

## AKTIVITAS PENGHAMBATAN *IN VITRO* DAN PENAMBATAN MOLEKULAR SENYAWA FLAVONOID PADA *INDUCIBLE NITRIC OXIDE SYNTHASE* : REVIEW

**Recky Patala, Jutti Levita, Tiana Milanda**  
Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran  
Jl. Raya Bandung Sumedang km 21, Jatinangor, 45363  
Email : [Reckyfarmasi@gmail.com](mailto:Reckyfarmasi@gmail.com)

### ABSTRAK

Beberapa flavonoid, termasuk turunan kuersetin, telah dilaporkan menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap *inducible nitric oxide synthase* (iNOS), sebuah isoenzim yang bertanggung jawab dalam pembentukan *nitric oxide* (NO) baik penghambatan secara *in vitro* maupun penambatan molekular. Tujuan dari review ini yaitu untuk mengetahui aktivitas antiinflamasi dari senyawa flavonoid dan beberapa turunan kuersetin pada iNOS dengan metode *in vitro* dan penambatan molekular. Senyawa flavonoid menunjukkan aktivitas sebagai antiinflamasi dalam penghambatan iNOS melalui induksi LPS secara *in vitro* berdasarkan nilai IC<sub>50</sub> rutin, kuersetin, dan kuersetin pentaasetat yang diperoleh yaitu masing-masing  $41.5 \pm 1.8$ ,  $17.1 \pm 0.9$ ,  $8.7 \pm 1.1 \mu\text{M}$ , senyawa tersebut diidentifikasi terhadap sel lisat J774A.1 dan RAW 264.7 menggunakan analisis western blot. Kemudian sepuluh turunan kuersetin digunakan sebagai ligan untuk penambatan molekular. Struktur iNOS diperoleh dari data PDB (<http://www.rcsb.org>) dan studi penambatan dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak penambatan molekular *ArgusDock* dan *GADock*. Hasil penambatan molekular yang diperoleh adalah Energi ikatan bebas Gibbs ( $\Delta G_{\text{bind}}$ ) yang bernilai negatif, hal ini menunjukkan bahwa reaksi ikatan yang terjadi bersifat spontan atau stabil.

**Kata kunci** : Flavanoid, turunan kuersetin, iNOS, antiinflamasi.

### ABSTRACT

*Some flavonoids, including quercetin derivatives, have been reported to exhibit inhibitory activity against inducible nitric oxide synthase (iNOS), an isoenzyme responsible for the formation of nitric oxide (NO) both in vitro inhibition and molecular tethering. The purpose of this review is to determine the antiinflammatory activity of flavonoid compounds and some quercetin derivatives on iNOS by in vitro method and molecular tethering. Flavonoid compounds showed activity as anti-inflammatory in iNOS inhibition through induction of LPS in vitro based on routine IC<sub>50</sub> values, quercetin, and quercetin pentaacetate obtained respectively  $41.5 \pm 1.8$ ,  $17.1 \pm 0.9$ ,  $8.7 \pm 1.1 \mu\text{M}$ , the compound was identified against lysate cells J774A.1 and RAW 264.7 using western blot analysis. Then ten quercetin derivatives are used as ligands for molecular docking. The iNOS structure is derived from the PDB data (<http://www.rcsb.org>) and the tethering study is performed using the ArgusDock and GADock molecular docking software. The result of molecular docking obtained is the negative bonding energy of Gibbs ( $\Delta G_{\text{bind}}$ ), which indicates that the bonding reaction is spontaneous or stable.*

**Key Words** : Flavanoids, quercetin derivatives, iNOS, antiinflammation.

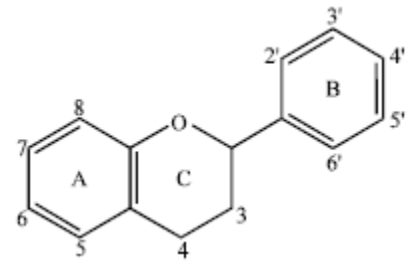
Diserahkan: 23 Mei 2018, Diterima 27 September 2018

### PENDAHULUAN

*nitric oxide* (NO) dihasilkan dari L-arginin dalam jaringan mamalia oleh enzim *Nitric Oxide Synthase* (NOS). Ada tiga

isoenzim NOS, yaitu, *n*NOS (konstitutif dalam jaringan saraf), *e*NOS (konstitutif pada sel endotel vaskular) dan *i*NOS (diinduksi oleh sitokin dalam makrofag dan hepatosit)

