

Potensi Senyawa Hidrazon berbasis Turunan 2-Tiohidantoin dan Hidrazida sebagai Inhibitor Protein E6 pada Kanker Serviks secara *In Silico*

Yusuf Syahril Alam¹; Syafri Izzat Abidiy¹; Triyanda Gunawan¹; Adi Setyo Purnomo¹; Arif Fadlan¹; Fahimah Martak^{1*}

¹Departemen Kimia, Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya

*alamat email korespondensi : fahimahm@chem.its.ac.id

Abstract

Every year, the prevalence of cervical cancer in the world is increasing. Cervical cancer can occur as a result of Human Papillomavirus (HPV) infection. Currently, E6 oncoprotein inhibition targeting tends to be chosen because it is safer and better as a therapeutic agent of cervical cancer. In addition, E6 is also a crucial virus that induces cervical cancer through the inactivation of the p53 protein so that effective materials are needed to inhibit the performance of E6 oncogenes. Hydrazone is a Schiff base compound that has an azomethine group (-NHN=CR-). It is this azomethine group that plays a role in various bioactivity, including antivirals and anticancer. In this study, hydrazone was derived from the derivatives of 2-thiohidantoin and hydrazide. The compound 2-thiohidantoin belongs to the heterocyclic group that plays an important role in drug chemistry such as anticonvulsant, antibacterial, antidiabetic, antiviral and anticancer. Thus, this compound can be an alternative agent for cervical cancer treatment. Before the synthesis of such materials, it is necessary to carry out bioactivity analysis using computing. The study of the in-silico method includes the creation of structures using Avogadro, optimization of molecular geometry using Gaussian 16, as well as the results of ligand-protein interactions (RMSD, KI, Binding Affinity, ADME, Binding Pocket, and Drugability score) using AutoDock 4.2, PyMol, LigPlot, SwissADME, PLIP Tools, and Protein Plus. The results showed that hydrazone compounds derived from 2-thiohidantoin and hydrazide derivatives have the potential to inhibit the E6 protein and can be used as oral drugs..

Keywords: Cancer, Human Papillomavirus, Hydrazone, 2-Tiohidantoin

Abstrak

Setiap tahun, prevalensi penyakit kanker leher rahim di dunia semakin meningkat. Kanker serviks dapat terjadi akibat infeksi Human Papillomavirus (HPV). Saat ini, penargetan penghambatan onkoprotein E6 cenderung dipilih karena lebih aman dan lebih baik sebagai agen terapeutik kanker serviks. Selain itu, E6 juga termasuk virus krusial yang menginduksi kanker serviks melalui inaktivasi protein p53 sehingga diperlukan material yang efektif untuk menghambat kinerja onkogen E6. Hidrazon merupakan senyawa basa Schiff yang memiliki gugus azometin (-NHN=CR-). Gugus azometin inilah yang berperan dalam berbagai bioaktivitas, termasuk antivirus dan antikanker. Pada penelitian ini, hidrazon berasal dari turunan 2-tiohidantoin dan hidrazida. Senyawa 2-tiohidantoin termasuk kelompok heterosiklik yang memainkan peran penting dalam

kimia obat seperti antikonvulsan, antibakteri, antidiabetik, antivirus dan antikanker. Dengan demikian, senyawa ini dapat menjadi agen alternatif pengobatan kanker serviks. Sebelum dilakukan sintesis material tersebut, perlu dilakukan analisis bioaktivitas menggunakan komputasi. Kajian metode in-silico meliputi pembuatan struktur menggunakan Avogadro, optimasi geometri molekul menggunakan Gaussian 16, serta hasil interaksi ligan-protein (RMSD, KI, Binding Affinity, ADME, Binding Pocket, dan Drugability score) menggunakan Autodock Tools, LigPlot, SwissADME, PLIP Tools, dan Protein Plus. Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa hidrazon yang berasal dari turunan 2-tiohidantoin dan hidrazida berpotensi menghambat protein E6 dan dapat digunakan sebagai obat oral.

Kata Kunci: Kanker, Human Papillomavirus, Hidrazon, 2-Tiohidantoin

I. PENDAHULUAN

Setiap tahun, prevalensi penyakit kanker di dunia semakin meningkat, termasuk kanker serviks, dan berada di peringkat 4 sebagai penyebab kematian terbesar pada wanita [1]. Pada tahun 2018, kanker serviks diperkirakan telah menelan sekitar 311 ribu korban (55%) dari 570 ribu penderita [1-3]. Di Indonesia, tercatat ada hampir 22,5 ribu penderita dan 135 ribu prevalensi pada tahun 2017, dimana 9,6 ribu diantaranya berakhir pada kematian [4].

Kanker serviks (leher rahim) merupakan tumor ganas yang disebabkan akibat infeksi persisten/onkogenik Human Papilloma Virus (HPV) [5-8]. Terdapat lebih dari 300 jenis HPV dimana 42 diantaranya yang menjadi penyebab penyakit seksual menular [9-10]. Saat ini, perkembangan kanker serviks disebabkan oleh dua onkogen krusial yakni

protein E6 dan E7. Kedua protein tersebut berperan dalam inaktivasi protein supresor tumor p53 [11]. Dengan demikian, perlu dicari material yang dapat menghambat kinerja dari protein tersebut.

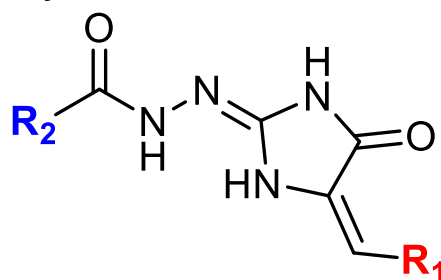
Hidrazon merupakan senyawa organik yang memiliki gugus fungsi azometin (-NH-N=CR-) [12]. Gugus azometin inilah yang berperan dalam berbagai bioaktivitas, termasuk antivirus dan antikanker [11, 13-15]. Sebagai agen antikanker, hidrazon mampu bertindak sebagai penghambat enzim-enzim kinase terutama pada sel genital yang diserang oleh HPV.

