

STUDI *IN SILICO* POTENSI AKTIVITAS FARMAKOLOGI SENYAWA GOLONGAN DIHIDROTETRAZOLOPIRIMIDIN

N. Kurnyawaty^{1*}, H. Suwito², dan F. Kusumattaqin¹

¹Jurusan Teknik Kimia, Politeknik Negeri Samarinda, Samarinda, Indonesia

²Departemen Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia

*Email: noormakurnyawaty@polnes.ac.id

ABSTRAK

Senyawa golongan dihidrotetrazolopirimidin dapat disintesis menggunakan Reaksi Biginelli. Senyawa etil 5-metil-7-(4-morfolinofenil)-4,7-dihidrotetrazolo[1,5a] pirimidin-6-karboksilat (MDP) merupakan senyawa organik baru terdiri atas cincin dihidrotetrazolopirimidin dengan gugus samping morfolinofenil. Penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa senyawa pirimidin dan turunannya memiliki berbagai macam aktivitas farmakologi. Pada penelitian ini, senyawa MDP dianalisis menggunakan studi *in silico* untuk mengetahui potensi yang dimiliki sebagai agen terapi untuk mengatasi masalah kesehatan. Hasil analisis menunjukkan bahwa senyawa MDP berpotensi sebagai antimalaria, antikanker, dan antihiperurisemia dilihat dari *binding energy* yang bernilai negatif atau rendah. Interaksi senyawa MDP dengan reseptor yang bernilai paling negatif pada saat berinteraksi dengan protein XOD dibandingkan dengan nilai *binding energy* MDP dengan Kinesin Eg5 dan PfdHODH. Sehingga dapat disimpulkan bahwa senyawa MDP paling potensial jika digunakan sebagai antihiperurisemia dengan nilai *binding energy* sebesar -8,33 kkal/mol dengan konstanta inhibisi 0,79 μ M.

Kata kunci: antihiperurisemia, antikanker, antimalaria, dihidrotetrazolopirimidin, *in silico*

ABSTRACT

Dihydro-tetrazolopyrimidine derivatives can be synthesized using the Biginelli Reaction. Ethyl 5-methyl-7-(4-morpholinophenyl)-4,7-dihydro-tetrazolo[1,5a]pyrimidine-6-carboxylate (MDP) is a new organic compound consisting of a dihydro-tetrazolopyrimidine ring with morpholinophenyl moiety. Previous studies showed that pyrimidine compounds and their derivatives exhibited various pharmacological activities. In this study, MDP compound was analyzed using *in silico* studies to determine its potential to be used as therapeutic agent to overcome health problems. The results of the analysis showed that the MDP compound has potential activity as an antimalarial, anticancer, and antihyperuricemia, based on negative or low binding energy. The interaction of MDP compound with XOD protein showed the lowest binding energy compared to Kinesin Eg5 and PfdHODH. Based on the docking experiments performed, it can be concluded that MDP compound showed the most potential to be used as an antihyperuricemia with binding energy of -8.33 kcal/mol and inhibition concentration of 0,79 μ M.

Keywords: anticancer, antihyperuricemia, antimalarial, dihydro-tetrazolopyrimidine, *in silico*

PENDAHULUAN

Turunan senyawa pirimidin golongan dihidrotetrazolopirimidin yaitu senyawa etil 5-metil-7-(4-morfolinofenil)-4,7-dihidrotetrazolo[1,5a] pirimidin-6-karboksilat (MDP) telah berhasil disintesis menggunakan Reaksi Biginelli (Suwito *et al.*, 2018). Senyawa MDP merupakan senyawa baru yang diprediksi memiliki berbagai potensi aktivitas farmakologi yang berperan dalam bidang kesehatan. Senyawa pirimidin dan turunannya menjadi sangat penting untuk disintesis dan dikembangkan karena keterlibatannya di dalam

basa penyusun asam nukleat sehingga memiliki aktivitas biologi yang cukup luas (Yerragunta *et al.*, 2013).

Aktivitas farmakologi suatu senyawa organik sangat dipengaruhi oleh gugus-gugus fungsi yang dimilikinya. Senyawa MDP memiliki gugus dihidrotetrazolopirimidin yaitu dua buah cincin, cincin enam dan cincin lima yang terfusi pada struktur molekulnya. Struktur tersebut memiliki kemiripan dengan struktur senyawa purin. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa senyawa kimia dengan gugus dihidrotetrazolopirimidin memiliki aktivitas sebagai antibakteri (Scapin *et al.*,

2017) dan antikanker (Wu *et al.*, 2018). Selain itu, senyawa MDP juga memiliki gugus samping morfolinofenil. Senyawa yang memiliki gugus morfolinofenil dapat digunakan sebagai antikanker (Kamal *et al.*, 2011).

