduksi gugus aldehid dari glukosa menjadi sorbitol yang menggunakan kofaktor NADPH pada jalur poliol. Inhibitor aldose reduktase seperti tolrestat, fidarestat, dan minalretat, dapat mengurangi akumulasi sorbitol pada jaringan sehingga inhibitor-inhibitor ini digunakan sebagai terapi untuk pencegahan dan pengobatan komplikasi diabetes.

Mempertimbangkan sifat multifaktor metabolik diabetes dan komplikasi yang ditimbulkan tersebut, terkadang dibutuhkan terapi kombinasi obat diabetes agar pengobatan menjadi lebih efektif pada pasien diabetes. Berbagai upaya untuk mendapatkan obat diabetes dengan aktivitas yang lebih baik dan aman terus dilakukan. Strategi menggabungkan dua *scaffold* aktif dalam satu platform molekul tunggal merupakan salah satu strategi yang berkembang untuk mendapatkan senyawa dengan aktifitas terapi yang maksimal dan aman. Senyawa pirazol menjadi perhatian utama peneliti organik saat ini karena aktivitas biologisnya yang luas yang berhubungan dengan keberadaan inti atom nitrogennya. Derivat pirazol dalam beberapa penelitian menunjukkan aktivitas sebagai inhibitor enzim  $\alpha$ -glukosidase, seperti turunan pirazolobenzotiazin 5,5-dioksida<sup>[6]</sup>, dan pirazolilpiridazin amina<sup>[7]</sup>. Sedangkan turunan sulfonilurea juga telah diteliti memiliki berbagai aktifitas farmakologi, seperti inhibitor aldose reduktase<sup>[8],[9]</sup>.

Pada penelitian ini, sebagai ligan uji digunakan senyawa hibrid gugus pirazol dan sulfonamida yaitu analog pirazol yang tersubstitusi gugus benzensulfonilurea. Senyawa ini sebelumnya telah disintesis dan menunjukkan aktivitas antihiperglikemik secara *in vivo*<sup>[10]</sup>. Walaupun senyawa analog pirazol yang tersubstitusi gugus benzensulfonilurea telah terbukti sebagai antihiperglikemia, namun perlu untuk memahami mekanisme antihiperglikemik ligan ini dengan memprediksi interaksi yang terjadi antara ligan analog pirazol disubstitusi benzensulfonilurea dengan residu residu asam amino pada reseptor yang berhubungan melalui studi *molecular docking*. Hal ini bertujuan agar dapat memberikan gambaran lebih detail tentang mekanisme aksi ligan-reseptor, memfasilitasi dan mempercepat proses perancangan obat diabetes baru. Pengetahuan interaksi yang terjadi antara residu asam amino pada reseptor dan ligan juga sangat dibutuhkan untuk memahami keaktifan dan kekuatan bioaktivitas suatu senyawa<sup>[11]</sup>.

Aktifitas senyawa-senyawa ini sebagai inhibitor enzim  $\alpha$ -glukosidase dan enzim aldose belum pernah diteliti. Berdasarkan hal di atas, maka pada penelitian ini dilakukan prediksi aktivitas senyawa analog pirazol disubstitusi benzen-sulfonilurea terhadap enzim  $\alpha$ -glukosidase dan enzim aldose dengan pendekatan *molecular docking* menggunakan *software* Molecular Operating Environment (MOE) 2020.0102 dan evaluasi sifat farmakokinetik (ADMET).

## Metodologi Penelitian

### Peralatan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah satu unit komputer Notebook HP 14S FQ 0011AU dengan spesifikasi teknis prosesor AMD Ryzen 5-4500U, kapasitas RAM 8 GB. Program yang digunakan adalah ChemOffice 17.0, Molecular Operating Environment (MOE) 2020.01012, dan Discovery Studio Visualizer 2019 (DSV).

### Prosedur penelitian

#### Preparasi Protein

Protein target enzim  $\alpha$ -glukosidase dan enzim aldose reduktase diperoleh dari Protein Data Bank RCSB <https://www.rcsb.org/>. Enzim  $\alpha$ -glukosidase merupakan struktur kristalografi enzim  $\alpha$ -glukosidase (PDB ID: 3A4A; resolusi 1.80 Å) dari *Saccharomyces cereviceae* yang terikat dengan inhibitor oligo-1,6 glukosidase. Sedangkan enzim aldose reduktase adalah aldose reduktase (PDB ID: 3RX2; resolusi 1.90 Å) dari manusia yang membentuk kompleks dengan inhibitor sulindak sulfon. Protein-protein target ini disimpan dalam format .pdb.

Pada tahap pertama, persiapan reseptor dioperasikan melalui perangkat lunak BIOVIA Discovery Studio Visualizer (DSV) 2019 dan MOE 2020.0102 software (MOE, Chemical Computing Group, Inc). Preparasi reseptor menggunakan DSV ini untuk menghapus molekul air dan menghapus molekul ligan selain ligan natif. Pada enzim aldose reduktase (3RX2) terdapat dua ligan yaitu Nikotinamida-Adenin-dinukleotida Fosfat (NADP) dan sulindak sulfon. Ligan NADP dibuang,

sedangkan ligan sulindak sulfon digunakan sebagai ligan natif uji yang melekat pada enzim. Selanjutnya reseptor disimpan dalam format pdb.

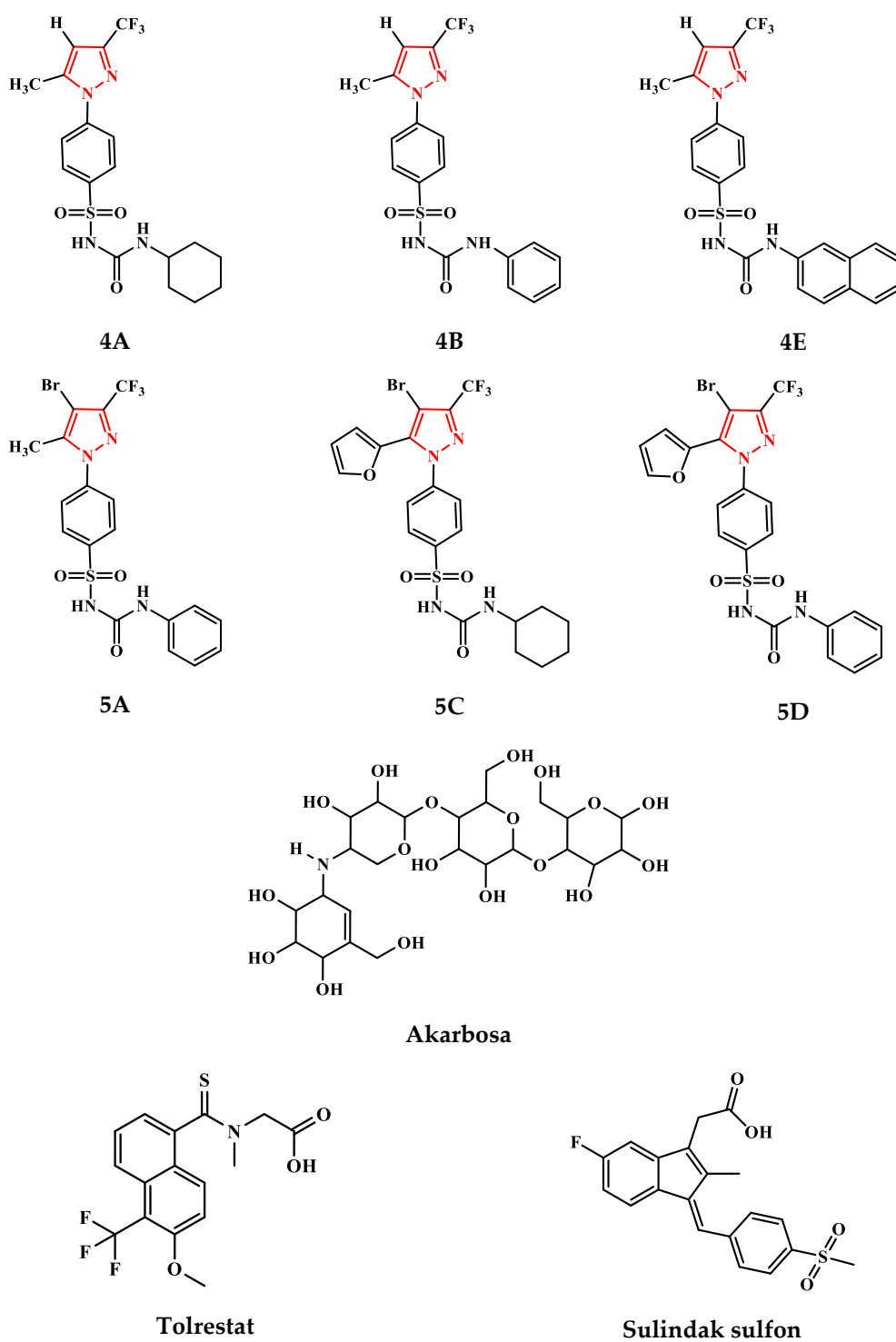
Pada tahap kedua, preparasi reseptor dilakukan menggunakan parameter yang tersedia pada MOE *software* untuk mendapatkan energi minimal dan geometri. Parameter tersebut meliputi: menentukan *forcefield* (CHARM27), memperbaiki jumlah atom hidrogen dan muatan, menentukan *gradient* RMS (0.001 kcal/mol/Å<sup>2</sup>) serta mengatur koordinat pusat tempat interaksi reseptor-ligan (wall) yang merupakan pusat massa dari ligan natif. Selanjutnya reseptor disimpan dalam format pdb.