Penelitian sebelumnya telah membuktikan bahwa golongan hidrazon mampu bekerja sebagai inhibitor reseptor androgen pada sel kanker prostat "LnCaP" [16], inhibitor tirosin kinase pada sel kanker payudara "SK-BR-3" dan "BT474", serta sel

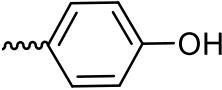
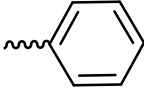
kanker serviks “HeLa” [17-18]. Selain itu, hidrazon juga dapat digunakan sebagai material pembawa obat. Hal ini dikarenakan gugus fotomakofor hidrazon sensitif terhadap pH dan memiliki muatan positif sehingga menghasilkan daya tarik elektrostatik yang kuat terhadap pemuatan inti obat anionik [19]. Dengan demikian, adanya modifikasi ke gugus hidrazon diharapkan akan meningkatkan bioavailabilitas melalui peningkatan laju disolusi obat [20]. Salah satu modifikasi yang dapat diterapkan ke hidrazon yakni melalui 2-thiohidantoin.

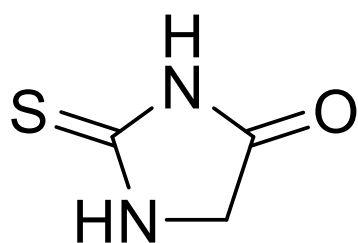
Senyawa 2-thiohidantoin (2-thioxoimidazolidin-4-one) merupakan kelompok heterosiklik yang analog dengan imidazol dimana memainkan peran penting dalam aplikasi kimia obat [11]. Beberapa aktivitas biologis yang telah dilaporkan diantaranya antikanker [21-22], antivirus [23-24], antikonvulsan [25], antimikroba [26], antibakteri, dan antijamur [27], antineuroinflamasi [28], dan antidiabetik [29]. Selain itu, 2-thiohidantoin termasuk prekursor dalam sintesis asam amino [28].

Tabel 1. Ligan Hidrazon yang dikaji secara *In Silico*



No	Kode Senyawa	R ₁	R ₂	Nama IUPAC
1	4OCH ₃ Benz			N'-((E)-4-((E)-4-methoxybenzylidene)-5-oxoimidazolidin-2-ylidene)benzohydrazide
2	4OHBenz			N'-((E)-4-((E)-4-hydroxybenzylidene)-5-oxoimidazolidin-2-ylidene)benzohydrazide
3	HBenz			N'-((E)-4-((E)-benzylidene)-5-oxoimidazolidin-2-ylidene)benzohydrazide
4	4OCH ₃ Acet			N'-((E)-4-((E)-4-methoxybenzylidene)-5-oxoimidazolidin-2-ylidene)acetohydrazide

5	4OHAcet		$\sim \text{CH}_3$	N'-((E)-4-((E)-4-hydroxybenzylidene)-5-oxoimidazolidin-2-ylidene)acetohydrazide
6	HAcet		$\sim \text{CH}_3$	N'-((E)-4-((E)-benzylidene)-5-oxoimidazolidin-2-ylidene)acetohydrazide



2-thiohidantoin

Gambar 1. Kerangka 2-thiohidantoin

Kemampuan aktivitas dari turunan 2-thiohidantoin berasal dari perubahan deskriptor pada atom nitrogen posisi 1 dan 3, atom karbon metilen, serta gugus karbonil dan tioketon [30]. Bagian atom karbon metilen senyawa 2-thiohidantoin dimodifikasi dengan gugus allil yang tergabung dalam kerangka ikatan rangkap terkonjugasi “Benzena” Hal ini akan meningkatkan kepolaran dari senyawa dan sifat elektrofil dari karbon tioketon (C=S). Karbon tersebut menjadi lebih mudah terserang oleh gugus amina dari hidrazida sehingga terbentuk ikatan azometin hidrazon (-C=N-NH-). Berdasarkan paparan tersebut, maka dalam penelitian ini akan dilakukan kajian secara *in silico* mengenai

pengaruh penggantian gugus fotomakofor pada 2-tiohidantoin seperti yang ditunjukkan Tabel 1. Kajian metode *in silico* meliputi pembuatan struktur menggunakan Avogadro, optimasi geometri molekul menggunakan *Gaussian 16*, serta hasil interaksi ligan-protein (RMSD, Ki, Binding Affinity, ADME, dan Drugability score) menggunakan Autodock Tools, Ligplot, SwissADME, PLIP Tools, dan Protein Plus.

II. METODE PENELITIAN

2.1 Spesifikasi Komputer

Penelitian ini menggunakan spesifikasi laptop ASUS TP410U, sistem operasi Windows 10 Home Single Language, prosesor Intel® Core™ i3-7100U CPU @ 2.40 GHz 2.40 GHz, 4.00 GB, 64-bit OS.

2.2 Preparasi Senyawa Ligan

Seluruh senyawa ligan digambar struktur 3D nya melalui Avogadro dan dioptimasi geometri menggunakan basis set 6-31G* dan metode B3LYP, melalui Gaussian16 [31-32]. File disimpan dalam format .pdbqt setelah

dikonversi melalui Software Open Babel versi 3.1.1 [33].

2.3 Preparasi Protein

Protein yang digunakan berupa protein E6 karena termasuk onkogen krusial yang membantu kinerja protein tumor p53 [11]. Protein p53 inilah yang bertanggung jawab atas proliferasi sel pada kanker serviks [34]. Data protein E6 HPV-18 diambil dari RCSB Protein Data Bank (PDB) dengan ID: 6ZFD dan diunduh dalam format .pdb [35]. Proses preparasi protein target dilakukan menggunakan AutoDock 4.2 [36]. Chain A pada protein target dipilih dan molekul pengotor dari protein, berupa air, ligan bawaan, ion-ion bermuatan, dan garam dihilangkan. Proses penghilangan molekul pengotor tersebut dapat saja menyebabkan hilangnya beberapa atom dari residu-residu sehingga perlu dilakukan pemeriksaan atom yang hilang. Langkah terakhir yang harus dilakukan yaitu aktivasi protein dengan menambahkan hydrogen polar dan muatan Kollman [37].