(Knowles dan Moncada, 1994). Ekspresi konstitutif *e*NOS dan *n*NOS bertanggung jawab untuk kadar fisiologis rendah NO, sedangkan jumlah yang lebih besar dari NO diproduksi oleh *i*NOS. *i*NOS diinduksi oleh produk mikroba, seperti lipopolisakarida (LPS) dan sitokin inflamasi seperti *interleukin-1* (IL-1), *tumor necrosis factor- $\alpha$*  (TNF- $\alpha$ ) dan *interferon- $\gamma$*  (INF- $\gamma$ ) dalam makrofag dan beberapa sel-sel lain (Hamalainen *et al.*, 2007). Produksi NO meningkat pada respon terhadap rangsangan inflamasi dan memediasi efek destruktif (Korhonen *et al.*, 2005). Karena pentingnya NO yang berasal dari *i*NOS pada respon peradangan, ada beberapa upaya penelitian untuk menemukan selektif inhibitor *i*NOS. Senyawa ekspresi penghambatan atau aktivitas *i*NOS diusulkan menjadi potensi sebagai agen anti-inflamasi (Knowles dan Moncada, 1994). Flavonoid (Gambar 1.) adalah kelompok alami senyawa poli fenolik yang tersebar di berbagai tanaman, mengandung dua cincin benzena dihubungkan bersama-sama dengan *pyran* heterosiklik atau cincin *pyrone* dan banyak ditemukan dalam buah-buahan dan sayuran. Senyawa ini banyak menunjukkan aktivitas farmakologi dan sifat terapeutik termasuk antioksidan, antikanker dan anti inflamasi.



**Gambar 1.** Struktur umum flavonoid

Flavonoid telah dikenal untuk menunjukkan potensi manfaat kesehatan (Hamalainen *et al.*, 2007). Beberapa flavonoid telah dilaporkan memiliki sifat anti inflamasi dengan menghambat *i*NOS dalam medium kultur yang dirangsang Lipopolisakarida (LPS), yaitu, kuersetin, kuersetin pentaasetat, apigenin, rutin, galangin, silimarin dan naringenin (Mattace *et al.*, 2001; Chau chen *et al.*, 2001). Kuersetin (3,3', 4', 5,7-pentahydroxyflavon) adalah flavonoid yang sesuai untuk dipilih sebagai senyawa utama untuk pengembangan agen anti inflamasi, karena selain efek anti inflamasi, kuersetin juga menunjukkan efek pelindung dalam saluran pencernaan (Morikawa *et al.*, 2003;Coskun *et al.*, 2004). Namun, penggunaan klinis dengan menggunakan kuersetin dibatasi oleh bioavailabilitas rendah oral (Peng *et al.*, 2008). Dengan demikian, modifikasi molekul kuersetin diperlukan untuk meningkatkan bioavailabilitas oral dan meningkatkan sifat farmakologinya.

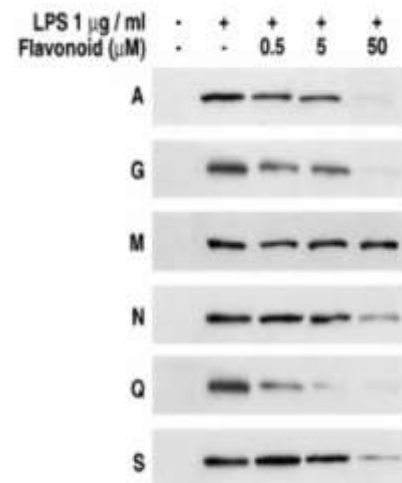
Biologi komputasi dan bioinformatika berpotensi tinggi dalam ilmu kimia medisinal, tidak hanya mempercepat proses

penemuan obat tetapi juga mengubah cara penemuan dan perancangan obat. *Rational Drug Design* (RDD) memfasilitasi dan mempercepat proses rancangan obat, yang melibatkan berbagai metode untuk mengidentifikasi senyawa baru. Salah satu contoh metode yang digunakan adalah penambatan molekular obat dengan enzim reseptor yang sering disebut *molecular docking* (Ramya, 2011). Penambatan molekular adalah alat dalam biologi molekular struktural dan penemuan obat berbasis struktur. Tujuan dari penambatan ligan-protein adalah untuk memahami dan memprediksi pengenalan molekular, menemukan kemungkinan mode ikatan dan memprediksi afinitas pengikatan (Morris dan Lim-Wilby, 2008).