#### Preparasi Ligan

Seluruh ligan uji, yaitu: senyawa-senyawa analog pirazol turunan 3,5-disubstitusi benzen-sulfonilurea yaitu senyawa **4A**, **4B**, **4E**, **5A**, **5C**, **5D**, akarbosa, tolrestat, oligo-1,6 glukosidase, dan sulindak sulfon disiapkan menggunakan perangkat lunak ChemOffice v.17 dan MOE 2020.0102. Ligan digambar di ChemOffice v.17. Selanjutnya struktur ligan disalin ke antarmuka MOE. Persiapan semua ligand untuk proses docking dilakukan dengan mengatur parameter pada MOE software untuk energi minimal meliputi: memperbaiki jumlah atom hidrogen, menentukan *forcefield* (MMF94x) dan mengatur *gradient* (0,001 kcal/mol/Å). Setelah selesai, ligan disimpan dalam entry database molekul (mdb). Struktur ligan uji ditampilkan pada **Gambar 1**.

#### Proses Docking dan Visualisasi

Proses *docking* dilakukan menggunakan *software* MOE 2020.0102. Parameter diatur pada bagian pemilihan *score* (London dG dan GBIV/WSA dG) dan pemilihan metode (*Placement* = *Triangle Matcher* dan *Refinement* = *Rigid Receptor*). Konformasi pose dilakukan sebanyak 100 kali dengan pose terbaik sebanyak 10. Hasil *docking* dipilih berdasarkan nilai energi bebas pengikatan (S-score, kcal/mol) terendah dan nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD) hasil *docking*  $\leq 2$  Å.



Gambar 1. Struktur Kimia Ligan

Visualisasi interaksi ligan reseptor dilakukan menggunakan MOE 2020.0102 dan BIOVIA Discovery Studio Visualizer (DSV) 2019.

### *Evaluasi Profil ADMET*

Pada penelitian ini, profil *drug-likeness* dan ADME dari kandidat obat dilakukan secara *in silico* dari SwissADME (<http://www.swissadme.ch/index.php>).

Parameter yang diamati menurut standar aturan lima Lipinski (*Lipinski Rule of Five*) yaitu berat molekul  $\leq 500$ ; donor ikatan hidrogen  $\leq 5$ ; akseptor ikatan hidrogen  $\leq 10$ ; sifat lipofilisitas ( $\text{LogP}$ )  $\leq 5$ . Prediksi toksisitas dilakukan menggunakan Pro Tox II ([https://tox-new.charite.de/prottox\\_II/index.php?site=compo und\\_input](https://tox-new.charite.de/prottox_II/index.php?site=compo und_input)) dimana indikator yang diamati adalah toksisitas Ames, hepatoksitas, sensitisasi kulit, dan karsinogenisitas<sup>[12]</sup>.

### Hasil dan Diskusi

#### Pengambatan Ligan Terhadap Enzim $\alpha$ -glukosidase

Studi *molecular docking* merupakan pendekatan berbasis komputer yang dilakukan untuk memfasilitasi perancangan penemuan obat agar dapat menekan biaya dan waktu penelitian. Selain itu, metode ini juga bermanfaat untuk mendukung hasil bioaktivitas dengan cara mensinkronkan hasil uji *in vitro* atau *in vivo* yang didapat. Hasil *molecular docking* dapat memungkinkan pemahaman hubungan antara target molekular dan ligan dengan cara memprediksi penambatan yang terjadi antara target enzim dan kandidat obat<sup>[13]</sup>. Enzim  $\alpha$ -glukosidase dari jamur Baker's (MAL12) merupakan enzim yang tersedia dan biasa digunakan untuk uji *in vitro* antidiabetes<sup>[14]-[16]</sup>. Namun, struktur enzim  $\alpha$ -glukosidase dari jamur Baker's (MAL12) ini belum tersedia. Studi melalui pemodelan homologi yang telah dilakukan menunjukkan bahwa kristal struktur  $\alpha$ -glukosidase dari *S. cereviceae* (PDB ID: 3A4A) memiliki urutan identik 71 % dan kemiripan 84 % dengan enzim  $\alpha$ -glukosidase dari jamur Baker's (MAL12)<sup>[17]</sup>. Jadi, dalam studi ini, target enzim  $\alpha$ -glukosidase yang dipilih adalah PDB ID: 3A4A agar terjadi sinkronisasi antara hasil

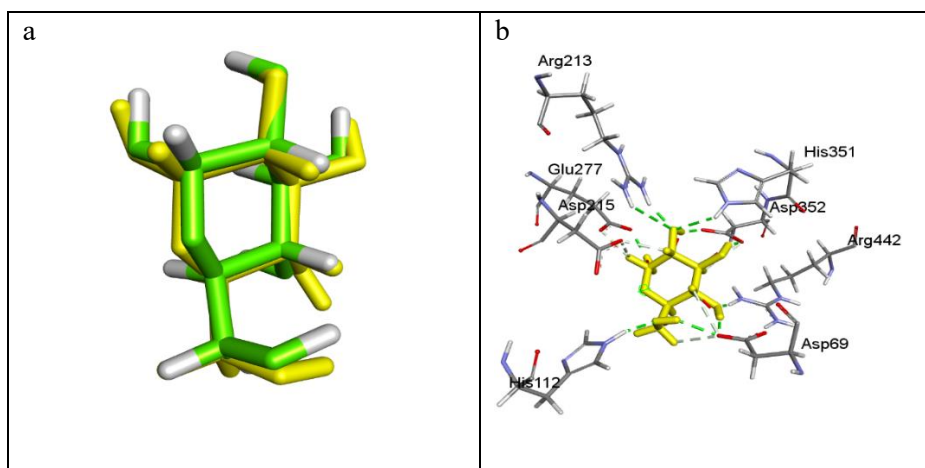
uji praklinis studi doking dan uji *in vitro* dilaboratorium. Selain itu, didukung oleh hasil penelitian yang mendapatkan bahwa inaktivasi terhadap isoform ragi  $\alpha$ -glukosidase dan  $\alpha$ -amilase dari manusia menunjukkan hasil yang signifikan sehingga memungkinkan pengujian *in vivo* lebih mudah dan dapat menjadi perbandingan yang layak dengan varian manusia<sup>[18]</sup>.