2.4 Molecular Docking

Ukuran grid box diatur sebesar $40 \times 40 \times 40$ [38] dengan grid spacing 0.5 dan disesuaikan pada lokasi sisi aktif dengan koordinat x,y,z yaitu -0.5, -2.5, 1.0. Parameter grid dilakukan agar memetakan batasan sisi protein mana saja

yang dapat berinteraksi/berikatan dengan senyawa ligan. Pada penelitian ini, kami menggunakan *targeted docking*. Sementara itu, parameter docking yang digunakan adalah Lamarckian Genetic Algorithm dengan kriteria number of GA runs sebesar 100 [37], population size sebesar 300, dan maximum number of evals sebesar 250,000. Algoritma ini digunakan dalam proses docking karena terbukti paling efisien dalam menentukan interaksi protein-ligan yang paling stabil. Interaksi yang paling stabil dilihat dari konformasi dengan energi paling rendah [39].

2.5 Visualisasi Hasil dan Studi ADME

Visualisasi hasil docking terbaik dilakukan menggunakan web server Protein-Ligand Interaction Profiler (PLIP) [40] dan LigPlot [41] serta Protein Plus [42-43] untuk menentukan skor *drugability* berdasarkan binding pocket. Sementara itu, studi ADME menggunakan SwissADME [44].

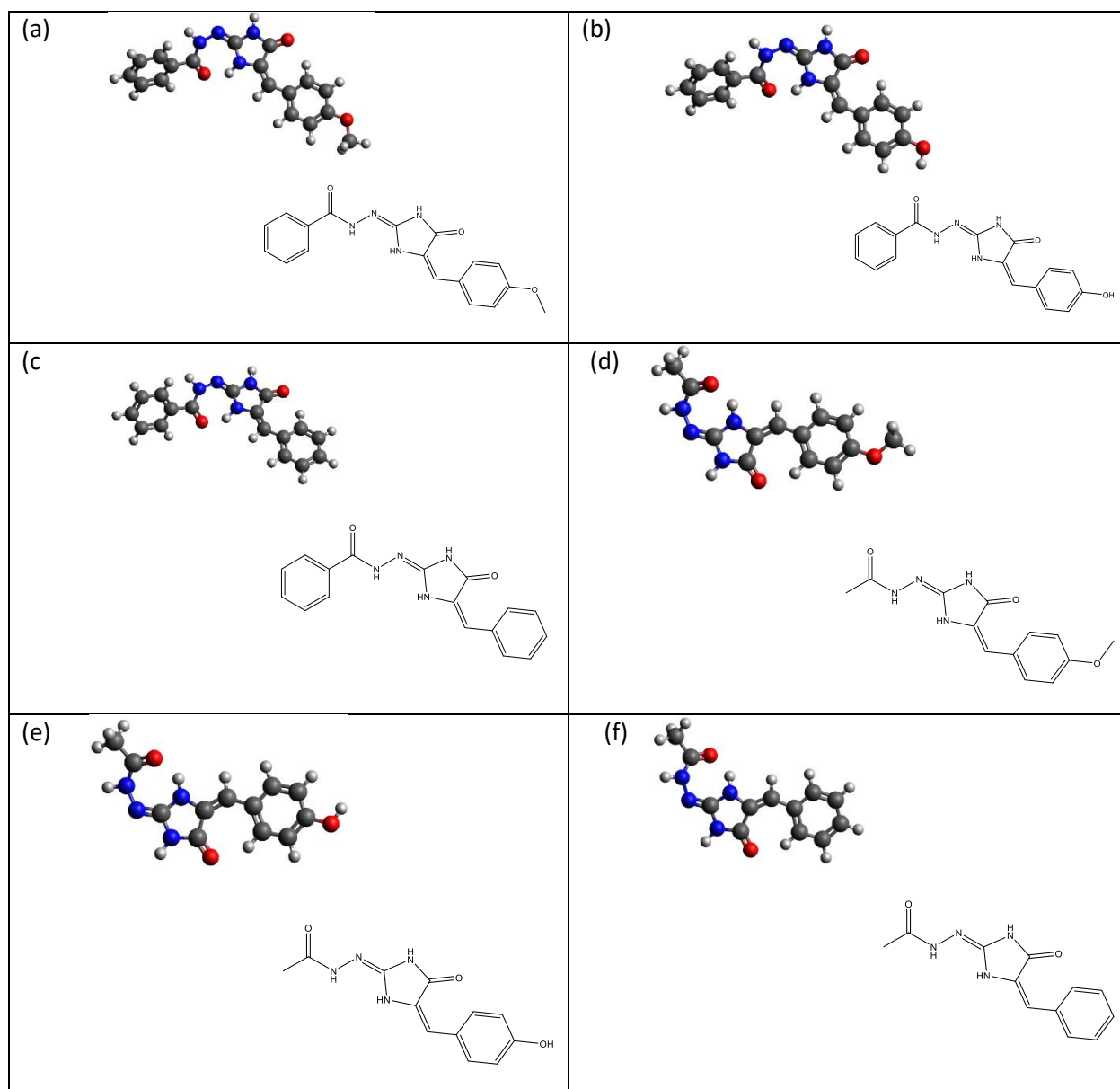
III. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Hasil Optimasi Senyawa Ligan

Preparasi senyawa ligan sebelum memasuki tahap docking, terlebih dahulu dilakukan optimasi geometri menggunakan metode B3LYP dan basis set 6-31G* melalui Gaussian 16. Tahap ini bertujuan agar senyawa ligan yang akan digunakan nantinya dipastikan terlebih dahulu bahwa senyawa

tersebut sudah memiliki total energi minimal pada Tabel 2, sehingga akan lebih mudah berinteraksi dengan protein target [45]. Hasil

optimasi geometri struktur 3D dari senyawa ligan dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Struktur senyawa ligan yang telah dioptimasi geometri (a) 4OCH₃Benz; (b) 4OHBenz; (c) HBenz; (d) 4OCH₃Acet; (e) 4OHAcet; (f) HAacet

Tabel 2. Energi senyawa ligan setelah optimasi geometri

Ligan	Energi (kJ/mol)
4OCH ₃ Benz	-2,995 x 10 ³
4OHBenz	-2,892 x 10 ³
HBenz	-2,694 x 10 ³
4OCH ₃ Acet	-2,491 x 10 ³
4OHAcet	-2,388 x 10 ³
HAcet	-2,190 x 10 ³

3.2 Molecular Docking

Molecular docking dilakukan dengan mengidentifikasi binding site pada protein target sehingga senyawa inhibitor dapat berinteraksi dengan reseptor sesuai skema [46-47]. Studi ini berperan dalam menentukan struktur kompleks ligan-protein yang akan menghasilkan berbagai macam informasi biologi dan kimia. Hal tersebut memungkinkan membantu dalam mengonsolidasi data-data secara eksperimental. Secara mekanisme, protein yang dipilih, E6 pada HPV-18 (ID: 6ZFD) [35], akan menonaktifkan protein p53 melalui degradasi proteasome. Hal tersebut akan memicu kerusakan DNA serta ketidakstabilan kromosom yang sangat mendukung proliferasi sel kanker berkembang biak secara cepat pada leher rahim (serviks) [48]. Ligan-ligan yang digunakan dalam penelitian ini

bertujuan untuk menghambat protein E6 agar tidak menonaktifkan protein p53.

