

Investigasi In Silico Interaksi antara 17 Beta Estradiol dan Reseptor Estrogen Alfa sebagai Terapi Antikanker

Ade Irma Fahira¹, Okta Suryani²

¹²Program Studi Kimia, Universitas Negeri Padang
e-mail: adeirmafahira30@gmail.com

Abstrak

Penelitian ini mengeksplorasi potensi 17 beta estradiol dari tanaman kacang perancis (*Phaseolus vulgaris* L.) sebagai stimulan dalam terapi antikanker melalui pendekatan secara in-silico pada estrogen reseptor alpha. Penelitian ini menggunakan alat komputasi yaitu PyMOL, PyRx, Protein Plus dan aturan lipinski. Telah dilakukan pemeriksaan dari struktur molekul dan interaksinya dengan enzim target. Hasil analisis RMSD menunjukkan bahwa kompleks reseptor 17 beta estradiol-estrogen reseptor alpha menunjukkan stabilitas yang baik dengan nilai RMSD antara 0, 1.344 dan 10.086. Hasil dari protein plus menunjukkan adanya interaksi antara 17 beta estradiol dengan estrogen reseptor alpha. Parameter kuantitatif dengan nilai binding affinity sebesar -8,3; -7,1 dan -6,6. Digunakan lima aturan lipinski untuk mengevaluasi sifat seperti obat senyawa dengan penemuan yang menunjukkan berat molekul 250, 2 donor ikatan hidrogen, 2 akseptor ikatan hidrogen, nilai log P sebesar 1,05 dan reaktivitas molar 65.59. Penemuan ini menunjukkan bahwa 17 beta estradiol memiliki potensi terapeutik dalam pengobatan terapi antikanker.

Kata kunci: Molekular Doking, 17 Beta Estradiol, Estrogen Reseptor Alpha, Terapi Antikanker, *Phaseolus vulgaris* L.

Abstract

*This study explores the potential of 17 beta estradiol from French bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.) as a stimulant in anticancer therapy through an in-silico approach to estrogen receptor alpha. This study used computational tools namely PyMOL, PyRx, Protein Plus and Lipinski's rule. The molecular structure and its interaction with the target enzyme were examined. The results of RMSD analysis showed that the 17 beta estradiol-estrogen receptor alpha complex showed good stability with RMSD values between 0, 1.344 and 10.086. The results of protein plus showed the interaction between 17 beta estradiol and estrogen receptor alpha. Quantitative parameters with binding affinity values of -8.3; -7.1 and -6.6. Five lipinski rules were used to evaluate the drug-like properties of the compound with the invention*

showing a molecular weight of 250, 2 hydrogen bond donors, 2 hydrogen bond acceptors, a log P value of 1.05 and a molar reactivity of 65.59. The invention suggests that 17 beta estradiol has therapeutic potential in the treatment of anticancer therapy.

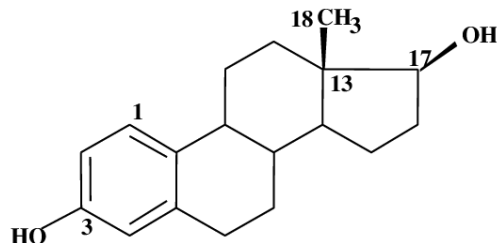
Keywords : *Molecular Docking, 17 Beta Estradiol, Estrogen Receptor Alpha, Anticancer Therapy, Phaseolus vulgaris L.*

PENDAHULUAN

Sel kanker didefinisikan sebagai sel yang melakukan proliferasi yang berlawanan dengan kontrol normalnya, karena itu disebut sel kanker. Sel kanker biasanya mampu menyerang dan menginvasi di jaringan sekitar sehingga disebut sel malignan. Setelah mengabaikan sinyal dari luar dan bagian dalam yang mengontrol proliferasi sel, bisa keluar dari jaringan, tidak stabil secara genetik, dan mencegah apoptosis awalnya (invasif), memiliki kemampuan untuk bertahan hidup dan proliferasi di jaringan lain atau di luar jaringan; oleh karena itu, metastasis. Ada banyak hal yang dapat menyebabkan kanker, salah satunya adalah kerusakan DNA yang berakhir dengan mutasi. Beberapa contoh mutagen yang dapat menyebabkan kanker adalah bahan kimia karsinogenik, virus, dan banyak jenis radiasi, seperti sinar ultraviolet dan radiasi ionisasi seperti partikel dan sinar gamma alfa yang dihasilkan dari radioaktif. Faktor- Faktor pendukung tambahan seperti genetik, lingkungan, makanan, dan hormon (Moningka, 2019).