Proses *docking* dilakukan pada situs aktif enzim  $\alpha$ -glukosidase (3A4A) yang dipilih melalui parameter *site finder* pada MOE *software*. Residu-residu aktif pada kantung ikatan ini dipilih berdasarkan literatur sebelumnya<sup>[19]</sup>. Situs aktif pada enzim target ini terdiri dari residu-residu asam amino: Asp69, Tyr72, His112, Tyr158, Phe159, Phe178, Gln182, Arg213, Asp215, Val216, Ser240, Asp242, Glu277, Gln279, His280, Phe303, Ser304, Thr306, Asp307, Val308, Gly309, Thr310, Ser311, Pro312, Leu313, Phe314, Arg315, Tyr316, Val319, Pro320, Phe321, Asp325, His351, Asp352, Gln353, Glu411, Arg442, dan Arg446.

Validasi metode untuk protokol *docking* adalah hasil *redocking* ligan inhibitor  $\alpha$ -D-glukopiranososa yang mempunyai nilai *binding free energi*  $S = -14.387$  kcal/mol dan RMSD = 1.105. Protokol *docking* dengan nilai RMSD  $\leq 2$  menunjukkan bahwa posisi ligan hasil *redocking* mirip dengan posisi ligan natif. Kemiripan ini juga ditunjukkan oleh terbentuknya superimposisi antara ligan natif dan ligan hasil *redocking* dari hasil visualisasi menggunakan *software* DSV (Gambar 2).

Pada penelitian ini, hasil *docking* menunjukkan bahwa secara umum potensi penghambatan senyawa analog pirazol turunan 3,5-disubstitusi benzen-sulfonilurea memiliki nilai energi bebas pengikatan lebih besar dibandingkan kontrol positif akarbosa (-21.7607 kcal/mol). Senyawa uji menunjukkan potensi penghambatan pada sisi aktif enzim  $\alpha$ -glukosidase dengan nilai energi bebas pengikatan berturut turut adalah **5C** < **5D** < **4B** < **5C** < **4E** < **4A** yaitu -13.95, -13.57, -13.06, -12.95 dan -12.57 kcal/mol (Tabel.1).





**Gambar 2.** Visualisasi *redocking* ligan inhibitor  $\alpha$ -D-glukopiranososa (a). Superimposisi inhibitor  $\alpha$ -D-glukopiranososa (kuning) hasil *redocking* dengan inhibitor  $\alpha$ -D-glukopiranososa (hijau) dari kristal enzim  $\alpha$ -glukosidase (PDB ID: 3A4A); (b). konformasi 3D inhibitor  $\alpha$ -D-glukopiranososa (kuning) hasil *redocking* dalam kantong sisi aktif enzim  $\alpha$ -glukosidase.

**Tabel 1.** Nilai Energi Bebas Ikatan dan Interaksi Ligan dengan Situs Aktif Enzim  $\alpha$ -glukosidase (3A4A)

Senyawa	$\Delta G$ (kcal/mol)	RMSD	Ikatan		Interaksi lain
			Ikatan hidrogen	Ikatan Hidrofo bik	
Akarbosa	-21.76	1.01	Asp242, Asp307, Glu411, Arg442, His351, Asp215, His112, Pro312		Val216, His112, Glu277, Phe178, Phe159, His280, Phe303, Gln279, Tyr158, Tyr316, Asp242, Ser240, Asp307, Pro312, Leu313, Thr310, Ser311, Phe314, Arg315, Glu411, Asp69, Asp352, Arg442, His351, Arg446, Tyr72, Asp215, Arg213
4A	-12.57	1.47	Arg442, Glu277	Arg315	Val216, Glu277, Phe303, Asp307, Phe314, Arg315, Thr310, Pro312, Ser311, Leu313, Tyr158, Glu411, Asp352, Arg442, Asp69, Phe178, Gln353, His351, Tyr72, His112, Asp215
4B	-13.06	1.33	Gln353, Asp352		Tyr347, Gln353, Asn350, Pro312, Arg315, Ser311, Leu313, Phe314, Asp242, Gln279, Thr306, Tyr158, Asp307, Phe303, Glu411, His280, His351, Asp352, Arg442, Phe301, Glu277, Arg213, Trp58
4E	-12.95	1.68	Gln353,		Asp69, Gln353, Gln279, Phe314,

			His351		Lys156, Asn415, <b>Glu411</b> , <b>Tyr158</b> , <b>His280</b> , <b>Arg315</b> , <b>Phe303</b> , Thr306, <b>Phe178</b> , <b>Glu277</b> , <b>Asp307</b> , <b>Arg213</b> , <b>Val216</b> , <b>Arg442</b> , <b>Asp215</b> , <b>Arg446</b> , <b>His351</b> , <b>Tyr72</b> , <b>Asp352</b>
<b>5A</b>	-12.82	0.96	Arg315, Tyr158,	Gln279	<b>Phe178</b> , <b>His280</b> , <b>Gln279</b> , <b>Phe303</b> , <b>Phe159</b> , <b>Tyr158</b> , <b>Ser311</b> , <b>Asp242</b> , <b>Asp307</b> , <b>Pro312</b> , <b>Thr310</b> , <b>Arg315</b> , <b>Tyr316</b> , <b>Phe314</b> , <b>Asp352</b> , <b>Glu411</b> , <b>Ile440</b> , <b>Arg442</b> , <b>Gln353</b> , <b>Val216</b> , <b>Glu277</b>
<b>5C</b>	-13.95	1.25	Arg315, Tyr158	Gln279	<b>Arg315</b> , <b>Asp307</b> , <b>Phe314</b> , <b>Pro312</b> , <b>Thr310</b> , <b>Asp242</b> , <b>Ser240</b> , <b>Phe303</b> , <b>Val216</b> , <b>Gln279</b> , <b>His280</b> , <b>Ser311</b> , <b>Glu277</b> , <b>Phe178</b> , <b>Tyr158</b> , <b>Phe159</b> , <b>Glu411</b> , <b>Arg442</b> , <b>Gln353</b> , <b>Asp352</b>
<b>5D</b>	-13.57	1.88	Arg315, Asn415, Tyr158, Ser157, Gln353	Ser240	<b>Asp352</b> , <b>Gln353</b> , <b>Asp307</b> , <b>Gln279</b> , <b>Thr306</b> , <b>Tyr306</b> , <b>Arg315</b> , <b>Phe314</b> , <b>Asp242</b> , <b>Ser240</b> , <b>Ser241</b> , <b>Lys156</b> , <b>Ser157</b> , <b>Phe178</b> , <b>Phe159</b> , <b>Tyr158</b> , <b>Asn415</b> , <b>Glu411</b> , <b>Phe303</b> , <b>Val216</b> , <b>Glu277</b> , <b>Arg442</b>

Senyawa **5C** mempunyai nilai energi bebas ikatan paling rendah yaitu -14.08 kcal/mol dibandingkan senyawa uji yang lain. Senyawa **5C** juga membentuk 2 ikatan hidrogen yaitu antara atom F dengan Arg315 dan antara gugus karbonil dari SO<sub>2</sub> dengan Tyr158, serta 1 interaksi hidrofobik antara cincin benzena dengan Gln279.