Maka dari itu, studi molecular docking dilakukan agar dapat memberikan informasi-informasi penting seperti pada Tabel 3. Dari keseluruhan hasil docking, didapatkan nilai RMSD $\geq 2\text{\AA}$ yang menunjukkan bahwa hasil ini tidak terlalu akurat disebabkan jarak interaksi ligan-protein tersebut terbilang cukup jauh. Namun, dengan mengesampingkan nilai RMSD maka nilai Ki dapat menjadi pertimbangan sebagai langkah awal dalam melakukan skrining virtual. Nilai Ki berperan dalam proses penghambatan protein E6 pada HPV-18 agar meminimalkan terjadinya penyebaran virus penyebab kanker serviks.

Semakin kecil nilai Ki (konstanta inhibisi) maka semakin kuat interaksi antara ligan dan reseptor (afinitas ikatan) [49]. Dari keseluruhan docking yang dihasilkan, ligan 4OHBenz memiliki nilai Ki terkecil. Hal ini didukung oleh nilai energi afinitas ikatan yang dimiliki oleh ligan 4OHBenz sebesar -7.97 kcal/mol, menunjukkan bahwa ligan 4OHBenz memiliki interaksi yang kuat dengan protein E6 pada HPV-18.

Tabel 3. Informasi yang didapatkan melalui studi molecular docking

No.	Ligan	Run	RMSD (Å)	Afinitas Ikatan (kcal/mol)	Ki (µM)
1.	4OCH ₃ Benz	65	5.766	-7.65	2.45
2.	4OHBenz	12	5.725	-7.97	1.45
3.	HBenz	79	5.337	-7.80	1.92
4.	4OCH ₃ Acet	3	5.482	-7.30	4.45
5.	4OHAcet	73	5.827	-7.45	3.44
6.	HAcet	34	4.167	-7.40	3.78

3.3 Visualisasi Hasil Docking dan Studi ADME

Investigasi interaksi ligan-protein dari keseluruhan hasil studi molecular docking dapat dilakukan dengan beberapa web server dan software yang tersedia untuk memudahkan visualisasinya. Visualisasi LigPlot memberikan interaksi ligan-protein yang dimediasi oleh ikatan hidrogen dan kontak hidrofobik secara 2D [50]. Ikatan hidrogen ditunjukkan oleh garis putus-putus antara atom yang terlibat, sedangkan kontak hidrofobik diwakili oleh busur dengan jari-jari memancar ke arah atom ligan yang mereka hubungi. Gambar 3, 4, dan 5 menunjukkan interaksi ligan-protein secara 2D. PLIP berfungsi untuk memudahkan dalam mengidentifikasi interaksi non-kovalen antara makromolekul biologis dan ligan sehingga dapat memberikan informasi tingkat atom tentang karakteristik pengikatan serta visualisasinya [40].

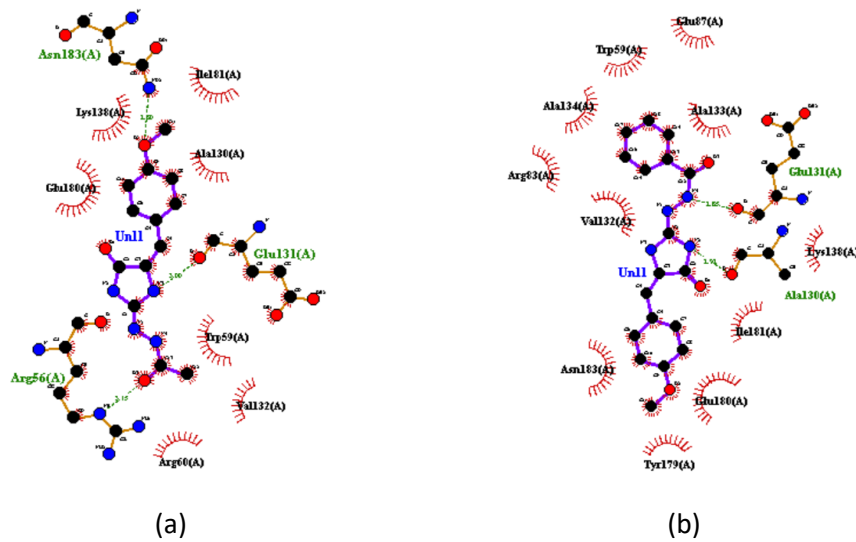
Tabel 4 memberikan informasi perihal jenis interaksi ligan-protein dan residu yang

bertanggung jawab dalam interaksi-interaksi tersebut. Selanjutnya, binding pocket diprediksi melalui web server Protein Plus untuk mengetahui seberapa potensi ligan turunan hidrazon yang telah berada pada binding site guna menghambat protein E6 HPV-18. Gambar 6 menunjukkan binding pocket untuk keseluruhan ligan turunan hidrazon yang ditandai dengan daerah berwarna merah. Daerah tersebut memiliki skor *drugability* sebesar 0.53. Nilai tersebut menunjukkan bahwa ligan hidrazon ini sudah sesuai dengan kriteria ADME yang dapat diterima (> 0,5) [51]. Hasil ini lebih baik dibandingkan penelitian [52] dimana hidrazon yang digunakan berbasis benzohidrazida + 2-hidroksi naftaliden, dengan drug score berkisar 0.27-0.28. Pada penelitian lain dimana hidrazon yang digunakan berbasis hidrazinkarbotioamide + 2-tienil/2,4-diklorofenil benzaldehid, dengan drug score berkisar 0,352-0,5 [53].