Pengobatan yang bertujuan untuk menghentikan perkembangan dan metastasis kanker dikenal sebagai terapi antikanker. Terapi target adalah obat yang menargetkan sel kanker tetapi tidak mempengaruhi sel normal. Salah satu contohnya adalah Imatinib, yang menghentikan aktivitas gen abnormal BCR-ABL pada leukemia mieloid kronis (LMK). Selain itu, imunoterapi menggunakan sistem kekebalan tubuh untuk melawan sel-sel kanker. Dalam pengobatan berbagai jenis kanker, seperti kanker pankreas, kanker payudara, dan kanker empedu, imunoterapi anti PD-1 telah menunjukkan hasil yang positif, seperti pasien berusia 82 tahun yang masih hidup setelah pengobatan. Imunoterapi, bagaimanapun, terbatas pada pasien dari kelas menengah ke atas karena biayanya yang tinggi.

Salah satu reseptor estrogen, estrogen receptor alpha (ER- α), mengatur transkripsi dan mempengaruhi aktivitas biologi hormon estrogen. Dikenal bahwa hormon dan reseptor ini memainkan peran penting dalam pembentukan dan perkembangan kanker payudara luminal A dan B. Oleh karena itu, reseptor ini menjadi target yang menarik bagi para peneliti yang sedang mencari senyawa yang dapat digunakan sebagai agen kemoterapi. Untuk mencapai hasil yang diinginkan, kemoterapi diberikan secara bertahap sebanyak 6-8 siklus. Namun, tidak semua efek samping dapat ditolerir. Efek samping seperti kardi toksisitas, hepatotoksitas, dan resistensi dapat muncul sebagai akibat dari penggunaan obat yang terlalu lama (Ikhtiarudin et al., 2022).



Gambar 1. Struktur 17 beta estradiol

Salah satu hormon estrogen utama yang diproduksi oleh tubuh manusia adalah ligan steroid estradiol-17 β (E2). Kolesterol adalah sumber utama hormon ini dari kelenjar gonad, seperti ovarium pada perempuan dan testis pada laki-laki. Studi yang dilakukan pada mencit Swiss Webster betina dewasa menemukan korelasi positif antara kadar hormon estradiol-17 β dan ketebalan endometrium uterus selama satu siklus estrus. Efek estradiol-17 β pada proliferasi jaringan penyusun saluran reproduksi, termasuk endometrium uterus. Selain itu, estradiol-17 β memainkan peran dalam remodeling tulang. Efeknya bervariasi tergantung pada jenis reseptor estrogen yang bersangkutan. Contohnya adalah reseptor alfa (ER α) yang memiliki kemampuan untuk mengaktifkan transkripsi gen dan reseptor beta (ER β) yang memiliki kemampuan untuk menghentikan transkripsi. Dalam beberapa penelitian, estradiol-17 β juga ditemukan meningkatkan ekspresi gen (Sitasiwi, 2012).

METODE

Metode penelitian dalam studi ini disusun secara sistematis dan komprehensif untuk mengeksplorasi potensi 17 beta estradiol dari kacang perancis (*Phaseolus vulgaris* L.) sebagai terapi anti kanker. Pendekatan yang digunakan adalah pendekatan komputasi. Langkah awal melibatkan pengambilan struktur molekul 17 beta estradiol dari sumber terpercaya seperti PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) dan struktur tersebut dievaluasi menggunakan perangkat lunak Pymol (<https://pymol.org/2/>) (Aini et al., 2022). Untuk memastikan akurasi, struktur 17 beta estradiol dan estrogen reseptor alpha diambil dari Protein Data Bank (PDB) (<https://www.rcsb.org/>). Kedua struktur tersebut dimuat ke dalam perangkat lunak PyRx (<https://pyrx.sourceforge.io/>) Dengan menganalisis interaksi molekul antara 17 beta estradiol dan estrogen reseptor alpha, PyRx memungkinkan pemodelan molekuler, docking, dan visualisasi interaksi dengan akurasi yang tinggi (Zainul, Verawati, Suprijono, et al., 2023).