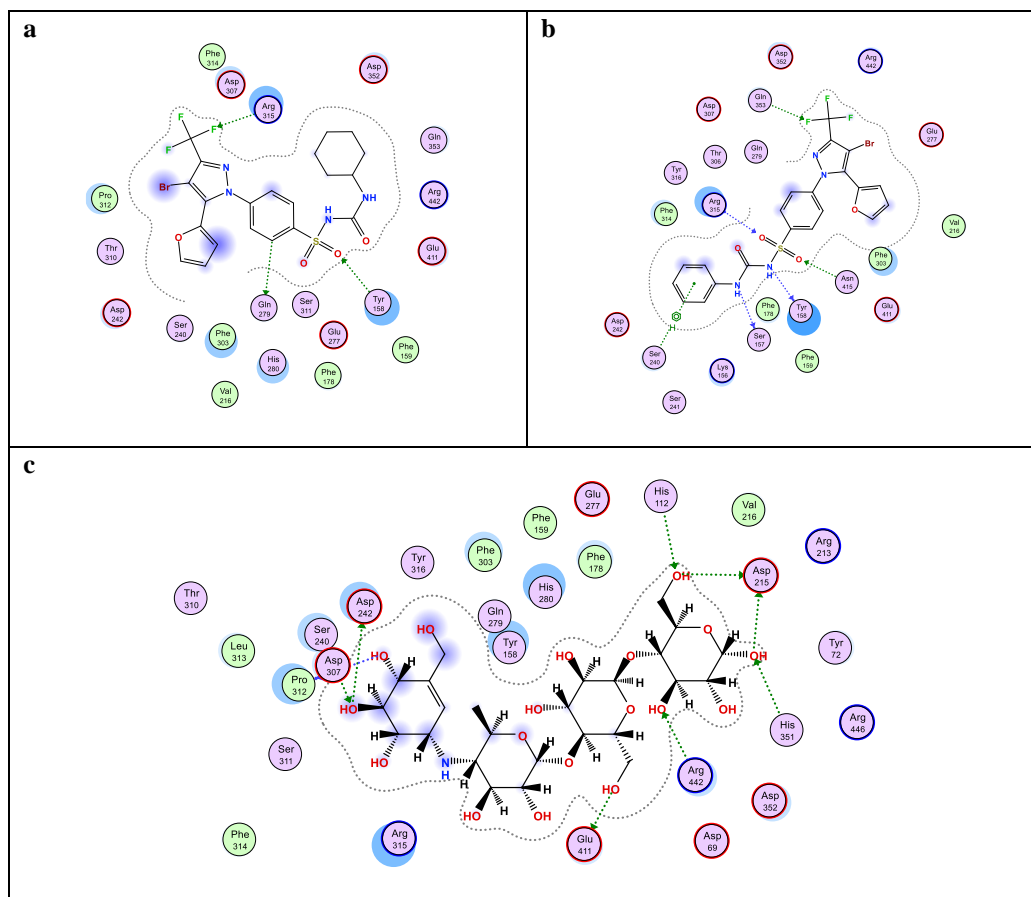
Senyawa **5D** memiliki nilai energi bebas ikatan yaitu -13.57 kcal/mol. Senyawa **5D** membentuk 5 ikatan hidrogen dengan residu Arg315, Asn415, Tyr158, Ser157, dan Gln353, serta satu ikatan hidrofobik dengan residu Ser240. Ikatan hidrogen merupakan indikator penting untuk menentukan aktivitas ligan terhadap reseptor. Jika terbentuk ikatan hidrogen atau semakin banyak ikatan hidrogen dalam kompleks ikatan ligan dengan reseptor, maka ligan semakin aktif<sup>[11]</sup>. Walaupun interaksi ini terjadi dalam situs aktif enzim  $\alpha$ -glukosidase, namun senyawa **5D** ini memiliki interaksi dengan residu-residu enzim yang tidak sama dengan interaksi yang terbentuk pada kontrol positif

akarbosa dan ligan inhibitor  $\alpha$ -D-glukopiranosida terhadap residu-residu asam amino enzim  $\alpha$ -glukosidase (Gambar 3).

Berdasarkan pengamatan diatas, maka dapat disimpulkan bahwa senyawa uji senyawa analog pirazol turunan 3,5-disubstitusi benzen-sulfonilurea memiliki aktifitas yang rendah sebagai inhibitor enzim  $\alpha$ -glukosidase. Jadi, perlu penelitian lebih lanjut terhadap sifat antihiperqlikemia senyawa ini untuk mendukung hasil studi sebelumnya terhadap target protein lain yang berhubungan dengan aktifitas hiperqlikemia.

#### **Penghambatan Ligan Terhadap Enzim Aldosa Reduktase**

Kajian pendekatan *molecular docking* juga dilakukan terhadap enzim aldosa reduktase (PDB ID: 3RX2) yang merupakan struktur kristalografi aldosa reduktase manusia yang berkompleks dengan inhibitor sulindak sulfon<sup>[20]</sup>.



**Gambar 3.** Visualisasi konformasi 2D ligan dengan residu-residu aktif dari enzim enzim  $\alpha$ -glukosidase menggunakan *software* MOE: (a) 5C; (b) 5D; (c) Akarbosa.

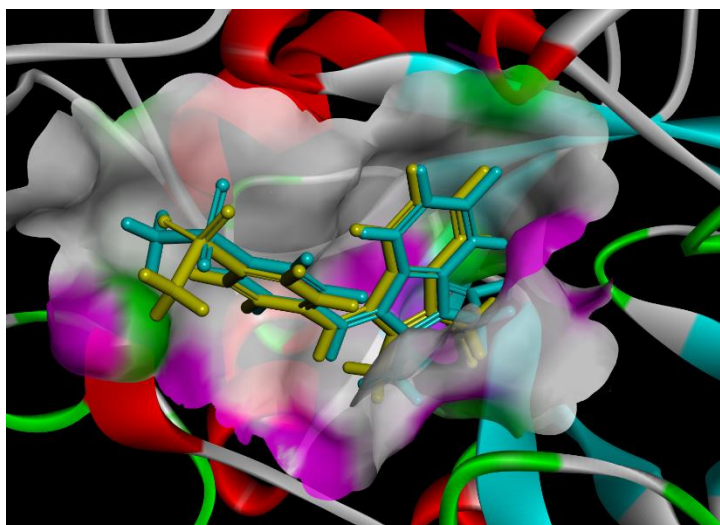
Reseptor 3RX2 dipilih sebagai target karena ligan natif yang terikat mengandung gugus SO<sub>2</sub> dan struktur ini sejalan dengan analog pirazol turunan 3,5-disubstitusi benzen-sulfonilurea.

Persiapan reseptor dilakukan cara mengoptimasi struktur enzim melalui menu *structure preparation* dan *quick preparation* yang tersedia pada MOE. Sedangkan untuk persiapan ligan uji dilakukan pengaturan energi minimal dengan pilihan *forcefield* MMFF94x dan *RMS gradient* 0,0001 kcal/mol/Å. Proses *docking* dilakukan sebanyak 100 pose yang menghasilkan 10 pose terbaik. Sisi aktif enzim dipilih residu-residu asam amino yang berada disekitar ligan<sup>[21]-[23]</sup>, dimana ini sesuai dengan model prediksi *binding site* dari enzim aldose reduktase yang ditemukan pada *site finder module* pada MOE, yaitu: Gly18, Thr19, Trp20, Lys21, Asp43, Cys44, Val47, Tyr48, Lys77, Trp79, His110, Trp111, Phe122, Asn160,, Gln183 Tyr209, Ser210, Ser214, Pro215, Trp219,

Lys221, Asp224,, Leu228 Ile260, Pro261, Val264, Thr113, Arg268, Trp295, Arg296, Val297, Cys298, Ala299,, Leu300, Leu301, dan Ser302

Pengujian kelayakan metode yang digunakan dalam proses *docking* dilakukan dengan memvalidasi metode dengan cara *redocking* ligan sulindak sulfon dan mendekatkan (superimposisi) konformasi 3D hasil *redocking* dengan kemiripan pose ligan inhibitor dalam kristalografi reseptor yang dinyatakan dengan nilai RMSD. Pada penelitian ini, hasil *redocking* membuktikan bahwa ligan sulindak sulfon hasil *redocking* menempati kantung pengikatan yang sama dengan ligan sulindak sulfon kokristal enzim 3RX2 dengan nilai energi bebas pengikatan = -6.49 kcal/mol dan RMSD = 1.97. Nilai ini juga menunjukkan bahwa ligan natif hasil *redocking* memiliki konformasi yang mirip dengan ligan natif kokristalografi, sehingga metode *docking* ini dapat digunakan untuk proses *docking* ligan uji (Gambar 4).