Perbedaan gugus fungsi yang dimiliki oleh senyawa organik, memungkinkan adanya aktivitas farmakologi baru. Potensi aktivitas farmakologi suatu senyawa dapat ditentukan atau diprediksi menggunakan studi *in silico* dengan analisis *molecular docking*. Studi *in silico* menjadi suatu teknik penting digunakan untuk proses penemuan senyawa obat baru (Yuriev & Ramsland, 2013). Studi *in silico* dilakukan secara komputasi untuk pemodelan struktur dan memprediksi aktivitas yang tepat dari suatu senyawa (Meng *et al.*, 2012). Aktivitas farmakologi yang menarik untuk dibahas saat ini adalah antimalaria, antikanker, dan antihiperurisemia. Hal ini dikarenakan penyakit malaria, kanker, dan hiperurisemia masih menjadi masalah kesehatan yang cukup tinggi di Indonesia.

Beberapa penelitian sebelumnya mengatakan bahwa suatu penyakit dapat diatasi dengan menghambat kerja protein atau enzim spesifik yang menyebabkan terjadinya penyakit tersebut. Penelitian Deng *et al.* (2009) menunjukkan bahwa senyawa turunan pirimidin yaitu triazolopirimidin mampu menghambat kerja protein *Plasmodium falciparum* Dihydroorotate Dehydrogenase (*PfDHODH*) dengan nilai IC_{50} sebesar 0,047 μ M. Protein *PfDHODH* berperan dalam biosintesis pirimidin parasit *Plasmodium falciparum* penyebab malaria (Hou *et al.*, 2016). Penelitian lain menunjukkan senyawa turunan pirimidin juga dimanfaatkan sebagai agen terapi kanker, yaitu *S-monastrol* dengan nilai IC_{50} sebesar 6,7 μ M yang bekerja dengan cara menghambat protein Kinesin Eg5 (Yan *et al.*, 2004). Protein Kinesin Eg5 berperan dalam proses mitosis pada pembelahan sel (Rath & Kozielski, 2012). Selain itu, Okamoto *et al.*, (2008) juga berhasil menunjukkan adanya interaksi antara senyawa turunan purin yaitu oxipurinol yang mampu menghambat kerja enzim xanthine oxidase (XOD). Enzim XOD berperan dalam reaksi metabolisme purin didalam tubuh manusia yang dapat mengakibatkan peningkatan kadar urisemia. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk menganalisis dan membandingkan potensi aktivitas senyawa MDP sebagai agen terapi antimalaria, antikanker, dan antihiperurisemia

menggunakan studi *in silico* dengan cara *molecular docking*.

MATERI DAN METODE

Bahan

Struktur molekul senyawa MDP, struktur protein target reseptor diperoleh dari *Protein Data Bank (PDB)* (www.rcsb.org) menggunakan kode akses PDB: 3I65 untuk antimalaria (reseptor : *Plasmodium falciparum* Dihydroorotate Dehydrogenase), kode akses PDB : 1Q0B untuk antikanker (reseptor: Kinesin Eg5), dan kode akses PDB: 3BDJ: untuk antihiperurisemia (reseptor : Xanthine Oxidase)

Peralatan

Seperangkat komputer laptop Acer Windows 7 yang dilengkapi dengan program ChemBioDraw 12.0, Hyperchem 8.0, Chimera 1.10.1, AutoDock Tools, dan PyMol.

Cara Kerja

Validasi parameter *docking*

Validasi parameter *docking* dilakukan dengan menggunakan proses *redocking*. Validasi parameter *docking* dilakukan pada kompleks ligan-reseptor. Tahap pertama yang dilakukan adalah ekstraksi dan preparasi reseptor dan ligan menggunakan program Chimera 1.11.2 untuk mendapatkan reseptor serta ligan yang siap untuk proses *redocking*. Validasi menggunakan AutoDock4 dengan AutoDock Tools sebagai *Graphical User Interface (GUI)*. Nilai RMSD *superimpose* ligan yang diperoleh dari PDB dan ligan hasil *redocking* yang baik sebesar $\leq 2 \text{ \AA}$ (Castro-Alvarez *et al.*, 2017).