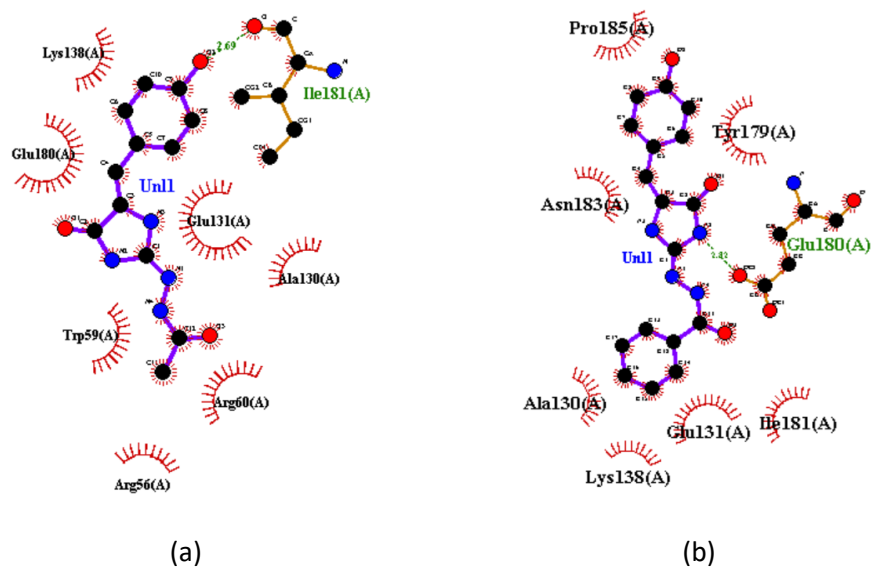
3.4 Profil Fisikokimia

Evaluasi kemiripan sifat obat seperti obat komersil didasarkan oleh aturan Lipinski dengan kriteria bobot molekular < 500 Dalton, donor ikatan hidrogen (HBD) < 5, akseptor ikatan hidrogen (HBA) < 10, koefisien partisi oktanol-air (log P) < 5 [54]. Berdasarkan Tabel 5, seluruh ligan memiliki profil

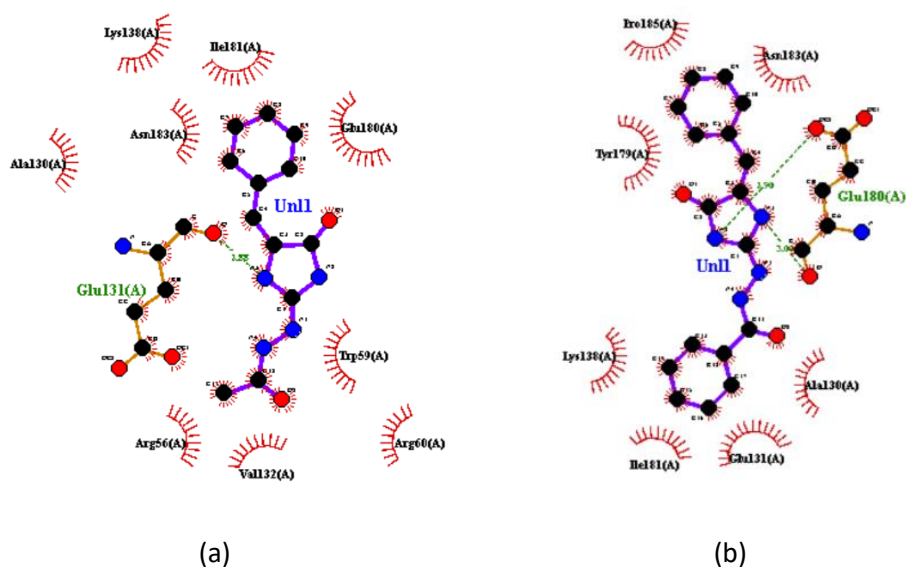
fisikokimia yang bagus. Profil fisikokimia didapatkan melalui web server SwissADME,



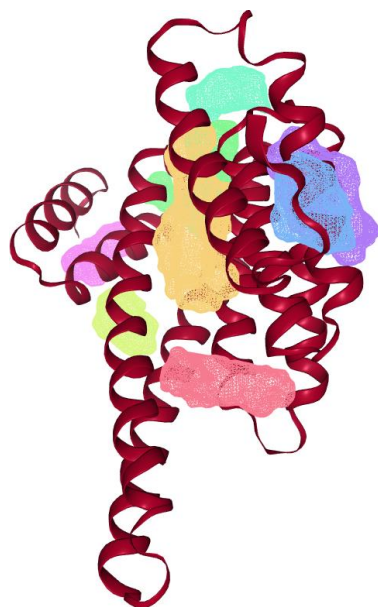
Gambar 3. Interaksi ligan-protein secara 2D (a) 4OCH₃Acet (b) 4OCH₃Benz.



Gambar 4. Interaksi ligan-protein secara 2D (a) 4OHAcet (b) 4OHBenz.



Gambar 5. Interaksi ligan-protein secara 2D (a) Hacet (b) Hbenz.



Gambar 6. Binding pocket ligan turunan hidrazon berwarna warna merah.

Tabel 4. Informasi residu yang bertanggungjawab pada jenis interaksi ligan-protein

Ligan	Jenis Interaksi	Residu	Jarak (Å)
4OCH ₃ Benz	Kontak Hidrofobik	TRP59, ALA134, GLU180	3.32, 3.25, 3.50
	Ikatan Hidrogen	ALA130, GLU131, LYS138	2.92, 2.85, 3.68
4OHBenz	Kontak Hidrofobik	ILE181, PRO185	3.47, 3.48
	Ikatan Hidrogen	TYR179, GLU180, GLU180	3.70, 3.10, 2.82
	Π-Stacking	TYR179	3.89
HBenz	Kontak Hidrofobik	ILE181, PRO185	3.37, 3.37
	Ikatan Hidrogen	GLU180, GLU180	3.00, 2.90
	Π-Stacking	TYR179	3.95
4OCH ₃ Acet	Kontak Hidrofobik	ARG56, TRP59, LEU90, GLU131, VAL132, ILE181	3.77, 3.04, 3.98, 4.00, 3.85, 3.29
	Ikatan Hidrogen	GLU131, GLU131, GLU180	3.00, 3.21, 3.88
	Interaksi Π -kation	LYS138	3.90
4OHAcet	Kontak Hidrofobik	ARG56, TRP59, ARG60, GLU131, ILE181	3.62, 3.60, 3.84, 3.64, 3.05
	Ikatan Hidrogen	GLU131, GLU131, GLU180, ILE181	3.95, 3.89, 3.07, 2.69
HAcet	Kontak Hidrofobik	TRP59, LEU90, GLU131, VAL132, ILE181	3.27, 3.93, 3.97, 3.28, 3.59
	Ikatan Hidrogen	GLU131, GLU131, GLU180	2.88, 3.35, 3.81