**Gambar 4.** Superimposisi inhibitor sulindak sulfon (biru) dalam struktur kristal aldose reduktase (ID 3RX2) dan *redocking* inhibitor sulindak sulfon (kuning) menggunakan DSV.

**Tabel 2.** Nilai energi bebas pengikatan dan Interaksi Ligan dengan Situs Aktif Enzim Aldose Reduktase (3RX2)

Senyawa	$\Delta G$ (kcal/mol)	RMSD	Ikatan		Interaksi lain
			Ikatan hidrogen	Ikatan Hidrofoik	
Tolrestat	-6.82	1.99	His110, Tyr48	Trp219	Leu301, Ala299, Ser302, Cys298, Leu300, Trp219, Val297, Trp79, Val47, Tyr48, Trp111, His110, Trp20, Phe122
4A	-8.21	1.71	Trp111, His110, His110, Tyr48	Leu300	<b>Ala299, Leu300, Leu301, Phe122, Trp219, Trp111, His110, Asp43, Tyr48, Ile260, Lys77, Gln183, Gly18, Ser210, Tyr209, Trp20, Ser302, Cys298</b>
4B	-7.99	1.48	Trp111, His110, His110	Leu300, Tyr209	<b>Phe122, Ala299, Leu300, Leu301, Val297, Cys298, Trp219, Trp111, His110, Val47, Asn160, Trp79, Lys77, Tyr48, Asp43, Ile260, Gln183, Trp20, Tyr209, Ser210, Ser302</b>
4E	-8.72	1.80	Trp111, His110, His110	Leu300, Tyr209, Tyr209, Ser210	<b>Phe122, Ser302, Leu300, Ala299, Leu301, Val297, Cys298, Trp219, Trp111, Val47, His110, Asn160, Gln183, Tyr48, Trp79, Asp43, Ile260, Lys77, Gly18, Lys262, Ser210, Trp20, Tyr209</b>
5A	-8.17	1.59	Trp111, His110, His110,	Leu300, Trp219	<b>Phe122, Ala299, Leu300, Leu301, Ser302, Val297, Trp219, Cys298, Trp111, His110, Tyr48, Gln183,</b>

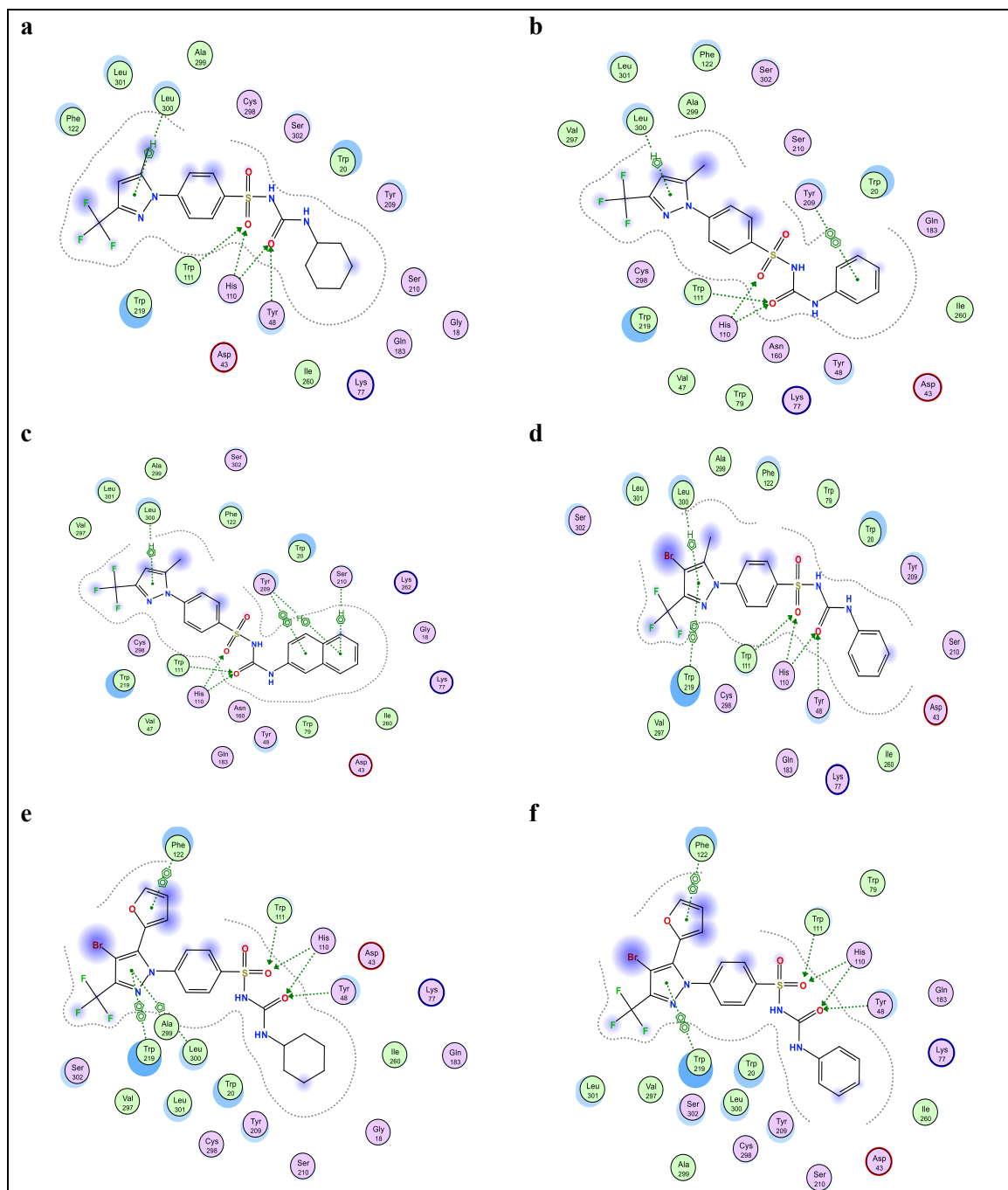
			Tyr48		Lys77, Ile260, Asp43, Ser210, Tyr209, <b>Trp20, Trp79</b>
<b>5C</b>	-8.76	1.80	Trp111, His110, His110, Tyr48	Leu300, Trp219	<b>Phe122, Ser302, Val297, Trp219, Ala299, Leu301, Leu300, Trp20, Cys298, Tyr209, Ser210, Gly18, Ile260, Gln183, Lys77, Tyr48, Asp43, His110, Trp111</b>
<b>5D</b>	-8.40	2.00	Trp111, His110, His110, Tyr48	Phe122, Trp219	<b>Phe122, Leu301, Val297, Trp219, Ser302, Ala299, Trp20, Leu300, Tyr209, Cys298, Ser210, Asp43, Ile260, Lys77, Tyr48, Gln183, His110, Trp111, Trp79</b>

Pada studi ini, tolrestat digunakan sebagai kontrol positif. Tolrestat mempunyai energi bebas pengikatan -6.82 kcal/mol dan membentuk interaksi 2 ikatan hidrogen, yaitu antara gugus karbonil (COOH) dengan His110 dan Tyr48 dan 1 ikatan hidrofobik (pi-pi stacking contact) antara cincin benzena dengan Trp219 (Tabel 2). Menurut Urzhumtsev et al., tolrestat merupakan salah satu inhibitor aldosa reduktase yang mengandung kepala polar gugus COOH. Kepala ini terikat dengan enzim aldosa reduktase dalam bentuk (COO)<sup>-</sup>, dengan muatan negatif dibagi antara atom O (C=O) dan O (-OH) dan terikat dengan residu Tyr48, His110 dan Trp111 melalui ikatan hidrogen yang erat<sup>[23]</sup>.