Docking senyawa MDP

Senyawa MDP dipreparasi terlebih dahulu dengan cara melakukan penggambaran dan optimasi struktur molekul dalam bentuk 3 dimensi (3D) menggunakan program ChemBioDraw 12.0, Hyperchem 8.0, dan Chimera 1.11.2. Proses *docking* senyawa MDP dilakukan dengan cara memasukkan senyawa tersebut kedalam masing-masing reseptor yang telah divalidasi. Proses *docking* dilakukan dengan menggunakan AutoDock Tools. Interaksi yang terbentuk antara ligan dengan reseptor tersebut divisualisasikan dan dianalisis. Hasil yang diperoleh dari proses *docking* antara lain adalah *binding energy*,

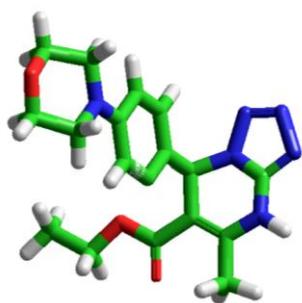
ikatan hidrogen yang terbentuk, dan konstanta inhibisi. Hasil *docking* senyawa MDP dengan masing-masing reseptor dan interaksinya divisualisasikan menggunakan program PyMol.

Analisis data hasil *docking*

Hasil *docking* senyawa MDP dengan masing-masing reseptor dianalisis nilai *binding energy*, ikatan hidrogen yang terbentuk, dan konstanta inhibisi yang didapatkan dari interaksi ligan MDP dengan reseptor. Senyawa MDP dianalogikan sebagai kandidat obat baru yang diperoleh, sedangkan reseptor merupakan suatu protein yang berperan dalam terjadinya suatu penyakit atau penyebab penyakit. Senyawa ligan MDP dibandingkan dengan *native ligan* yang terdapat dalam kompleks pada PDB.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis *in silico* senyawa MDP dilakukan terhadap reseptor yang berupa protein. Proses *docking* dilakukan pada senyawa MDP dengan konfigurasi *R* dan *S* karena senyawa MDP merupakan senyawa rasemat yang memiliki sebuah atom C khiral (C*) pada atom karbon nomor 7 (Suwito *et.al.*, 2018). Struktur senyawa MDP ditampilkan pada Gambar 1. Potensi aktivitas farmakologi senyawa MDP dianalisis menggunakan studi *in silico*. Uji dilakukan terhadap tiga jenis aktivitas yaitu antimalaria, antikanker, dan antihiperurisemia.



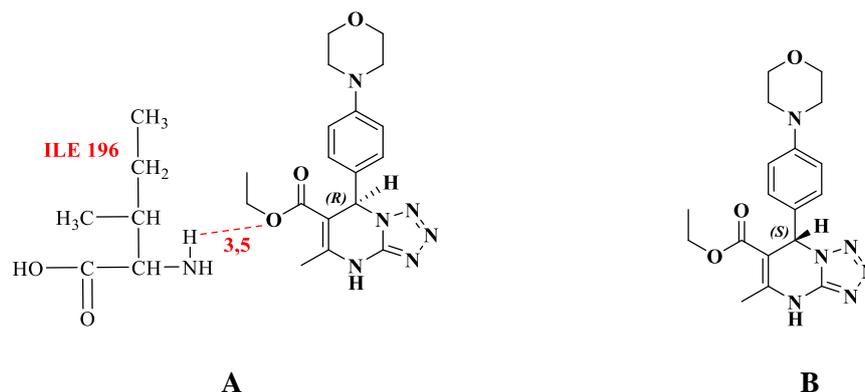
Gambar1. Struktur molekul senyawa MDP

Docking ligan MDP sebagai antimalaria

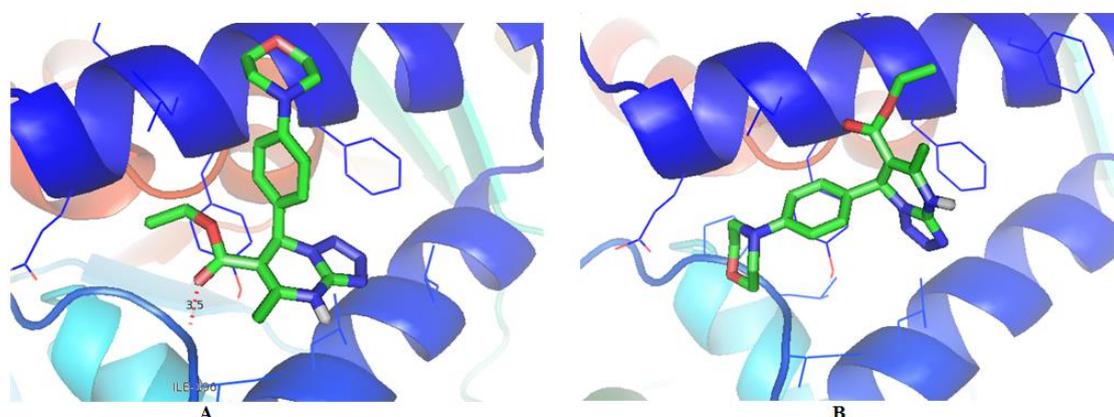
Analisis pertama dilakukan untuk mengetahui aktivitas antimalaria senyawa MDP. Protein yang digunakan sebagai reseptor

adalah *PfDHODH* (PDB ID: 3I65). Protein *PfDHODH* merupakan salah satu enzim yang berperan dalam proses biosintesis pirimidin *de novo*. Protein *PfDHODH* menjadi target yang selektif untuk terapi penyakit malaria karena protein tersebut spesifik bekerja dalam biosintesis pirimidin *Plasmodium falciparum* (Singh *et al.*, 2017).