#### AKTIVITAS PENGHAMBATAN INOS SECARA *IN VITRO*

Untuk mendapatkan data studi penghambatan *iNOS* secara *in vitro* sebagai bahan *review* jurnal, penulis melakukan teknik pengumpulan data penelitian berdasarkan studi literatur yang telah

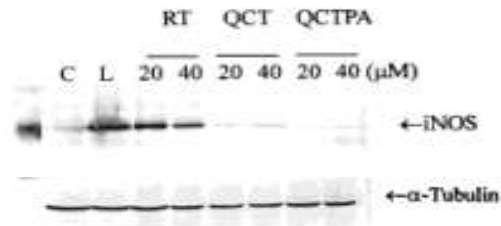
dipublikasikan sebelumnya. Literatur yang digunakan adalah artikel dan jurnal penelitian tahun (2000-2010) yang diperoleh melalui publikasi pada beberapa situs *online Google Scholar*, seperti Pubmed, Elsevier dan NCBI.



**Gambar 2.** Analisis western blot yang menunjukkan perubahan senyawa flavonoid pada ekspresi *iNOS* yang diinduksi oleh LPS (1 µg/ml) pada sel lisat J774A.1 dengan konsentrasi (0,5-50 µM) Flavonoid (A untuk apigenin, G untuk galangin, M untuk morin, N untuk naringenin, Q untuk kuersetin, dan S untuk silimarin).

**Tabel 1.** Persen penghambatan ekspresi *iNOS* dengan peningkatan konsentrasi flavonoid pada makrofag yang dirangsang dengan LPS (1µg/ml). Analisis densitometrik dilakukan pada setidaknya tiga imunoblot berbeda. Persentase penghambatan dinyatakan sebagai mean ± SEM.

Flavanoid	% Penghambatan <i>iNOS</i>		
	0.5 µM	5 µM	50 µM
Apigenin	47.80 ± 1.47	55.74 ± 2.27	88.75 ± 6.33
Galangin	47.57 ± 2.28	60.30 ± 6.67	97.20 ± 2.09
Morin	0	2.26 ± 0.74	8.43 ± 1.78
Naringenin	4.75 ± 1.38	28.52 ± 3.25	72.80 ± 3.78
Kuersetin	59.33 ± 1.20	91.36 ± 2.18	96.50 ± 2.23
Silimarin	1.08 ± 0.65	15.53 ± 2.44	79.11 ± 2.11



**Gambar 3.** Penghambatan ekspresi *i*NOS yang diinduksi oleh LPS pada sel lisat RAW 264.7 makrofag oleh senyawa flavanoid rutin (RT), kuersetin (QCT), dan Kuersetin pentaasetat (QCTPA) dengan masing-masing konsentrasi 20 dan 40  $\mu$ M., C: kontrol; L: *LPS-treated*.

**Tabel 2.** Efek Rutin, Kuersetin, dan Kuersetin Pentaasetat pada aktivitas *i*NOS oleh Uji Aktivitas Enzim Langsung sel lisat RAW 264.7.

Pra perlakuan sel sebelum lisis	Penambahan pada lisat	Aktivitas spesifik <i>i</i> NOS : Formasi NO ( $\mu$ M/200 $\mu$ g total protein) <sup>a</sup>
<i>None</i>	DMSO	0.9 $\pm$ 0.3
LPS (100ng/ml), 12 jam	DMSO	7.3 $\pm$ 0.8
	Rutin	
	20 $\mu$ M	7.4 $\pm$ 0.7
	40 $\mu$ M	7.2 $\pm$ 0.1
	Kuersetin	
	20 $\mu$ M	8.7 $\pm$ 1.3
	40 $\mu$ M	7.9 $\pm$ 0.4
	Kuersetin pentaasetat	
	20 $\mu$ M	6.8 $\pm$ 0.2
	40 $\mu$ M	6.9 $\pm$ 0.6
	N-nitro-L-arginin	
	4 mM	4.6 $\pm$ 0.4**
	N-nitro-L-arginin Metil ester	
	4 mM	4.3 $\pm$ 0.3**

Nilai a diperoleh dari tiga eksperimen terpisah dan digambarkan sebagai mean  $\pm$  SEM. Setiap senyawa yang ditunjukkan ditambahkan ke dalam sel lisat (200 mg) dari perlakuan LPS RAW 264.7 aktivitas makrofag dan *i*NOS diukur.