Selanjutnya untuk mendapatkan pemahaman yang lebih rinci mengenai interaksi antara senyawa 17 beta estradiol dengan estrogen reseptor alpha, maka digunakanlah Protein Plus (<https://protein.plus/>). Dalam analisis ini, afinitas pengikatan dihitung untuk menilai kekuatan interaksi antara 17 beta estradiol dan estrogen reseptor alpha. Selain itu, RMSD (*Root Mean Square Deviation*) digunakan untuk memperkirakan stabilitas kompleks 17 beta estradiol-estrogen reseptor alpha, di mana nilai RMSD yang lebih rendah menunjukkan afinitas pengikatan yang lebih tinggi dan efikasi 17 beta estradiol sebagai inhibitor. Selain itu, lima aturan Lipinski diterapkan

dalam analisis farmakokinetik untuk mengevaluasi apakah 17 beta estradiol memenuhi kriteria sebagai kandidat potensial dalam terapi anti kanker (Rosalina *et al.*, 2023).

Pendekatan ini dirancang untuk mengurangi kebutuhan akan uji in-vivo yang memakan waktu dan biaya penelitian yang tinggi. Metode ini menawarkan cara yang efisien dan efektif untuk menganalisis interaksi molekuler serta parameter farmakokinetik estrone sebagai terapi anti kanker (Mawaddani *et al.*, 2022)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini, menunjukkan bahwa potensi interaksi antara senyawa 17 beta estradiol dari kacang perancis (*Phaseolus vulgaris L.*) dengan estrogen reseptor alpha. Hasil analisis binding affinity yang signifikan sebesar -8,3; -7,1 dan -6,6 menunjukkan bahwa 17 beta estradiol memiliki kemampuan untuk berinteraksi secara efektif dengan estrogen reseptor alpha. Nilai RMSD yang rendah (0, 1.344, dan 10.086) juga menunjukkan bahwa model docking yang dihasilkan cukup stabil dan bisa dipertahankan antara 17 beta estradiol-estrogen reseptor alpha. Tabel 1 menunjukkan hasil perhitungan afinitas pengikatan dan RMSD menggunakan aplikasi PyRx (Zainul, Verawati, Sukma Rita, et al., 2023).

Analisis lebih lanjut dari interaksi menggunakan protein plus mengkonfirmasi pengikatan antara 17 beta estradiol dengan estrogen reseptor. Dengan memahami hal ini, kita bisa mendapatkan pemahaman yang lebih baik tentang mekanisme kerja 17 beta estradiol sebagai obat terapi antikanker. Hal ini merupakan temuan yang memiliki potensi yang signifikan dalam pengembangan obat baru yang lebih efektif dan lebih aman (Wijaya et al., 2021).

Lalu, dengan menggunakan aturan lipinski, maka dapat ditentukan bahwa senyawa 17 beta estradiol memiliki beberapa sifat yang membuatnya menjadi kandidat obat yang menjanjikan. Dengan massa 250, memiliki 2 donor ikatan hidrogen, 2 akseptor ikatan hidrogen, nilai log P sebesar 1,05 dan reaktivitas molar 65.59, maka senyawa ini memenuhi sebagian besar kriteria aturan lipinski yang menunjukkan potensinya sebagai obat dalam terapi antikanker. Namun, ada beberapa faktor lain yang harus dipertimbangkan sebelum suatu senyawa dapat dianggap sebagai obat potensial termasuk efek samping dan biaya produksi (Pang et al., 2023).