Hasil validasi *docking* yang didapatkan menunjukkan nilai RMSD sebesar 0,54 Å. Nilai RMSD adalah nilai perbedaan antara koordinat kristal ligan dan koordinat prediksi hasil prediksi program *docking*. Nilai tersebut telah memenuhi nilai RMSD yang baik yaitu sebesar ≤ 2 Å (Castro-Alvarez *et al.*, 2017). Selanjutnya proses *docking* dilanjutkan terhadap ligan MDP. Hasil dari proses *docking* ditampilkan pada Tabel 1. Hasil *docking* senyawa MDP dibandingkan dengan *native ligan* yang terdapat di PDB yaitu senyawa 5-metil-7-(naftalen-2-ilamino)-1H-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pirimidin-3,8-dium (JZ8). Senyawa JZ8 hasil *redocking* memiliki nilai *binding energy* sebesar -9,28 kkal/mol, sedangkan hasil *docking* *R*-MDP sebesar -5,19 kkal/mol dan *S*-MDP sebesar -5,60 kkal/mol. Nilai *binding energy* ini diperoleh karena adanya interaksi senyawa ligan dengan reseptor yang menunjukkan kecocokan antara bentuk dan volume ligan terhadap sisi ikatan pada reseptor (Motejiunas dan Wade, 2006). Nilai *binding energy* dipengaruhi oleh terbentuknya ikatan hidrogen antara ligan dengan reseptor. Semakin banyak ikatan hidrogen menyebabkan nilai *binding energy* akan semakin rendah. Visualisasi interaksi ligan MDP dengan reseptor *PfDHODH* ditampilkan pada Gambar 2 dan 3. Ikatan hidrogen terbentuk antara ligan MDP dengan residu asam amino Ile196. Nilai *binding energy* berbanding lurus dengan konstanta inhibisi, semakin rendah nilai *binding energy*, maka semakin rendah nilai konstanta inhibisinya sehingga konsentrasi yang dibutuhkan oleh suatu ligan untuk menginhibisi protein juga semakin kecil. Konstanta inhibisi JZ8 hasil *redocking* sebesar 0,159 μ M, ligan *R*-MDP dan *S*-MDP berturut-turut sebesar 155,78 μ M dan 77,95 μ M. Berdasarkan hasil tersebut dapat dikatakan bahwa senyawa MDP berpotensi sebagai antimalaria, namun efektifitasnya belum lebih baik dari senyawa JZ8.



Gambar 2. Visualisasi 2D interaksi ligan *R*-MDP(A) dan *S*-MDP (B) dengan reseptor PfdHODH



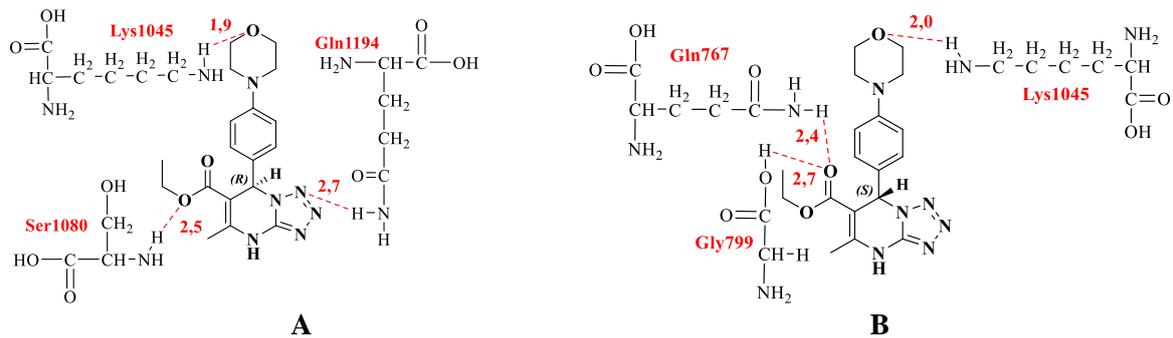
Gambar 3. Visualisasi 3D interaksi ligan *R*-MDP (A) dan *S*-MDP (B) dengan reseptor PfdHODH