\*\* P <0,01, berbeda nyata dengan LPS saja, dianalisis dengan uji t Student.

Flavanoid menunjukkan keragaman struktural yang sangat luas, lebih dari 4000 flavanoid yang berbeda telah diidentifikasi dari berbagai tanaman. Senyawa tersebut memiliki efek yang spesifik terhadap berbagai enzim yang dapat mengganggu berbagai proses seluler, termasuk pertumbuhan dan diferensiasi. (Di Carlo *et al.*, 1999; Brandi, 1992). Menurut Van Acker *et al.*, (1995), Aktivitas antiinflamasi

dari senyawa flavonoid dikenal sebagai penangkal radikal bebas yang sangat baik dan juga sebagai penangkal *Nitric oxide* (NO) yang sangat manjur. Prostaglandin dan biosintesis NO yang terlibat dalam reaksi peradangan dan respon imun dan isoform induksi NOS bertanggung jawab pada produksi sejumlah mediator proinflamasi tersebut. Selain itu LPS merangsang sel inang, terutama

monosit/makrofag untuk menghasilkan dan melepaskan NO dengan menginduksi protein *i*NOS yang dihasilkan dalam sitotoksitas. Moroney, (1988), menyatakan bahwa flavonoid juga dapat menghambat metabolisme asam arakidonat. Flavonoid yang paling aktif yang telah diidentifikasi adalah kuersetin dan apigenin. Studi yang dilakukan oleh Chan *et al.*, (1997), menemukan bahwa kuersetin memiliki aktivitas penghambatan pada NO dan TNF- $\alpha$  yang diproduksi oleh makrofag induksi oleh LPS dan apigenin secara signifikan menghambat edema yang disebabkan oleh minyak kroton dan aktivitas ini mungkin disebabkan oleh penghambatan langsung pada metabolisme arakidonat. Studi lain yang dilakukan oleh Liang *et al.*, (1999) melaporkan bahwa apigenin mengurangi ekspresi *i*NOS dan kuersetin menghambat *i*NOS. Sehingga dari hasil penelitian ini yang telah dilakukan apigenin, rutin, kuersetin pentasetat, kuersetin dan galangin efektif menghambat secara signifikan tidak hanya produksi NO dan PGE<sub>2</sub> (prostaglandin) tetapi juga ekspresi *i*NOS yang diaktivasi oleh LPS sel silat makrofag J774A.1 dan RAW 264.7. Temuan tersebut menunjukkan bahwa

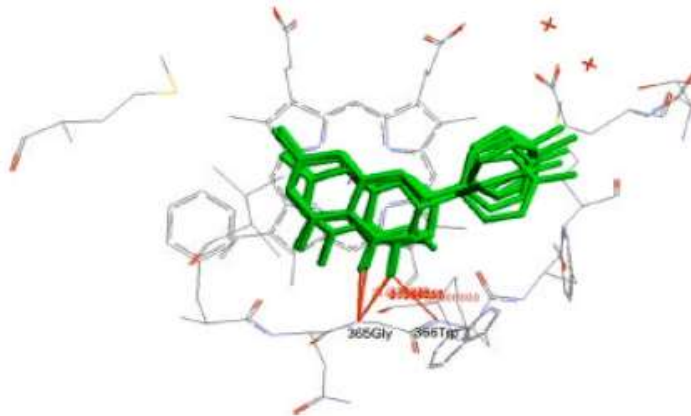
beberapa senyawa flavonoid tersebut dapat melindungi secara *in vitro* terhadap respon yang diinduksi oleh endotoksin dengan menghambat langsung L-arginin melalui jalur NO.