Pada tabel 2, Secara umum, senyawa analog pirazol turunan 3,5-disubstitusi benzen-sulfonilurea diprediksi memiliki aktifitas penghambatan terhadap enzim aldosa reduktase, yang dibuktikan dari nilai affinitas yang rendah, membentuk interaksi non kovalen dengan residu-residu penting dalam sisi aktif enzim serta membentuk kontak residu yang banyak. Hasil *docking* menunjukkan bahwa senyawa analog pirazol turunan 3,5-disubstitusi benzen-sulfonilurea mempunyai nilai energi bebas pengikatan yang lebih rendah dibandingkan kontrol positif tolrestat (-6.82 kcal/mol). Nilai energi bebas pengikatan senyawa **4A**, **4B**, **4E**, **5A**, **5C** menurut urutan **5C** < **4E** < **5D** < **4A** < **5A** < **4B** yaitu: -8.76, -8.72, -8.40, -8.21, -8.17, -7.99 kcal/mol.

Selain itu, senyawa-senyawa uji analog pirazol turunan 3,5-disubstitusi benzen-sulfonilurea ini menunjukkan kemampuan membentuk beberapa ikatan dengan reseptor seperti, ikatan hidrogen, van der Waals, ikatan pi-sigma, dan ikatan pi-pi dengan residu-residu penting yaitu Trp111, His110, His110, Tyr48 (Gambar 5). Suatu model mekanisme katalitik aldosa reduktase pada manusia berdasarkan kalkulasi kimia kuantum juga membuktikan bahwa kombinasi proton donor terjadi dalam mekanisme katalitik enzim yang melibatkan tiga residu penting (Tyr48, His110, dan Trp111) pada enzim aldosa reduktase<sup>[24]</sup>.

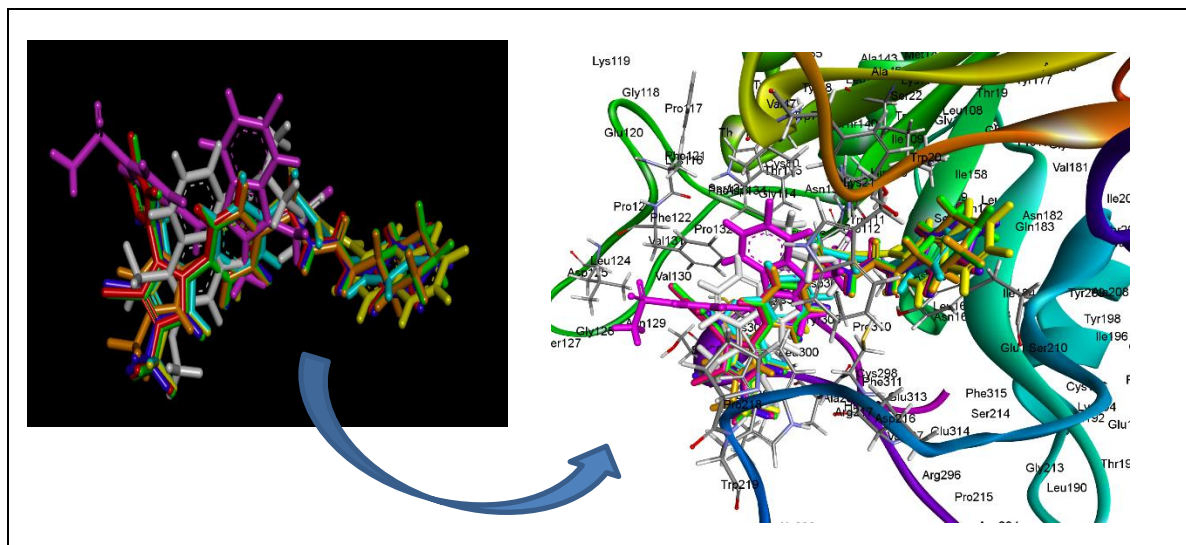
Senyawa **5C** mempunyai nilai energi bebas pengikatan yang paling rendah (-8.76 kcal/mol) dibandingkan senyawa uji yang lain. Senyawa **5C** berinteraksi dengan reseptor membentuk 4 ikatan hidrogen yaitu gugus karbonil dari SO<sub>2</sub> dengan residu Trp111 dan His110, dan gugus karbonil dari amida dengan residu His110 dan Tyr48, serta 3 ikatan hidrofobik yaitu cincin pirazol dengan residu Leu300, Trp219 dan cincin furan dengan Phe122. Menurut Frimayanti dkk, semakin banyak interaksi ikatan hidrogen yang terbentuk antara kompleks ligan dengan reseptor, maka dapat diprediksi bahwa aktifitas farmakologis ligan terhadap reseptor semakin aktif<sup>[25]</sup>. Ini berarti, bahwa senyawa **5C** ini diprediksi memiliki aktifitas inhibitor terbaik terhadap enzim aldosa reduktase dibandingkan senyawa uji yang lain.



**Gambar 5.** Visualisasi konformasi 2D dari senyawa analog pirazol turunan 3,5-disubstitusi benzen-sulfonilurea dengan residu-residu aktif dari enzim aldose reductase menggunakan MOE *software*: (a) 4A; (b) 4b; (c) 4E; (d) 5A; (e) 5C; (f) 5D.

Berdasarkan hasil *docking*, dapat diamati bahwa adanya gugus karbonil dan  $\text{SO}_2$  dari sulfonilurea, serta cincin pirazol dapat mempengaruhi jenis interaksi ikatan yang terbentuk antara ligan dan reseptor. Interaksi ini menyebabkan senyawa analog pirazol turunan 3,5-disubstitusi benzena-sulfonilurea mempunyai aktivitas hambat yang baik

terhadap enzim aldose reduktase. Hasil ini sejalan dengan penelitian bahwa senyawa pirazolin tersubstitusi benzen-sulfonilurea memiliki aktivitas antihiperlipidemia secara uji *in vitro* dan berbasis studi *docking* senyawa ini juga berpotensi sebagai inhibitor aldose reductase<sup>[26]</sup>.



**Gambar 6.** *Overlay* struktur ligan dalam situs aktif enzim aldose reduktase **4A** (oren), **4B** (sian), **4E** (kuning), **5A** (biru), **5C** (hijau), **5D** (merah), sulindak sulfon (pink), dan tolrestat (putih).

Menurut Yaseen et al., modifikasi inhibitor aldosa reduktase yaitu piridazinon yang tersubstitusi benzen-sulfonilurea juga menunjukkan dua aktivitas sekaligus yaitu sebagai antihiperqlikemik dan inhibitor aldose reduktase<sup>[26]</sup>.

Berdasarkan pengamatan kontak residu, enam senyawa-senyawa analog pirazol turunan benzen-sulfonilurea terbentang di kantung sisi aktif enzim aldose reduktase yang sama dengan posisi tolrestat. Identifikasi kontak residu merupakan pengamatan terhadap interaksi non kovalen atau non ikatan (*non-bonded interaction*) yang terbentuk antara ligan dan reseptor yang dapat meningkatkan afinitas dan aktivitas hambat terhadap kerja reseptor<sup>[27]</sup>. Superimposisi yang terjadi sesama ligan uji membuktikan bahwa senyawa-senyawa ini menempati posisi yang mirip pada sisi aktif enzim dan berinteraksi membentuk jenis ikatan yang hampir sama dengan residu-residu asam amino. Hasil ini juga mirip dengan interaksi ikatan yang terjadi antara inhibitor sulindak sulfon dengan residu-residu penting dalam kokristal enzim aldose reduktase (3RX2)<sup>[20]</sup>. *Overlay* dan superimposisi senyawa analog pirazol turunan 3,5-disubstitusi benzen-sulfonilurea dengan residu-residu aktif dari enzim aldose reduktase ditampilkan pada Gambar 6.