Docking ligan MDP sebagai antikanker

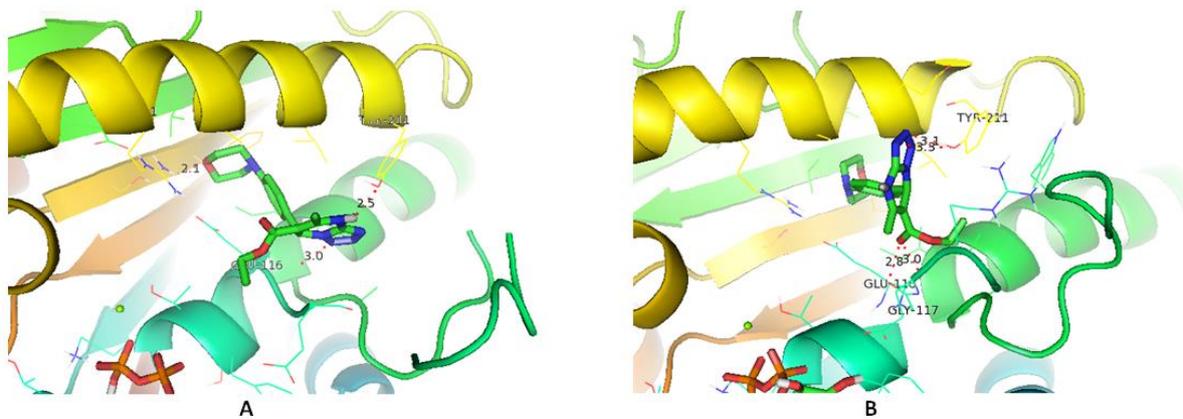
Analisis berikutnya dilakukan untuk menentukan potensi aktivitas antikanker senyawa MDP. Protein yang digunakan adalah Kinesin Eg5 (PDB ID: 1Q0B). Kinesin Eg5 termasuk dalam protein motor *spindle* yang berperan pada proses mitosis. Protein Kinesin Eg5 menjadi target yang spesifik untuk terapi penyakit kanker. Senyawa obat berperan untuk menghambat proses mitosis sel kanker sehingga menyebabkan kematian sel kanker itu sendiri dengan cara apoptosis (Guido *et al.*, 2015).

Eksperimen *docking* ligan MDP menggunakan hasil validasi *docking* yang telah didapatkan dengan nilai RMSD yang sebesar 0,44 Å. Hasil *docking* senyawa MDP dengan protein Kinesin Eg5 ditampilkan pada Tabel 1. Selanjutnya hasil *docking* senyawa MDP dibandingkan dengan *native ligan* yaitu

senyawa *S*-monastrol. Nilai binding energy *S*-monastrol hasil *redocking* sebesar -6,41 kkal/mol, sedangkan *docking* senyawa *R*-MDP dan *S*-MDP sebesar -6,44 kkal/mol dan -7,15 kkal/mol. Visualisasi 2D dan 3D interaksi hasil *docking* senyawa MDP dengan Kinesin Eg5 ditampilkan pada Gambar 4 dan 5. Ikatan hidrogen terjadi antara ligan MDP dengan residu asam amino Glu116, Gly117, Tyr211, Arg22. Konstanta inhibisi *native ligan* *S*-monastrol hasil *redocking* sebesar 20,11µM, *docking* ligan *R*-MDP dan *S*-MDP berturut-turut sebesar 19,05 µM dan 5,77 µM. Berdasarkan hasil *docking* tersebut, senyawa MDP dapat dikatakan memiliki potensi yang baik sebagai antikanker, efektifitasnya juga terlihat lebih baik dibandingkan senyawa *S*-monastrol.



Gambar 4. Visualisasi 2D interaksi ligan *R*-MDP(A) dan *S*-MDP(B) dengan reseptor Kinesin Eg5