### AKTIVITAS PENAMBATAN MOLEKULAR PADA *i*NOS

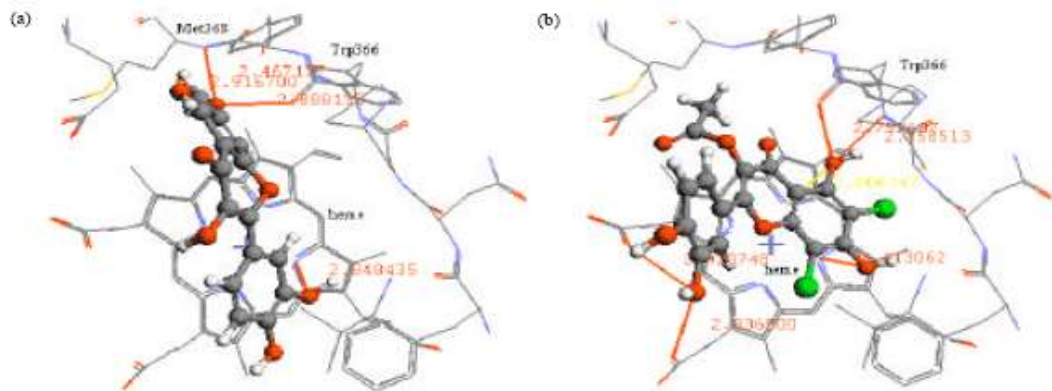
Teknik pengumpulan data untuk studi penambatan molekular yaitu dengan mengambil struktur koordinasi untuk *i*NOS dari RCSB (<http://www.rcsb.org>) Protein Data Bank (PDB ID: 1M9T), di mana domain *inducible NOS oxygenase* dikristalisasi dengan 3-bromo-7-nitroindazole (Rosenfeld *et al.*, 2002). Kemudian membuat struktur 3D, optimasi geometri dan penambatan molekular dari turunan kuersetin menggunakan *free software molecular docking* (penambatan molekular) *ArgusDock* dan *GAdock*. Dari penambatan molekular tersebut maka akan memperoleh nilai afinitas pengikatan yang ditandai dengan nilai energi ikatan bebas Gibbs ( $\Delta G$ ) dan ikatan hidrogen residu asam amino antara ligan dan enzim (ArgusLab 4.0.1, 2004; Oda *et al.*, 2007).



**Gambar 4.** Perbandingan konformasi 3-bromo-7-nitroindazole dari struktur kristal kompleks 3-bromo-7-nitroindazole-*i*NOS (merah) dan dari simulasi penambatan menggunakan program *software* (biru) (Kartasasmita, 2010).

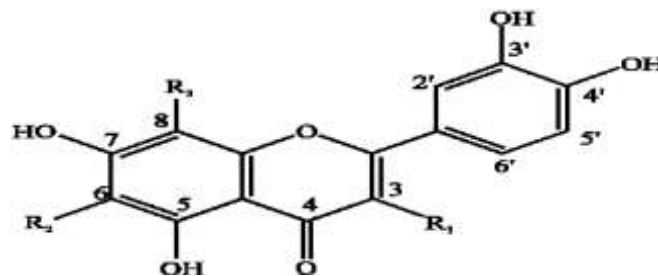


**Gambar 5.** Konformasi pengikatan flavonoid (hijau) pada sisi ikatan *i*NOS. Ikatan hidrogen ditandai dengan garis merah (Kartasasmita, 2010).



**Gambar 6.** (a) Interaksi kuersetin dan (b) 6,8-dichloroquercetin-3-*O*-acetate pada sisi ikatan *i*NOS (Kartasasmita, 2010).

**Tabel 3.** Struktur turunan kuersetin, energi ikatan Gibbs  $\Delta G_{\text{bind}}$  penghambatan pada *i*NOS (Kartasasmita, 2010).



Nama	Substituen			$\Delta G$ (Kkal mol <sup>-1</sup> )
	3	6	8	
Kuersetin	H	H	H	-9.78
Kuersetin-3-O-asetat	O-CO-CH <sub>3</sub>	H	H	-10.92
3-O-Metil-kuersetin	CH <sub>3</sub>	H	H	-7.49
6-klorokuersetin	H	Cl	H	-8.92
6,8-diklorokuersetin	H	Cl	Cl	-10.46
3-O-asetat				
3-O-metil-1-6,				
8-O-diklorokuersetin	CH <sub>3</sub>	Cl	Cl	-9.16
6-bromokuersetin	H	Br	H	-8.28
6,8-dibromokuersetin	H	Br	Br	-7.77
6-bromokuersetin-	O-CO-CH <sub>3</sub>	Br	H	-10.23
3-O-asetat				
3-O-metil 1-6-	CH <sub>3</sub>	Br	H	-8.88
bromokuersetin				