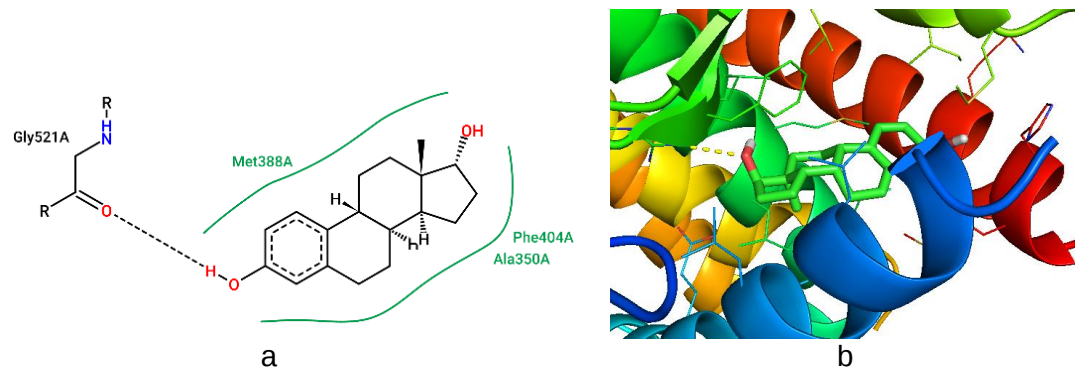
Hasil penelitian ini membuktikan bahwa potensi senyawa 17 beta estradiol dalam menstimulasi estrogen reseptor alpha, yaitu enzim yang sangat penting dalam terapi antikanker. Tinggi Binding affinity (-8,3; -7,1 dan -6,6) menunjukkan bahwa 17 beta estradiol memiliki afinitas yang kuat terhadap estrogen reseptor alpha menunjukkan bahwa senyawa tersebut dapat berinteraksi secara efisien dengan enzim. Nilai RMSD menunjukkan bahwa struktur kompleks 17 beta estradiol-estrogen reseptor alpha stabil dan memiliki relevansi fisiologis (Xiong et al., 2021).

Tabel 1. Binding Afinity dan RMSD 17 Beta Estradiol Dan Estrogen Receptor Alpha

Ligand	Binding Affinity	rmsd/ub	rmsd/lb
Estrogen_receptor_alpha-steril 17 beta estradiol-minimize	-8.3	0	0
Estrogen_receptor_alpha-steril 17 beta estradiol-minimize	-8.3	2.465	1.344
Estrogen_receptor_alpha-steril 17 beta estradiol-minimize	-7.1	23.96	21.949
Estrogen_receptor_alpha-steril 17 beta estradiol-minimize	-6.6	23.978	22.541
Estrogen_receptor_alpha-steril 17 beta estradiol-minimize	-6.6	24.083	22.124
Estrogen_receptor_alpha-steril 17 beta estradiol-minimize	-6.5	13.234	10.086
Estrogen_receptor_alpha-steril 17 beta estradiol-minimize	-8.3	0	0
Estrogen_receptor_alpha-steril 17 beta estradiol-minimize	-8.3	2.465	1.344
Estrogen_receptor_alpha-steril 17 beta estradiol-minimize	-7.1	23.96	21.949

Table 2. Data Lipinski

Mass	Hydrogen bond donor	Hydrogen bond acceptor	LOGP	Molar reactivity
250.000000	2	2	1.050980	65.591599



Gambar 2. (a)2D dan (b)3D visualisasi dari interaksi antara ligan 17 beta estradiol dan estrogen Reseptor Alpha

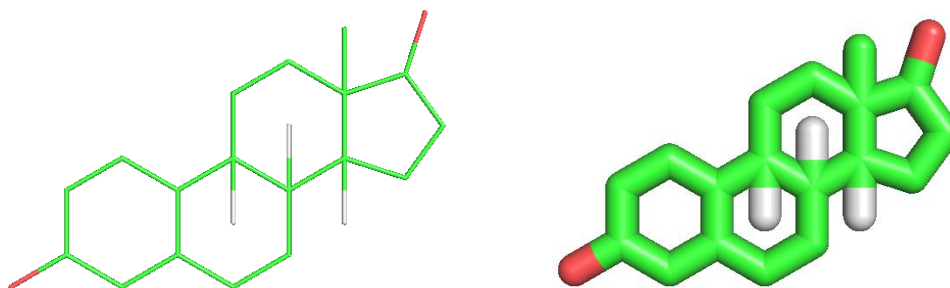
Data Aturan Lima Lipinski disajikan dalam Tabel 2, sedangkan hasil 3D dari Protein Plus untuk 17 beta estradiol dan estrogen reseptor alpha ditampilkan dalam Gambar 2. Pada Gambar 2, interaksi antara ligan 17 beta estradiol dan estrogen reseptor alpha ditandai dengan interaksi gugus C=O dari asam amino pada estrogen reseptor alpha dengan OH dari 17 beta estradiol.