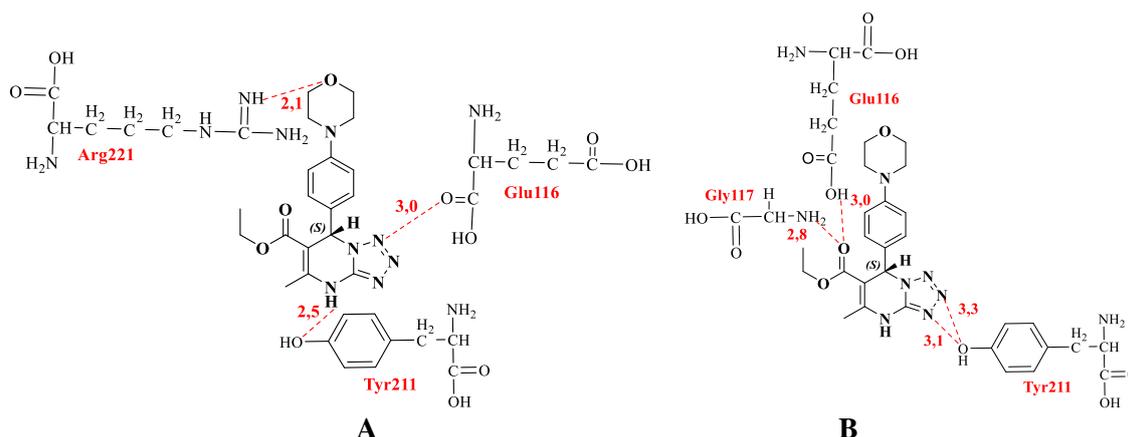
Gambar 5. Visualisasi 3D interaksi ligan *R*-MDP(A) dan *S*-MDP(B) dengan reseptor Kinesin Eg5

Docking ligan MDP sebagai antihiperurisemia

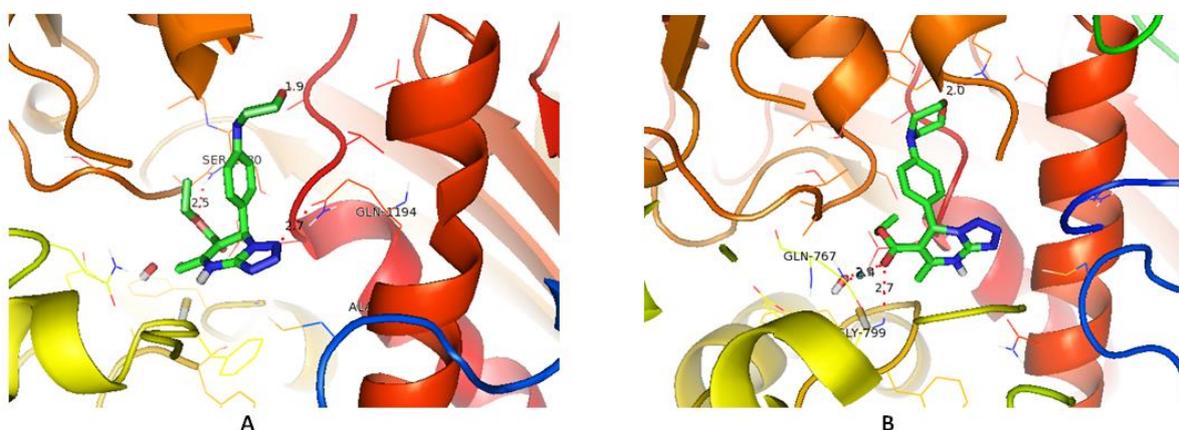
Eksperimen *docking* ligan MDP terhadap reseptor XOD (PDB ID: 3BDJ). Protein XOD berperan penting pada metabolisme purin dalam tubuh manusia. Protein XOD akan mengoksidasi hipoxantin menjadi xantin. Xantin yang terbentuk kemudian di oksidasi lagi dengan XOD membentuk asam urat (Maiuolo *et al.*, 2016). Oleh karena itu, protein XOD dijadikan target yang tepat untuk terapi hiperurisemia

Docking ligan MDP dilakukan dengan menggunakan parameter *docking* dengan nilai RMSD 0,52 Å. Nilai *binding energy* yang didapatkan ditampilkan pada Tabel 1. Terbentuknya ikatan hidrogen antara ligan MDP dengan reseptor mempengaruhi aktivitas yang dihasilkan. Interaksi ligan MDP dengan reseptor XOD dapat dilihat pada Gambar 4.

Selanjutnya hasil *docking* senyawa MDP dibandingkan dengan *native ligan* yaitu senyawa oxipurinol. Hasil *redocking* senyawa oxipurinol memberikan nilai *binding energy* sebesar -5,24 kkal/mol, sedangkan *docking* senyawa *R*-MDP dan *S*-MDP sebesar -6,12 kkal/mol dan -8,33 kkal/mol. Visualisi 2D dan 3D interaksi hasil *docking* senyawa MDP dengan XOD ditampilkan pada Gambar 6 dan 7. Ikatan hidrogen yang terbentuk antara ligan MDP dengan XOD pada residu asam amino Gln767, Gly799, Lys1045, Ser1080, Gln1194. Konstanta inhibisi *native ligan* oxipurinol hasil *redocking* sebesar 144,05µM, *docking* ligan *R*-MDP dan *S*-MDP berturut-turut sebesar 32,87 µM dan 0,79 µM. Berdasarkan hasil *docking* tersebut senyawa MDP memiliki potensi yang baik sebagai antihiperurisemia, ektifitas senyawa MDP juga terlihat lebih baik dibandingkan senyawa oxipurinol.