Secara umum, flavonoid terdiri dari 2 cincin benzena (A dan B), yang dihubungkan oleh sebuah cincin *pyrane* mengandung oksigen (C). Struktur X-ray 3-bromo-7-nitroindazole, sebuah *i*NOS inhibitor, menunjukkan bahwa cincin aromatik dari 3-bromo-7-nitroindazole mengikat kantung heme *i*NOS. Selain itu, bagian nitro membentuk ikatan hidrogen dengan gugus amida dari Met368. Flavonoid dapat menambat sama sebagai 3-bromo-7-nitroindazole dengan bagian planar cincin A flavonoid berorientasi terhadap bidang heme *i*NOS. Menurut Rosenfeld *et al.*, (2002),

ketika terikat NOS, sistem planar menunjukkan afinitas tinggi dibandingkan dengan sistem nonplanar. Kelompok karbonil flavonoid membentuk ikatan hidrogen dengan kelompok amida dari Gly365 dan Trp366.

Studi sebelumnya yang dilakukan oleh Francis *et al.*, (2008), menggambarkan interaksi ligan pada *i*NOS, dimana sisi aktif dari NOS terdiri dari empat kantung, yaitu substrat yang mengikat kantung S, kantung tengah M, kantung C<sub>1</sub> dan kantung C<sub>2</sub> pada akses kanal substrat. Residu Trp372 dan Glu377 dalam kantung S (*i*NOS) menjadi residu utama dengan substrat (L-arginin)

membentuk ikatan hidrogen. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa flavonoid membentuk ikatan hidrogen dengan residu Gly365 dan Trp366. Namun, ada perbedaan struktural yang jelas antara L-arginin dan flavonoid sebagai ligan karena menyebabkan berbagai residu asam amino dari iNOS dalam interaksi tersebut. Berdasarkan studi dari interaksi antara flavonoid dan sisi ikatan iNOS, afinitas turunan kuersetin pada sisi ikatan iNOS diprediksi. Diperoleh bahwa nilai energi ikatan dari *quercetin-3-O-acetate*, *6,8-dichloroquercetin-3-O-acetate* dan *6-bromoquercetin-3-O-acetate* lebih rendah dari kuersetin, menunjukkan bahwa senyawa ini memiliki afinitas tinggi pada sisi ikatan iNOS dari kuersetin.

### KESIMPULAN

Dari beberapa hasil studi penghambatan dari aktivitas senyawa flavonoid dan turunan kuersetin terhadap iNOS baik secara studi *in vitro* maupun secara *molecular docking* (penambatan molekular) dapat disimpulkan bahwa beberapa senyawa flavonoid yang telah diidentifikasi serta beberapa turunan senyawa kuersetin secara signifikan berpotensi sebagai antiinflamasi pada ekspresi iNOS yang diinduksi oleh LPS dan berdasarkan ikatan hidrogen Gly365 dan Trp366 pada residu asam amino dan energi ikatan Gibbs  $\Delta G_{\text{bind}}$  yang dihasilkan.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran yang telah memfasilitasi dalam pembuatan *review* ini. Terima kasih juga kepada Prof. Dr. Anas Subarnas, M.Si., Apt. yang telah membantu dalam proses pembuatan *review* ini sehingga dapat terselesaikan tepat pada waktunya.

### DAFTAR PUSTAKA

- ArgusLab 4.0.1. (2004). *Software Planaria LLC*, Seattle.
- Brandi, M., L. (1992). *Flavonoids: biochemical effects and therapeutic applications*, Bone Miner, 19, S3–14.
- Chan, M. M., Fong, D., Ho, T., Huang, H. (1997). *Inhibition of inducible nitric oxide synthase gene expression and enzyme activity by epigallocatechin gallate a natural product from green tea*, Biochem Pharmacol, 54, 1281–1286.
- Chen, Y., C., S., C. Shen, W., R. Lee, W., C. Hou, L., L. Yang. and T., J., F., Lee. (2001). *Inhibition of nitric oxide synthase inhibitors and lipopolysaccharide induced inducible NOS and cyclooxygenase-2 gene expressions by rutin, quercetin and quercetin pentaacetate in RAW 264.7 macrophages*, J. Cell. Biochem., 82, 537–548.
- Coskun, O., M. Kanter, F. Armutcu, K. Cetin, B. Kaybolmaz and O. Yazgan, (2004). *Protective effects of quercetin, a flavonoid antioxidant, in absolute ethanol-induced acute gastric ulcer*, Eur. J. Gen. Med, 1, 37–42.
- Di Carlo, G., Mascolo, N., Izzo, A., A., Capasso, F. (1999). *Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic*, Drugs Life Sci:65, 337–353.
- Francis, S., M., A., Mittal, M., Sharma and P., V., Bharatam. (2008). *Design of Benzene-1,2-diamines as selective*