3.5 Profil Farmakokinetik

Peninjauan evaluasi dan penilaian profil farmakokinetik pada ligan turunan hidrazon dapat ditelusuri melalui web server SwissADME. Berdasarkan Tabel 6, keseluruhan ligan hidrazon memiliki

probabilitas tinggi untuk dicerna baik oleh pencernaan manusia tetapi tidak dapat diserap oleh *blood-brain barrier* (BBB). Lebih lanjut, pada Tabel 7 ligan 4OCH₃Benz memiliki probabilitas tinggi menjadi non-substrat P-gp dan non-inhibitor isoenzim CYP sedangkan

ligan lainnya memiliki probabilitas tinggi sedang untuk kasus yang sama.

Tabel 5. Profil fisikokimia ligan turunan hidrazon

Ligan	BM	Log P	HBA	HBD
4OCH ₃ Benz	336.34 g/mol	1.75	4	3
4OHBenz	322.32 g/mol	1.34	4	4
HBenz	306.32 g/mol	1.83	3	3
4OCH ₃ Acet	274.28 g/mol	0.54	4	3
4OHAcet	260.25 g/mol	0.15	4	4
HAcet	244.25 g/mol	0.53	3	3

Tabel 6. Profil distribusi ligan turunan hidrazon

Ligan	GI absorption	BBB permeant	Log Kp
4OCH ₃ Benz	High	No	-6.58 cm/s
4OHBenz	High	No	-6.73 cm/s
HBenz	High	No	-6.37 cm/s
4OCH ₃ Acet	High	No	-7.38 cm/s
4OHAcet	High	No	-7.53 cm/s
HAcet	High	No	-7.17 cm/s

Tabel 7. Profil mekanisme ligan hidrazon dengan isoenzim sitokrom p450

Ligan	P-gp subsbrat	CYP1A2 inhibitor	CYP2C19 inhibitor	CYP2C9 inhibitor	CYP2D6 inhibitor	CYP3A4 inhibitor
4OCH ₃ Benz	No	Yes	No	No	No	No
4OHBenz	No	Yes	No	No	No	No
HBenz	No	Yes	No	No	No	No
4OCH ₃ Acet	No	No	No	No	No	No
4OHAcet	No	Yes	No	No	No	No
HAcet	No	Yes	No	No	No	No

IV. KESIMPULAN

Kajian studi *in silico* pada senyawa ligan turunan hidrazon terhadap protein E6 HPV-18 telah dilakukan. Ligan 4OHBenz memiliki nilai K_i dan afinitas ikatan yang bagus dibandingkan semua ligan. *Binding pocket* daerah ligan turunan hidrazon berinteraksi dengan protein E6 berpeluang memiliki potensi sebagai antivirus dengan skor *drugability* 0.53. Penilaian dan evaluasi parameter fisikokimia dan farmakokinetik senyawa ligan turunan hidrazon telah dilakukan. Seluruh ligan memiliki sifat kemiripan obat berdasarkan aturan Lipinski, dapat diserap oleh pencernaan manusia, dan memiliki probabilitas tinggi/tinggi-sedang menjadi non-substrat P-gp dan non-inhibitor isoenzim CYP.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] S X. Zhang, Q. Zeng, W. Cai, and Ruan, "Trends of cervical cancer at global, regional, and national level: data from the global burden of disease study 2019," *BMC Public Health* vol. 21, pp. 894-903, 2021.
- [2] R. L. Siegel, K. D. Miller, H. E. Fuchs, and A. Jemal, "Cancer statistics, 2021," *CA: Cancer J. Clin.* vol. 71, pp. 7-33, 2021.
- [3] F. Bray, J. Ferlay, I. Soerjomataram, R. L. Siegel, L. A. Torre, and A. Jemal, "Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancer in 185 countries," *CA: Cancer J. Clin.* vol. 68, pp. 394-424, 2018.
- [4] M. Wahidin, R. Febrianti, and F. Susanty, "Burden of cervical cancer in Indonesia: findings from the global burden of disease

- study 1990-2017,” *Adv. Health Sci. Res* vol. 22, pp. 213-217, 2019.
- [5] H. Nagai, and Y. H. Kim, “Cancer prevention from the perspective of global cancer burden patterns,” *J. Thorac. Dis.* vol. 9, pp. 448-451, 2017
- [6] D. Patra, S. Paul, I. Majumder, and N. Sepay, “Exploring the effect of substituent in the hydrazone ligand of a family of μ -oxidodivanadium(V) hydrazone complexes on structure, DNA binding and anticancer activity,” *Dalton Transaction* vol. 46, pp. 16276-16293, 2017.
- [7] S. Zhang, H. Xu, L. Zhang, and Y. Qiao, “Cervical cancer: epidemiology, risk factors and screening,” *Chin. J. Cancer Res.* vol. 32, pp. 720-728, 2020.
- [8] L. Bruni, A. Saura-Lázaro, A. Montoliu, M. Brotons, L. Alemany, M. S. Diallo, O. Z. Afsar, D. S. LaMontagne, L. Mosina, M. Contreras, M. Velandia-González, R. Pastore, M. Gacic-Dobo, and P. Bloem, “HPV vaccination introduction worldwide and WHO and UNICEF estimates of national HPV immunization coverage 2010-2019,” *Prev. Med.* vol. 144, pp. 106399-106410, 2021.
- [9] E. M. de Villiers, “Cross-roads in the classification of papillomaviruses,” *Virology* vol. 445, pp. 2-10, 2013.
- [10] B. Serrano, M. Brotons, F. X. Bosch, and L. Bruni, “Epidemiology and burden of HPV-related disease,” *Best Practice Res. Clin. Obstetrics Gynaecology* vol. 47, pp. 14-26, 2018.
- [11] A. Y. Hassan, S. A. El-Sebaey, M. A. El-Deeb, and M. S. Elzoghbi, “Potential antiviral and anticancer effect of imidazoles and bridgehead imidazoles generated by HPV-induced cervical carcinomas via reactivating the P53/pRb pathway and inhibition of CA IX,” *J. Mol. Struct.* vol. 1230, pp. 129865-13003, 2021.
- [12] S. A. Aly and S. K. Fathalla, “Preparation, characterization of some transition metal complexes of hydrazone derivatives and their antibacterial and antioxidant activities,” *Arabian J. Chem.* vol. 13, pp. 3735-3750, 2020.
- [13] M. R. Ali, A. Marella, M. T. Alam, R. Naz, M. Akhter, M. Shaquiquzzaman, R. Saha, O. Tanwar, M. M. Alam, and J. Hooda, “Review of biological activities of hydrazones,” *Indonesian J. Pharm.* vol. 23, pp. 193-202, 2012.
- [14] N. Singh, R. Ranjana, M. Kumari, and B. Kumar, “A review on biological activities of hydrazone derivatives,” *Int. J. Pharm. Clin. Res.* vol. 8, pp. 162-166, 2016.
- [15] S. H. Alotabi, “Synthesis, characterization, anticancer activity, and molecular docking of some new sugar hydrazone and arylidene derivatives,” *Arabian J. Chem.* vol. 13, pp. 4771-4784, 2020.
- [16] H. A. Arjun, R. Elancheran, N. Manikandan, K. Lakshmithendral, M. Ramanathan, A. Bhattacharjee, N. K.