Gambar 6. Visualisasi 2D interaksi ligan *R*-MDP(A) dan *S*-MDP(B) dengan reseptor XOD



Gambar 7. Visualisasi 3D interaksi ligan *R*-MDP(A) dan *S*-MDP(B) dengan reseptor XOD

Analisis data hasil *docking*

Hasil yang didapat dari proses *docking* berupa nilai *binding energy* dan konstanta inhibisi yang dipengaruhi karena terbentuknya ikatan hidrogen. Ikatan hidrogen yang semakin

banyak akan menaikkan kestabilan dari suatu kompleks, sehingga nilai *binding energy* semakin rendah dan kompleks yang terbentuk semakin stabil serta konstanta inhibisinya juga semakin rendah.

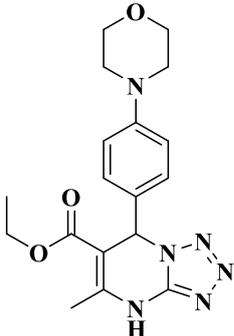
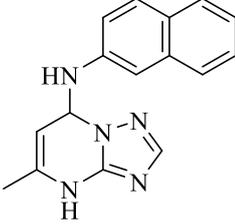
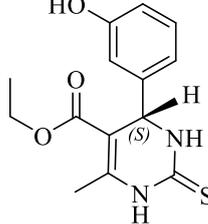
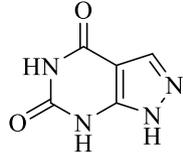
Tabel 1. Perbandingan hasil *docking* ligan MDP dengan *native ligan* terhadap masing-masing reseptor

Reseptor	Ligan	<i>Binding Energy</i> (kcal/mol)	Konstanta inhibisi (μM)	Ikatan Hidrogen dengan Residu Asam Amino
<i>Pf</i> DHODH	JZ8	-9,28	0,16	Gly117, Glu118
	<i>R</i> -MDP	-5,19	155,83	Ile 196
	<i>S</i> -MDP	-5,60	77,95	-
Kinesin Eg5	<i>S</i> -monastrol	-6,41	20,11	Glu116, Glu118
	<i>R</i> -MDP	-6,44	19,05	Glu116, Tyr211, Arg221
	<i>S</i> -MDP	-7,15	5,77	Glu116, Gly117, Tyr211
XOD	Oxipurinol	-5,24	144,05	Glu802, Arg880, Thr1010, Ala1079, Glu126
	<i>R</i> -MDP	-6,12	32,87	Lys1045, Ser1080, Gln1194
	<i>S</i> -MDP	-8,33	0,79	Gln767, Gly799, Lys1045

Berdasarkan hasil *docking* tersebut diperoleh nilai *binding energy* yang bernilai negatif atau rendah. Nilai negatif tersebut menunjukkan terbentuknya kompleks ligan dengan reseptor terjadi secara spontan. Secara umum dapat dikatakan bahwa ligan MDP memiliki potensi sebagai antimalaria, antikanker, dan antihiperurisemia. Hal ini juga dapat dihubungkan dengan kemiripan struktur ligan MDP dengan *native ligan* pada masing-

masing reseptor. Perbandingan struktur ligan MDP dan *native ligan* ditampilkan pada Tabel 2. Nilai *binding energy* yang didapatkan antara ligan dengan reseptor paling rendah pada saat ligan MDP berinteraksi dengan reseptor XOD sebesar $-8,33$ kkal/mol dengan konstanta inhibisi $0,79\mu\text{M}$. Hal ini menunjukkan bahwa kestabilan kompleks ligan MDP-reseptor XOD yang paling baik dan paling stabil.

Tabel 2. Perbandingan struktur ligan MDP dengan *native ligan*

MDP (Suwito <i>et al.</i> , 2018)	JZ8 (Deng <i>et al.</i> , 2009)	S-monastrol (Yan <i>et al.</i> , 2004)	Oxipurinol (Okamoto <i>et al.</i> , 2008)
			

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian menggunakan studi *in silico* terhadap senyawa etil 5-metil-7-(4-morfolinofenil)-4,7-dihidrotetrazolo[1,5-a]pirimidin-6-karboksilat (MDP) dapat disimpulkan bahwa senyawa tersebut memiliki potensi sebagai antimalaria, antikanker, dan antihiperurisemia. Aktivitas farmakologi yang paling potensial sebagai antihiperurisemia dengan nilai *binding energy* sebesar $-8,33$ kkal/mol dengan konstanta inhibisi $0,79\mu\text{M}$.