### Profil Farmakokinetik

Pada penelitian ini, profil ADMET dilakukan menggunakan model *in silico* yang merupakan skrining awal untuk mengantisipasi kegagalan obat yang disebabkan oleh sifat senyawa farmakokinetik yang tidak diinginkan dalam pengembangan kandidat obat.

Prediksi sifat mirip obat (*drug-likeness*) menunjukkan bahwa semua senyawa uji memenuhi parameter aturan lima Lipinski, kecuali pada parameter berat molekul dan nilai logP. Senyawa **5A**, **5C**, dan **5D** memiliki berat molekul > 500 g/mol. Selain itu, semua senyawa uji juga memiliki nilai koefisien partisi (log P) > 5. Hal ini berarti bahwa semua senyawa uji ini bersifat lebih lipofilik sehingga akan sulit untuk menembus membran semipermeabel. Berdasarkan struktur molekul, pada umumnya senyawa mengandung 3-4 cincin siklik yang dapat meningkatkan sifat hidrofilik dari senyawa. Aturan lima Lipinski bertujuan untuk mengetahui sifat bioavailabilitas oral suatu kandidat obat, dimana ketika obat dikonsumsi secara oral, obat tersebut harus dapat diserap ke dalam sirkulasi sistemik<sup>[28]</sup>.

Hasil prediksi ADME ditampilkan pada Tabel. 3. Obat yang diberikan secara oral akan masuk ke dalam saluran pencernaan (gastrointestinal) lalu masuk ke peredaran darah.

**Tabel 3.** Profil ADMET senyawa analog pirazol turunan 3,5-disubstitusi benzen-sulfonilurea menggunakan Swiss ADME dan Prottox II

Profil Obat	Senyawa					
	4A	4B	4E	5A	5C	5D
<b>Parameter Lipinski</b>						
BM (g/mol)	430	424	474	503	561	555
Donor Hidrogen	2	2	2	2	2	2
Akseptor Hidrogen	7	7	7	7	8	8
LogP	5.75	5.75	6.91	6.51	7.47	7.47
<b>ADME</b>						
Absorpsi GI	Rendah	Rendah	Rendah	Rendah	Rendah	Rendah
Permeabilitas BBB	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak
Substrat P-gp	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak
Inhibitor CYP1A2	Tidak	Ya	Ya	Ya	Tidak	Tidak
Inhibitor CYP2C19	Ya	Ya	Ya	Ya	Ya	Ya
Inhibitor CYP2C9	Ya	Ya	Ya	Ya	Ya	Ya
Inhibitor CYP2D6	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak
Inhibitor CYP3A4	Ya	Ya	Tidak	Ya	Ya	Tidak
Skin permeasi (Log Kp) cm/dt	-5.98	-6.12	-5.54	-6.11	-6.03	-6.17
<b>Toksistas</b>						
Hepatoksisitas	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Ya	Ya
Karsinogenisitas	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak
Imunogenisitas	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak
Mutagenisitas	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak
LD 50 (mg/kg)	2000	2000	2000	2000	1800	2000
Kelas Toksisitas	4	4	4	4	4	4

Untuk itu, obat-obatan diharapkan harus dapat menembus membran gastrointestinal dengan mudah untuk dapat masuk ke dalam sirkulasi sistemik tersebut. Hasil menunjukkan bahwa enam senyawa analog pirazol turunan 3,5-disubstitusi benzen-sulfonilurea diabsorpsi rendah oleh saluran pencernaan. Hal ini berarti bahwa pemberian senyawa analog pirazol turunan 3,5-disubstitusi benzen-sulfonilurea sebagai kandidat obat perlu dipertimbangkan yakni tidak melalui jalur oral, tetapi mungkin melalui jalur pemberian obat yang lain<sup>[29]</sup> (seperti injeksi, inhalation, dan intranasal) untuk terapi diabetik. Sedangkan nilai BBB menunjukkan bahwa senyawa uji tidak dapat diserap dalam Sistem Saraf Pusat (SSP). *Blood Brain Barrier* (BBB) atau penetrasi sawar darah otak berfungsi sebagai sistem pemeliharaan dan pertahanan homeostasis yang mengatur

pertukaran molekul dari darah ke otak. Ini berarti bahwa senyawa uji tidak mempengaruhi kerja sistem saraf pusat. Evaluasi sifat senyawa uji terhadap aktifitas enzim sitokrom P450 (CYP) menunjukkan sebagian besar senyawa uji merupakan inhibitor enzim CYP. Hal ini berpotensi mengganggu aktivitas CYP terhadap substrat sehingga berpotensi menimbulkan interaksi positif ataupun negatif secara klinis dengan substrat atau obat lain<sup>[30]</sup>.

Uji toksistas ditentukan berdasarkan *Globally Harmonized System* (GSH) menggunakan online Prottox II. Toksisitas senyawa uji yang berada pada kelas 4 menunjukkan bahwa senyawa bersifat toksistas rendah.



## Kesimpulan

Pada penelitian ini, hasil studi *docking* menunjukkan bahwa semua ligan uji analog pirazol turunan turunan 3,5-disubstitusi benzen-sulfonilurea diprediksi memiliki aktifitas hambat rendah terhadap enzim  $\alpha$ -glukosidase berdasarkan nilai energi bebas ikatan dan interaksi yang terbentuk antara ligan-reseptor. Namun, ligan-ligan uji ini memiliki potensi baik sebagai inhibitor enzim aldosa reduktase karena mempunyai nilai energi bebas ikatan lebih kecil dibandingkan kontrol positif tolrestat. Senyawa **5C** mempunyai aktifitas hambat terbaik terhadap enzim aldose reduktase dibandingkan senyawa uji yang lain, dengan nilai energi bebas pengikatan paling rendah (-8.76 kcal/mol) dan jenis interaksi yang mirip dengan ligan natif dan tolrestat. Senyawa analog pirazol turunan 3,5-disubstitusi benzen-sulfonilurea ini juga mempunyai sifat ADME yang cukup baik dan sifat toksisitas rendah. Informasi ini dapat memfasilitasi proses pengembangan obat komplikasi diabetes baru dari senyawa analog pirazol turunan 3,5-disubstitusi benzene-sulfonilurea. Studi selanjutnya dibutuhkan untuk menemukan mekanisme antihiperlikemik senyawa-senyawa ini untuk mendukung studi sebelumnya.

## Ucapan Terima Kasih

Terimakasih peneliti ucapkan atas bantuan dana penelitian DIPA BLU Tahun 2021 Nomor SP DIPA-025.04.2.424157/2021 Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat UIN Sultan Syarif Kasim Riau.