Analisis lebih lanjut menggunakan protein plus mengkonfirmasi adanya interaksi antara 17 beta estradiol dengan estrogen reseptor alpha, memberikan validasi lebih lanjut dari hasil penambatan molekuler. Penemuan ini menjelaskan bagaimana 17 beta estradiol dapat berfungsi sebagai stimulan dalam terapi antikanker melalui interaksinya dengan estrogen reseptor alpha. Hal ini memberikan wawasan yang bermanfaat dan dapat membantu dalam pengembangan strategi terapi baru (Swayampakula et al., 2017).

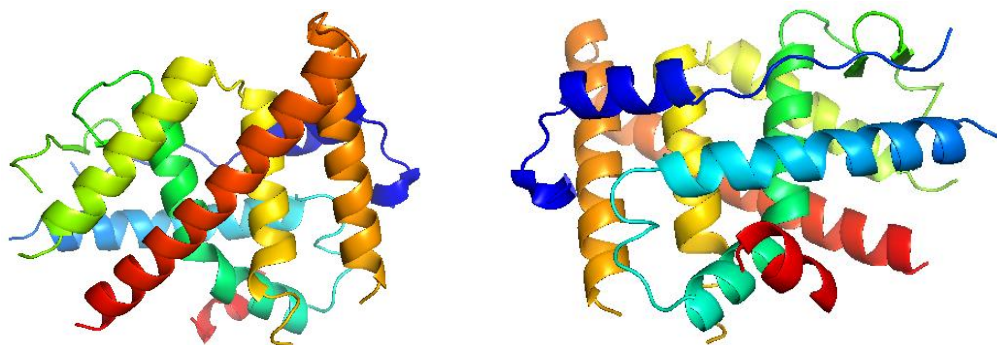
Selain itu, pemeriksaan aturan lipinski mengungkapkan bahwa 17 beta estradiol memenuhi sebagian besar kriteria untuk menjadi obat dalam terapi antikanker. Namun, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk memvalidasi potensi terapeutiknya dalam model biologis dan klinis.

Pembahasan penelitian ini dapat dibandingkan dengan berbagai penelitian lain yang dilakukan pada bidang yang sama. Penelitian yang berkaitan dengan senyawa bioaktif yang diisolasi dari kacang perancis yang telah dilakukan oleh banyak peneliti dengan banyak pada antioksidan dan antimikroba dari senyawa-senyawa tersebut. Namun, penelitian ini memberikan wawasan baru dengan mengeksplorasi potensi 17 beta estradiol sebagai terapi antikanker yang sebelumnya belum pernah dieksplorasi secara ekstensif. Penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa kacang perancis memiliki potensi dalam terapi antikanker sehingga peneliti tertarik untuk menelitinya.

Tingkat stabilitas kompleks 17 beta estradiol-estrogen reseptor alpha ditunjukkan oleh analisis hasil RMSD. Salah satu faktor penting dalam menentukan keberhasilan suatu obat dalam merangsang aktivitas enzim adalah stabilitas yang dihasilkan dari interaksi antara 17 beta estradiol dan estrogen reseptor alpha. Penemuan ini menunjukkan bahwa kompleks 17 beta estradiol-estrogen reseptor alpha menunjukkan tingkat stabilitas yang memadai, yang merupakan indikator positif dalam pengembangan terapi antikanker menggunakan 17 beta estradiol (Lin et al., 2020).



Gambar 3: (a) 2D visualisasi dari ligan 17 Beta Estradiol (b) 3D visualisasi dari ligan 17 Beta Estradiol



Gambar 4: (a) Protein Estrogen Receptor Alpha (b) Protein Estrogen Receptor Alpha

Ligan 17 beta estradiol dan protein estrogen reseptor alpha ditunjukkan pada Gambar 3 dan 4. Jika dibandingkan dengan penelitian sebelumnya, temuan ini mendukung potensi 17 beta estradiol sebagai stimulan untuk terapi antikanker. Penemuan ini mencakup pemanfaatan senyawa alami dan senyawa estrogen reseptor alpha lainnya dalam pengobatan antikanker yang signifikan. Hal ini menunjukkan bahwa mengontrol aktivitas estrogen reseptor alpha dapat menjadi metode yang efektif untuk mengontrol terapi antikanker.