DAFTAR PUSTAKA

- Castro-Alvarez, A., Costa, A. M., & Vilarrasa, J. 2017. The Performance of several docking programs at reproducing protein-macrolide-like crystal structures. *Molecules*. 22(1): 136.
- Deng, X., Gujjar, R., El Mazouni, F., Kaminsky, W., Malmquist, N. A., Goldsmith, E. J., Rathod, P. K., & Phillips, M. A. 2009. Structural plasticity of malaria dihydroorotate dehydrogenase allows selective binding of diverse chemical scaffolds. *J. Biol. Chem.* 284(39): 26999–27009.
- Guido, B. C., Ramos, L. M., Nolasco, D. O., Nobrega, C. C., Andrade, B. Y., Pic-Taylor, A., Neto, B. A., & Corrêa, J. R. 2015. Impact of kinesin Eg5 inhibition by 3,4-dihydropyrimidin-2(1H)-one derivatives on various breast cancer cell features. *BMC Cancer*. 15(1): 283.
- Hou, X., Chen, X., Zhang, M., & Yan, A. 2016. QSAR study on the antimalarial activity of Plasmodium falciparum dihydroorotate dehydrogenase (PfDHODH) inhibitors. *SAR QSAR Environ. Res.* 27(2): 101–124.
- Kamal, A., Dastagiri, D., Janaki Ramaiah, M., Surendranadha Reddy, J., Vijaya Bharathi, E., Kashi Reddy, M., Victor Prem Sagar, M., Lakshminarayan Reddy, T., Pushpavalli, S. N. C. V. L., & Pal-Bhadra, M. 2011. Synthesis and apoptosis inducing ability of new anilino substituted pyrimidine sulfonamides as potential anticancer agents. *Eur. J. Med. Chem.* 46(12): 5817–5824.
- Maiuolo, J., Oppedisano, F., Gratteri, S., Muscoli, C., & Mollace, V. 2016. Regulation of uric acid metabolism and excretion. *Int. J. Cardiol.* 213: 8–14.
- Meng, X.-Y., Zhang, H.-X., Mezei, M., & Cui,

- M. 2012. Molecular Docking: A Powerful Approach for Structure-Based Drug Discovery. *Current Computer Aided-Drug Design*. 7(2): 146–157.
- Okamoto, K., Eger, B. T., Nishino, T., Pai, E. F., & Nishino, T. 2008. Mechanism of inhibition of xanthine oxidoreductase by allopurinol: Crystal structure of reduced bovine milk xanthine oxidoreductase bound with oxipurinol. *Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids*. 27(6–7): 888–893.
- Rath, O., & Kozielski, F. 2012. Kinesins and cancer. *Nature Reviews Cancer*. 12(8): 527–539.
- Scapin, E., Frizzo, C. P., Rodrigues, L. V., Zimmer, G. C., Vaucher, R. A., Sagrillo, M. R., Giongo, J. L., Afonso, C. A. M., Rijo, P., Zanatta, N., Bonacorso, H. G., & Martins, M. A. P. 2017. Synthesis, antimicrobial activity and cytotoxic investigation of novel trifluoromethylated tetrazolo[1,5-a]pyrimidines. *Medicinal Chemistry Research*. 26(3): 640–649.
- Singh, A., Maqbool, M., Mobashir, M., & Hoda, N. 2017. Dihydroorotate dehydrogenase: A drug target for the development of antimalarials. *Eur. J. Med. Chem.* 125: 640–651.
- Suwito, H., Kurnyawaty, N., Ul Haq, K., Abdulloh, A., & Indriani, I. 2018. Ethyl 5-methyl-7-(4-morpholinophenyl)-4,7-dihydro-tetrazolo[1,5-a]pyrimidine-6-carboxylate. *Molbank*. (2): M998.
- Wu, L., Liu, Y., & Li, Y. 2018. Synthesis of spirooxindole-O-naphthoquinone-tetrazolo[1,5-a] pyrimidine hybrids as potential anticancer agents. *Molecules*. 23(9): 1–9.
- Yan, Y., Sardana, V., Xu, B., Homnick, C., Halczenko, W., Buser, C. A., Schaber, M., Hartman, G. D., Huber, H. E., & Kuo, L. C. 2004. Inhibition of a Mitotic Motor Protein: Where, How, and Conformational Consequences. *J. Mol. Biol.* 335(2): 547–554.
- Yerragunta, V., Patil, P., Anusha, V., Kumaraswamy, T., Suman, D., & Samhitha, T. 2013. Pyrimidine and Its Biological Activity: A Review. *Pharma Tutor*. 1(2): 39–44.
- Yuriev, E., & Ramsland, P. A. 2013. Latest developments in molecular docking: 2010-2011 in review. *J. Mol. Recognit.* 26(5): 215–239.