## Daftar Pustaka

1. Thulé, P. M., Mechanisms of current therapies for diabetes mellitus type 2. *Am. J. Physiol. - Adv. Physiol. Educ.*, **36(4)**: 275–283 (2012).
2. Dowarah, J. & Singh, V. P., Anti-diabetic drugs recent approaches and advancements. *Bioorganic Med. Chem.*, **28(5)**: 115263 (2020).
3. Yin, Z., Zhang, W., Feng, F., Zhang, Y. & Kang, W.,  $\alpha$ -Glucosidase inhibitors isolated from medicinal plants. *Food Sci. Hum. Wellness*, **3(3–4)**: 136–174 (2014).
4. Derosa, G. & Maffioli, P.,  $\alpha$ -Glucosidase inhibitors and their use in clinical practice. *Arch. Med. Sci.*, **8(5)**: 899–906 (2012).
5. Salem, M. G., Abdel Aziz, Y. M., Elewa, M., Elshihawy, H. A. & Said, M. M., Molecular modelling and synthesis of spiroimidazolidine-2,4-diones with dual activities as hypoglycemic agents and selective inhibitors of aldose reductase. *Bioorg. Chem.*, **79(April)**: 131–144 (2018).
6. Taj, S., Ashfaq, U. A., Aslam, S., Ahmad, M. & Bhatti, S. H., Alpha-glucosidase activity of novel pyrazolobenzothiazine 5,5-dioxide derivatives for the treatment of diabetes mellitus. Invitro combined with molecular docking approach. *Biologia (Bratisl.)*, **74(11)**: 1523–1530 (2019).
7. Chaudhry, F., Ather, A. Q., Akhtar, M. J., Shaukat, A., Ashraf, M., al-Rashida, M., Munawar, M. A., *et al.*, Green synthesis, inhibition studies of yeast  $\alpha$ -glucosidase and molecular docking of pyrazolylpyridazine amines. *Bioorg. Chem.*, **71**: 170–180 (2017).
8. Yin, L., Zhang, M. & He, T., Design and development of novel thiazole-sulfonamide derivatives as a protective agent against diabetic cataract in Wistar rats via inhibition of aldose reductase. *Heterocycl. Commun.*, **27(1)**: 63–70 (2021).
9. Demir, Y. & Köksal, Z., Some sulfonamides as aldose reductase inhibitors: therapeutic approach in diabetes. *Arch. Physiol. Biochem.*, **0(0)**: 1–6 (2020).
10. Faidallah, H. M., Khan, K. A. & Asiri, A. M., Synthesis and biological evaluation of new 3-trifluoromethylpyrazolesulfonylurea and thiourea derivatives as antidiabetic and antimicrobial agents. *J. Fluor. Chem.*, **132(2)**: 131–137 (2011).
11. Frimayanti, N., Iskandar, B., Putri, R. D., Tinggi, S., Farmasi, I., Kamboja, J. & Panam, S. B., Docking Studies of Chalcone

- Analogue Compounds as Inhibitors for Breast Cancer. **11(2)**: 31–35 (2019).
12. Drwal, M. N., Banerjee, P., Dunkel, M., Wettig, M. R. & Preissner, R., ProTox: A web server for the in silico prediction of rodent oral toxicity. *Nucleic Acids Res.*, **42(W1)**: 53–58 (2014).
  13. Pinzi, L. & Rastelli, G., Molecular Docking: Shifting Paradigms in Drug Discovery. *Int. J. Mol. Sciences*, **20(18)**: 1–23 (2019).
  14. Taha, M., Shah, S. A. A., Afifi, M., Imran, S., Sultan, S., Rahim, F. & Khan, K. M., Synthesis,  $\alpha$ -glucosidase inhibition and molecular docking study of coumarin based derivatives. *Bioorg. Chem.*, **77**: 586–592 (2018).
  15. Al-Salahi, R., Ahmad, R., Anouar, E., Iwana Nor Azman, N. I., Marzouk, M. & Abuelizz, H. A., 3-Benzyl(phenethyl)-2-thioxobenzo[g]quinazolines as a new class of potent  $\alpha$ -glucosidase inhibitors: Synthesis and molecular docking study. *Future Med. Chem.*, **10(16)**: 1889–1905 (2018).
  16. Liu, Y., Zhan, L., Xu, C., Jiang, H., Zhu, C., Sun, L., Sun, C., *et al.*,  $\alpha$ -Glucosidase inhibitors from Chinese bayberry (*Morella rubra* Sieb. et Zucc.) fruit: Molecular docking and interaction mechanism of flavonols with different B-ring hydroxylations. *RSC Adv.*, **10(49)**: 29347–29361 (2020).
  17. Imran, S., Taha, M., Ismail, N. H., Kashif, S. M., Rahim, F., Jamil, W., Hariono, M., *et al.*, Synthesis of novel flavone hydrazones: In-vitro evaluation of  $\alpha$ -glucosidase inhibition, QSAR analysis and docking studies. *Eur. J. Med. Chem.*, **105**: 156–170 (2015).
  18. Braun, C., Brayer, G. D. & Withers, S. G., Mechanism-based inhibition of yeast  $\alpha$ -glucosidase and human pancreatic  $\alpha$ -amylase by a new class of inhibitors: 2-Deoxy-2,2-difluoro- $\alpha$ -glycosides. *J. Biol. Chem.*, **270(45)**: 26778–26781 (1995).
  19. Moghimi, S., Toolabi, M., Salarinejad, S., Firoozpour, L., Sadat Ebrahimi, S. E., Safari, F., Mojtavavi, S., *et al.*, Design and synthesis of novel pyridazine N-aryl acetamides: In-vitro evaluation of  $\alpha$ -glucosidase inhibition, docking, and kinetic studies. *Bioorg. Chem.*, **102(June)**: 104071 (2020).
  20. Zheng, X., Zhang, L., Zhai, J., Chen, Y., Luo, H. & Hu, X., The molecular basis for inhibition of sulindac and its metabolites towards human aldose reductase. *FEBS Lett.*, **586(1)**: 55–59 (2012).
  21. Iqbal, Z., Morahan, G., Arooj, M., Sobolev, A. N. & Hameed, S., Synthesis of new arylsulfonylspiroimidazolidine-2',4'-diones and study of their effect on stimulation of insulin release from MIN6 cell line, inhibition of human aldose reductase, sorbitol accumulations in various tissues and oxidative stress. *Eur. J. Med. Chem.*, **168**: 154–175 (2019).
  22. El-Kabbani, O., Ruiz, F., Darmanin, C. & Chung, R. P.-T., Aldose reductase structures: implications for mechanism and inhibition. *Cell. Mol. Life Sci.*, **61(7)**: 750–762 (2004).
  23. Urzhumtsev, A., Tête-Favier, F., Mitschler, A., Barbanton, J., Barth, P., Urzhumtseva, L., Biellmann, J. F., *et al.*, A 'specificity' pocket inferred from the crystal structures of the complexes of aldose reductase with the pharmaceutically important inhibitors tolrestat and sorbinil. *Structure*, **5(5)**: 601–612 (1997).
  24. Cachau, R., Howard, E., Barth, P., Mitschler, A., Chevrier, B., Lamour, V., Joachimiak, A., *et al.*, Model of the catalytic mechanism of human aldose reductase based on quantum chemical calculations. *J. Phys. IVFrance*, **10**: (2000).
  25. Frimayanti, N., Iskandar, B., Yaeghoobi, M., Han, H. C., Zain, S. M., Yusof, R. & Rahman, N. A., Docking, synthesis and bioassay studies of imine derivatives as potential inhibitors for dengue NS2B/ NS3 serine protease. *Asian Pacific J. Trop. Dis.*, **7(12)**: 792–796 (2017).
  26. Yaseen, R., Pushpalatha, H., Reddy, G. B., Ismael, A., Ahmed, A., Dheyaa, A., Ovais, S., *et al.*, Design and synthesis of pyridazinone-substituted

- benzenesulphonylurea derivatives as anti-hyperglycaemic agents and inhibitors of aldose reductase – an enzyme embroiled in diabetic complications. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, **31(6)**: 1415–1427 (2016).
27. Syahputra, G., Ambarsari L. & T, S., Simulasi docking kurkumin enol, bisdemetoksikurkumin dan analognya sebagai inhibitor enzim 12-lipoksigenase. *Biofisika*, **10(1)**: 55–67 (2014).
28. Frimayanti, N., Yaeghoobi, M., Ikhtiarudin, I., Rizki, D. & Putri, W., Insight on the In Silico Study and Biological Activity Assay Molecular docking. *Chiang Mai Univ. J. Nat. Sci.*, **20(1)**: 1–11 (2021).
29. Dholakia, J., Prabhakar, B. & Shende, P., Strategies for the delivery of antidiabetic drugs via intranasal route. *Int. J. Pharm.*, **608(September)**: 121068 (2021).
30. Shin, D. S., Seo, H., Yang, J. Y., Joo, J., Im, S. H., Kim, S. S., Kim, S. K., *et al.*, Quantitative Evaluation of Cytochrome P450 3A4 Inhibition and Hepatotoxicity in HepaRG 3-D Spheroids. *Int. J. Toxicol.*, **37(5)**: 393–403 (2018).