Dibutuhkan perbandingan dengan studi klinis atau penelitian pada hewan untuk memperkuat validitas penelitian ini dan memahami potensi klinisnya. Studi ini akan memberikan pemahaman yang lebih dalam tentang efektivitas dan keamanan penggunaan ligan 17 beta estradiol sebagai pengobatan dalam terapi antikanker serta bukti lebih lanjut tentang potensi terapeutiknya. Secara keseluruhan, perbandingan dengan penelitian sebelumnya akan memberikan dukungan dan pemahaman yang lebih baik. Hasil ini menunjukkan betapa pentingnya penelitian lanjutan untuk memvalidasi hasil komputasi dan memahami sepenuhnya fungsi dan kemungkinan terapeutik 17 beta estradiol dalam pengobatan gangguan infeksi ini.

SIMPULAN

Penelitian ini menunjukkan adanya potensi senyawa 17 beta estradiol dari *Phaseolus vulgaris L* sebagai stimulan dalam terapi antikanker melalui interaksi kuat dengan estrogen reseptor alpha. Analisis komputasi menunjukkan nilai binding affinity yang tinggi dan stabilitas struktural dalam kompleks 17 beta estradiol-estrogen reseptor alpha. Selain itu, senyawa ini memenuhi sebagian besar kriteria aturan lipinski yang menunjukkan potensinya sebagai obat dalam terapi antikanker. Penelitian ini menggunakan pendekatan secara in silico dan tidak melibatkan pengujian biologis atau klinis. Oleh karena itu, diperlukan penelitian lebih lanjut untuk memvalidasi efektivitas dan keamanan 17 beta estradiol sebagai stimulan dalam terapi antikanker.

UCAPAN TERIMA KASIH

DAFTAR PUSTAKA

- Aini, N. S., Kharisma, V. D., Widyananda, M. H., Murtadlo, A. A. A., Probojati, R. T., Turista, D. D. R., Tamam, M. B., Jakhmola, V., Novaliendry, D., Mandeli, R. S., Oktavia, B., Albari, M. T., Al Aziz, S., Ghifari, M. R., Suryani, O., Azhari, P., Ghifari, M. A., Purnamasari, D., Samala, A. D., ... Zainul, R. (2022). Bioactive Compounds from Purslane (*Portulaca oleracea* L.) and Star Anise (*Illicium verum* Hook) as SARS-CoV-2 Antiviral Agent via Dual Inhibitor Mechanism: In Silico Approach. *Pharmacognosy Journal*, 14(4), 352–357. <https://doi.org/10.5530/pj.2022.14.106>
- Ikhtiarudin, I., Dona, R., Frimayanti, N., Utami, R., Susianti, N., & Septama, A. W. (2022). Sintesis, Karakterisasi Struktur, dan Kajian Molecular Docking Senyawa Turunan 4'-Metoksi Flavonol sebagai Antagonis Reseptor Estrogen Alpha (ER- α) pada Kanker Payudara. *Jurnal Riset Kimia*, 13(2), 236–249. <https://doi.org/10.25077/jrk.v13i2.553>
- Lin, X., Li, X., & Lin, X. (2020). A review on applications of computational methods in drug screening and design. *Molecules*, 25(6), 1–17. <https://doi.org/10.3390/molecules25061375>
- Mawaddani, N., Sutiyaniti, E., Widyananda, M. H., Kharisma, V. D., Turista, D. D. R., Tamam, M. B., Jakhmola, V., Syamsurizal, Fajri, B. R., Ghifari, M. R., Albari, M. T., Ghifari, M. A., Lubis, A. P., Novaliendry, D., Putri, D. H., Fitri, F., Sari, D. P., Nugraha, A. P., Ansori, A. N. M., ... Zainul, R. (2022). In Silico Study of Entry Inhibitor from *Moringa oleifera* Bioactive Compounds against SARS-CoV-2 Infection. *Pharmacognosy Journal*, 14(5), 565–574. <https://doi.org/10.5530/pj.2022.14.137>
- Moningka, M. E. W. (2019). Perkembangan Terapi Kanker Terkait Senyawa Terpeneol, P53 dan Caspase 3. *Jurnal E-Biomedik*, 7(1), 37–43. <https://doi.org/10.35790/ebm.7.1.2019.23190>
- Pang, K. L., Mai, C. W., & Chin, K. Y. (2023). Molecular Mechanism of Tocotrienol-Mediated Anticancer Properties: A Systematic Review of the Involvement of Endoplasmic Reticulum Stress and Unfolded Protein Response. *Nutrients*, 15(8). <https://doi.org/10.3390/nu15081854>
- Rosalina, L., Purnamasari, D., Verawati, R., Suryani, O., Ghifari, M. A., Lubis, A. P., Zainul, R., Mandeli, R. S., Kharisma, V. D., Jakhmola, V., Rebezov, M., & Ansori, A. N. M. (2023). In Silico Study on the Inhibition of Sitogluside from Clove Plant (*Syzygium aromaticum*) on Interleukin 2 in B and T Cell Proliferation. *Pharmacognosy Journal*, 15(4), 575–580. <https://doi.org/10.5530/pj.2023.15.122>