- lokanath, and S. Kabilan, "Design, synthesis, and biological evaluation of (E)-N'-((1-chloro-3,4-dihydronaphthalen-2-yl)methylene) benzohydrazide derivatives as anti-prostate cancer agent," *Front. Chem.* vol. 7, pp. 1-14, 2019.
- [17] G. Xu, M. C. Abad, P. J. Connolly, M. P. Neeper, G. T. Struble, B. A. Springer, S. L. Emanuel, N. Pandey, R. H. Gruninger, M. Adams, S. Moreno-Mazza, A. R. Fuentes-Pesquera, and S. A. Middleton, "4-amino-6-arylamino-pyrimidine-5-carbaldehyde hydrazones as potent ErbB-2/EGFR dual kinase inhibitors," *Bioor. Med. Chem. Lett.* vol. 18, pp. 4615-4619, 2008.
- [18] G. Verma, A. Marella, M. Shaquiquzzaman, M. Akhtar, M. R. Ali, and M. M. Alam, "A review exploring biological activities of hydrazones," *J. Pharm. Bioallied Sci.* vol. 6, pp. 69-80, 2014.
- [19] S. H. Cheng, W. N. Liao, L. M. Chen, and C. H. Lee, "pH-controllable release using functionalized mesoporous silica nanoparticles as an oral drug delivery system," *J. Mater. Chem.* vol. 21, pp. 7130-7137, 2011.
- [20] K. Y. Win and S. S. Feng, "Effects of particle size and surface coating on cellular uptake of polymeric nanoparticles for oral delivery of anticancer drugs," *Biomaterials* vol. 26, pp. 2713-2722, 2005.
- [21] M. Zuo, X. Xu, Z. Xie, R. Ge, Z. Zhang, Z. Li, and J. Brian, "Design and synthesis of indoline thiohydantoin derivatives based on enzalutamide as antiproliferative agents against prostate cancer," *Euro. J. Med. Chem.* vol. 125, pp. 1002-1022, 2017.
- [22] H. A. Elhady, R. El-Sayed, and H. S. Al-Nathali, "Design, synthesis, and evaluation of anticancer activity of novel 2-thioxoimidazolidin-4-one derivatives bearing pyrazole, triazole and benzoxazole moiety," *Chem. Central J.* vol. 12, pp. 51-63, 2018.
- [23] J. L. Romine, D. R. S. Laurent, J. E. Leet, S. W. Martin, M. H. Serrano-Wu, F. Yang, M. Cao, D. O'Boyle, J. Lemm, J. Sun, P. Nower, X. Huang, M. Deshpande, N. Meanwell, and L. B. Snyder, "Inhibitors of HCV NS5A: from iminothiazolidinones to symmetricalstilbenes," *ACS Med. Chem. Lett.* vol. 2, pp. 224-229, 2011.
- [24] D. H. Mahajan, K. H. Chikhaliya, C. Pannecouque, and E. D. Clereq, "Synthesis and anti-HIV evaluation of new 2-thioxoimidazolidin-4-ones and their arylidene (styryl) derivatives," *Pharm. Chem. J.* vol. 46, pp. 165-170, 2012.
- [25] A. R. Jogdand, L. L. Kathane, N. G. Kuhite, C. D. Padole, M. D. Amdare, and D. K. Mahapatra, "Fabrication hydantoin / thiohydantoin hybrids from a natural product, cuminaldehyde: new players for anti-convulsant therapeutics," *Sch. Aca. J. Pharm.* vol. 6, pp. 300-303, 2017.
- [26] S. A. Abubshait, "Synthesis, antimicrobial and anticancer activities of some 2-