- inducible nitric oxide synthase inhibitors: A combined de novo design and docking analysis*, J. Mol. Model., 14, 215-224.
- Hamalainen, M., R. Nieminen, P., Vuorela, M., Heinonen and E. Moilanen, (2007). *Anti-inflammatory effects of flavonoids: Genistein, kaempferol, quercetin, and daidzein inhibits STAT-1 and NF-KB activation, whereas flavone, isorhamnetin, naringenin, and pelargonidin inhibit only NF-KB activation along with their inhibitory effect on iNOS expression and NO production in activated macrophages*, Mediators Inflamm, 1-10.
- Knowles, R., G., dan S., Moncada. (1994). *Nitric oxide synthase in mammal*, Biochem. J., 298: 249-258.
- Korhonen, R., A., Lahti, H. Kankaanranta and E. Moilanen. (2005). *Nitric oxide production and signaling in inflammation*, Curr. Drug Targets Inflamm, Allergy, 4, 471-479.
- Liang, Y., C., Huang, Y., T., Tsai, S., H., Lin-Shiau, S., Y., Chen, C., F., Lin, J., K. (1999). *Suppression of inducible cyclooxygenase and nitric oxide synthase by apigenin and related flavonoids in mouse macrophages*, Carcinogenesis, 20, 1945-1952.
- Mattace, G., R., Meli, R., Di Carlo, G., Pacilio, M., Di Carlo, R. (2001). *Inhibition of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 expression by flavonoids in macrophage J774A*, Life Sciences 68, 921-931.
- Morris, G., M., and M, Lim-Wilby. (2008). *Molecular Docking, Methods in Molecular Biology. In: Molecular Modeling of Proteins*, Kukol, A. (Ed.). Humana Press, Totowa, New Jersey, pp, 365-382.
- Moroney, M., A., Alcaraz, M., J., Forder, R., A., Carey, F., Houlst, J., R., S. (1988). *Selectivity of neutrophil 5-lipoxygenase and cyclo-oxygenase inhibition by an anti-inflammatory flavonoid glycoside and related aglycone flavonoids*, J Pharm Pharmacol, 40, 787-792.
- Morikawa, K., M., Nonaka, M., Narahara, I., Torii and K., Kawaguchi *et al.*, (2003). *Inhibitory effect of quercetin on carrageenan-induced inflammation in rats*, Life Sci., 26, 709-721.
- Oda, A., M., Okayasu, Y., Kamiyama, T., Yoshida, O., Takahashi and H. Matsuzaki (2007). *Evaluation of docking accuracy and investigations of roles of parameters and each term in scoring functions for protein-ligand docking using arguslab software*, Bull. Chem. Soc. Jap., 80, 1920-1925.
- Peng, Y., Z., Deng and C. Whang. (2008). *Preparation and prodrug studies of quercetin pentabenzensulfonate*, Yakugaku Zasshi, 128, 1845-1849.
- Ramya, T., Sri, V., Sathyanathan, Kumar, D., P., Chowdhari M. (2011). *Docking Studies on Synthesized Quinazoline Compounds Against Androgen Receptor*, Int. J. Pharm & Ind. Res 01 (04), 266 - 269.
- R., E., Kartasmita, R., Herowati and T. Gusdinar. (2010). *Docking Study of Quercetin Derivatives on Inducible Nitric Oxide Synthase and Prediction of their Absorption and Distribution Properties*, Journal of Applied Sciences, 10, 3098-3104.
- Rosenfeld, R., J., E., D., Garcin, K., Panda, G., Andersson and A. Aberg *et al.*, (2002). *Conformational changes in nitric oxide synthases induced by chlorzoxazone and nitroindazoles: Crystallographic and computational analyses of inhibitor potency*, Biochemistry, 41, 13915-13925.
- Van, Acker, S., A., Tromp, M., N., Haenen, G., R., Van, Dervijgh, W., J., Bast, A. (1995). *Flavonoids as scavengers of nitric oxide radical*, Biochem Biophys Res Comm, 214, 755-759.