- Sitasiwi, A. J. (2012). Hubungan Kadar Hormon Estradiol 17-B dan Tebal Endometrium Uterus Mencit (*Mus musculus* L.) selama Satu Siklus Estrus. *BULETIN ANATOMI DAN FISILOGI Dh SELLULA*, 16(2), 38–45.
- Swayampakula, M., McDonald, P. C., Vallejo, M., Coyaud, E., Chafe, S. C., Westerback, A., Venkateswaran, G., Shankar, J., Gao, G., Laurent, E. M. N., Lou, Y., Bennewith, K. L., Supuran, C. T., Nabi, I. R., Raught, B., & Dedhar, S. (2017). The interactome of metabolic enzyme carbonic anhydrase IX reveals novel roles in tumor cell migration and invadopodia/MMP14-mediated invasion. *Oncogene*, 36(45), 6244–6261. <https://doi.org/10.1038/onc.2017.219>
- Wijaya, R. M., Hafidzhah, M. A., Kharisma, V. D., Ansori, A. N. M., & Parikesit, A. A. (2021). Covid-19 in silico drug with zingiber officinale natural product compound library targeting the mpro protein. *Makara Journal of Science*, 25(3), 162–171. <https://doi.org/10.7454/mss.v25i3.1244>
- Xiong, G., Wu, Z., Yi, J., Fu, L., Yang, Z., Hsieh, C., Yin, M., Zeng, X., Wu, C., Lu, A., Chen, X., Hou, T., & Cao, D. (2021). ADMETlab 2.0: An integrated online platform for accurate and comprehensive predictions of ADMET properties. *Nucleic Acids Research*, 49(W1), W5–W14. <https://doi.org/10.1093/nar/gkab255>
- Zainul, R., Verawati, R., Sukma Rita, R., Ranuharja, F., Ghufon, M., Samala, A. D., Satriawan, H., Ghifari, M. R., Purnamasari, D., Mandeli, R. S., Lubis, A. P., Kharisma, V. D., Jakhmola, V., Rebezov, M., & Ansori, A. N. M. (2023). Computational Evaluation of the Potential of Salicylate Compound from *Syzygium aromaticum* on Carbonic Anhydrase I as a Gastric Acid Stimulant. *Pharmacognosy Journal*, 15(4), 489–493. <https://doi.org/10.5530/pj.2023.15.107>
- Zainul, R., Verawati, R., Suprijono, A., Mandeli, R. S., Wulandari, A. P., Novaliendry, D., Ritmaleni, Rosalina, L., Ghifari, M. A., Lubis, A. P., Kharisma, V. D., Jakhmola, V., Rebezov, M., & Ansori, A. N. M. (2023). In Silico Study on the Potential of Guaiacol Extract from Green Tea (*Camellia sinensis*) as a Stimulant for Carbanoic Anhydrase II in Renal Tubular Acidosis. *Pharmacognosy Journal*, 15(4), 494–499. <https://doi.org/10.5530/pj.2023.15.108>