- thiohydantoin derivatives,” *Indian J. Chem.* vol. 56B, pp. 641-648, 2017.
- [27] J. Thanusu, V. Kanagarajan, and M. Gopalakrishnan, “Synthesis, spectral analysis, and in vitro microbiological evaluation of 3-(3-alkyl-2,6-diarylpiperin-4-ylidene)-2-thioxoimidazolidin-4-ones as a new class of antibacterial and antifungal agents,” *Bioorg. Med. Chem. Lett.* vol. 20, pp. 713-717, 2010.
- [28] T. H. Lee, Z. Khan, S. Y. Kim, and K. R. Lee, “Thiohydantoin and hydantoin derivatives from the roots of *Amoracia rusticana* and their neurotrophic and antineuroinflammatory activities,” *J. Nat. Prod.* vol. 82, pp. 3020-3024, 2019.
- [29] S. Uma and P. Devika, “In vitro studies on the antidiabetic activity of 2-thiohydantoin using α -amylase and α -glucosidase,” *Asian J. Pharm. Clin. Res.* vol. 12, pp. 155-157, 2019.
- [30] S. Vengurlekar, R. Sharma, and P. Trivedi, “In vitro studies on the antidiabetic activity of 2-thiohydantoin using α -amylase and α -glucosidase,” *Lett. Drug Des. Discov.* vol. 9, pp. 549-555, 2012.
- [31] G. A. Petersson, A. Bennett, T. G. Tensfeldt, M. A. Al-Laham, W. A. Shirley, and J. Mantzaris, “A complete basis set model chemistry. I. The total energies of closed-shell atoms and hydrides of the first-row atoms,” *J. Chem. Phys.* vol. 89, pp. 2193-218, 1988.
- [32] G. A. Petersson and M. A. Al-Laham, “A complete basis set model chemistry. II. Open-shell systems and the total energies of the first-row atoms,” *J. Chem. Phys.* vol. 94, pp. 6081-90, 1991.
- [33] N. M. O’Boyle, M. Bank, C. A. James, C. Morley, T. Vandermeersch, and G. R. Hutchison, “Open Babel: An open chemical toolbox,” *J. Cheminf.* vol. 3, pp. 33-46, 2011.
- [34] A. B. Sravani, V. Ghate, and S. Lewis, “Human papillomavirus infection, cervical cancer and the less explored role of trace elements,” *Biol. Trace Elem. Res.* vol. 2022, pp. 1-25, 2022.
- [35] G. Gogl, K. V. Tugaeva, P. Eberling, C. Kostmann, G. Trave, and N. N. Sluchanko, “Hierarchized phosphotarget binding by the seven human 14-3-3 isoforms,” *Nature Comm.* vol. 12, pp. 1-12, 2021.
- [36] G. M. Morris, R. Huey, W. Lindstrom, M. F. Sanner, R. K. Belew, D. S. Goodsell, and A. J. Olson, “Autodock4 and autodocktools4: automated docking with selective receptor flexibility,” *J. Comp. Chem.* vol. 19, pp. 2785-2791, 2009.
- [37] J. Wang, P. A. Kollman, and I. D. Kuntz, “Flexible ligand docking: a multistep strategy approach,” *Protein: Str. Funct. Bioinform.* vol. 36, pp. 1-19, 1999.
- [38] I. Widiasti, A. Tedjo, and A. Arsianti, “Analysis and visualization of molecular docking 2HI4 protein,” *Indonesian J. Med. Chem. Bioinform.* vol. 1, pp. 1-5, 2022.

- [39] G. M. Morris, D. S. Goodsell, R. S. Halliday, R. Huey, W. E. Hart, R. K. Belew, and A. J. Olson, "Automated docking using a lamarkian genetic algorithm and an empirical binding free energy function," *J. Comp. Chem.* vol. 19, pp. 1639-1662, 1998.
- [40] M. F. Adasme, K. L. Linnemann, S. N. Bolz, F. Kaiser, S. Salentin, V. J. Haupt, and M. Schroeder, "PLIP 2021: expanding the scope of the protein-ligand interaction profiler to DNA and RNA," *Nucl. Acids Res.* vol. 49, pp. W530-W534, 2021.
- [41] A. C. Wallace, R. A. Laskowski, and J. M. Thornton, "Ligplot: a program to generate schematic diagrams of protein-ligand interactions," *Protein Eng.* vol. 8, pp. 127-134, 1995.
- [42] A. Volkamer, D. Kuhn, D. Grombacher, F. Rippmann, and M. Rarey, "Combining global and local measures for structure-based drugability predictions," *J. Chem. Inf. Model* vol. 52, pp. 360-372, 2012.
- [43] A. Volkamer, A. Griewel, T. Grombacher, and M. Rarey, "Analyzing the topology of active sites: on the prediction of pockets and subpockets," *J. Chem. Inf. Model* vol. 50, pp. 2041-2052, 2010.
- [44] A. Daina, O. Michielin, and V. Zoete, "SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules," *Scientific Reports*, vol. 7, pp. 1-13, 2017.
- [45] J. Tirado-Rives and W. L. Jorgensen, "Performance of B3LYP density functional methods for a large set of organic molecules," *J. Chem. Theo. Comp.* vol. 4, pp. 297-306, 2008.
- [46] D. Seeliger and B. L. de Groot, "Ligand docking and binding site analysis with PyMOL and Autodock/Vina," *J. Comput. Aided Mol. Des.* vol. 24, pp. 417-422, 2010.
- [47] F. D. Prieto-Martínez, M. Arciniega, and J. L. Medina-Franco, "Molecular docking: current advances and challenges," *TIP Rev. Esp. Cienc. Quim. Biol.* vol. 21, pp. 1-23, 2018.
- [48] A. Lees, T. Sessler, and S. Mcdade, "Dying to survive-the p53 paradox," *Cancers*, vol. 13, pp. 1-25, 2021.
- [49] I. P. Rendi, G. J. Maranata, H. Chaerunisa, N. Nugrahaeni, and S. S. Alfathonah, "Molecular docking of compounds in *Moringa oleifera* lamwith dipeptidyl peptidase-4 receptors as antidiabetic candidates," *J. Farm. Ilmu Kefarm. Indo.* vol.8, pp. 242-249, 2021.
- [50] R. A. Laskowski and M. B. Swindells, "Ligplot+: multiple ligand-protein interaction diagrams for drug discovery," *J. Chem. Inf. Model.* vol. 51, pp. 2778-2786, 2011.
- [51] R. Chinnamanyakar and E. M. Ramanathan, "Anti-cancer and antimicrobial activity, in-silico ADME and docking studies of biphenyl pyrazoline derivative,"

- Biointerface Res. Appl. Chem.* vol. 11, pp. 8266-8282, 2021.
- [52] M. S. Alam and D. U. Lee, "Hydrazide-hydrazone as small molecule tropomyosin receptor kinase A (TRKA) inhibitors: synthesis, anticancer activities, in silico ADME and molecular docking studies," *Med. Chem.* vol. 19, pp. 47-63, 2023.
- [53] S. Kauthale, S. Tekale, M. Damale, J. Sangshetti, and R. Pawar, "Synthesis, antioxidant, antifungal, molecular docking and ADMET studies of some thiazolyl hydrazones," *Bioorg. Med. Chem. Lett.* vol. 27, pp. 3891-3896, 2017.
- [54] T. B. Fernandes, M. C. F. Segretti, M. C. Polli, and R. Parise-Filho, "Analysis of the applicability and use of Lipinski's rule for central nervous system drugs," *Lett. Drug Des. Discov.* vol. 13, pp. 1-8, 2016.