

Pengembangan Obat Turunan 5-Fluorourasil sebagai Agen Antikanker dengan Pendekatan Molekuler

Peneliti : Ika Oktavianawati¹, Ayik Rosita Puspaningtyas²
Mahasiswa Terlibat : Cahyaning IA², Sherla F², Putri AR², Ifada², Nita E², Dian RP²,
Mayasari KND²
Sumber Dana : DIKTI

¹ Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jember

² Fakultas Farmasi, Universitas Jember

ABSTRAK

Sederetan struktur molekul turunan 5-Fu disarankan dalam penelitian ini melalui reaksi benzoilasi (esterifikasi) 5-Fu yang terhidroksilasi pada atom N nomor 1, senyawa **2**: 5-fluoro-1-(hidroksimetil)-urasil. Substituen benzoil klorida yang disubstitusikan pada penelitian ini sebagai turunan 5-Fu, diantaranya adalah 3-klorobenzoil (**4a**); 2-klorobenzoil (**4b**); 3-nitrobenzoil (**4c**); 4-metoksibenzoil (**4d**); 4-trifluorometilbenzoil (**4e**); 3,4-diklorobenzoil (**4f**); dan 4-nitrobenzoil (**4g**).

Pada penelitian ini telah dikaji kondisi dan lama waktu reaksi sintesis pada tahap 2 yang optimum. Senyawa **4a**, **4b**, **4c**, **4d**, dan **4g** optimum disintesis dengan metode refluks suhu 40°C selama 6 jam, sedangkan senyawa **4e** dan **4f** reaksi dilakukan pada *icebath* selama 11 dan 17 jam. Proses pemurnian semua produk sintesis, senyawa **4**, dieluasi menggunakan eluen heksana : aseton (6 : 4). Hasil pemurnian produk sintesis menggunakan kromatografi kolom menghasilkan fraksi terpilih fraksi 9 – 25 (senyawa **4a**); fraksi 24 (senyawa **4b**); fraksi 14 – 19 (senyawa **4c**); fraksi 23 – 32 (senyawa **4d**); fraksi 12 – 16 (senyawa **4e**); fraksi 8 – 15 (senyawa **4f**); dan fraksi 11 – 17 (senyawa **4g**). Berdasarkan data FTIR dan ¹HNMR fraksi-fraksi tersebut, diperoleh kesimpulan bahwasanya semua turunan 5-Fu bisa disintesis menggunakan metode yang diusulkan pada penelitian ini.

Kata kunci: 5-Fluorourasil, Sintesis, Sitotoksik, COX-2, Docking

EXECUTIVE SUMMARY

Pengembangan Obat Turunan 5-Fluorourasil sebagai Agen Antikanker dengan Pendekatan Molekuler

Peneliti : Ika Oktavianawati¹, Ayik Rosita Puspaningtyas²
Mahasiswa Terlibat : Cahyaning IA², Sherla F², Putri AR², Ifada², Nita E², Dian RP²,
Mayasari KND²
Sumber Dana : DIKTI
Kontak Email : bag_cha@yahoo.com
Diseminasi : belum ada

¹ Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jember

² Fakultas Farmasi, Universitas Jember

Latar Belakang dan Tujuan Penelitian

5-Fluorourasil (5-Fu) adalah obat kanker antimetabolit yang telah lama digunakan dan telah disintesis sejak tahun 1957 dan banyak dimanfaatkan di dunia untuk pengobatan penyakit kanker karena jarang menimbulkan efek samping. Namun berdasarkan penelitian sebelumnya telah dilaporkan bahwa produk obat 5-Fu memiliki efikasi rendah dan tingkat toksisitas yang relatif tinggi (Pan, *et al.*, 2011). Sehingga perlu dilakukan modifikasi struktur 5-Fu sebagai agen antikanker yang lebih potensial dan bersahabat.

Beberapa literatur telah melaporkan bahwa turunan 5-Fu dihasilkan dari substitusi pada atom *N* struktur dasarnya menggunakan asam amino, peptida, fosfolipid, ester dan polimer. Senyawa-senyawa tersebut dapat memperbaiki sifat farmakologi dan farmakokinetika dari 5-Fu sehingga dapat meningkatkan bioaktivitas, selektifitas, stabilitas metabolisme, dan absorpsinya, serta dapat menurunkan efek sampingnya (Tian *et al.*, 2007; Zhang *et al.*, 2006; Zuo *et al.*, 2001; Xiong *et al.*, 2009).

Tian *et al.* (2007) telah mensintesis beberapa turunan 5-Fu melalui reaksi esterifikasi dengan senyawa asam karboksilat. Namun reaksi tersebut memiliki kelemahan yaitu sulit berlangsung jika tidak digunakan katalis. Porsen hasil reaksi yang diperoleh dengan metode Tian *et al.* (2007) ini juga relatif rendah. Salah satu sebabnya adalah proses pemisahan yang sulit dilakukan karena reagen karboksilat dan produk sintesis berada dalam satu fasa.

Pada penelitian serupa, Puspaningtyas (2011) telah mensintesis turunan dari 5-Fu dengan substituent 4-klorobenzoil. Hasil uji aktivitas antikanker secara *in vitro* dari senyawa tersebut menunjukkan bahwa substituen klorobenzoil pada posisi –para (4) memiliki aktivitas tinggi. Sehingga berdasarkan metode topliss, substituent pengganti yang dapat digunakan adalah 4-nitro; 3,4-dikloro; dan 4-CF₃ benzoil. Namun personal komunikasi dengan peneliti dari UNAIR, diperoleh informasi bahwa substituen 4-klorobenzoil yang memiliki aktivitas antikanker rendah secara *in vitro* ternyata menunjukkan hasil yang berkebalikan jika diuji secara *in vivo*. Sehingga dalam penelitian ini akan dikaji pula substituen pengganti 4-klorobenzoil melalui pendekatan topliss dengan menggunakan 2-kloro; 3-kloro; 3-nitro; dan 4-metoksi benzoil.

Berdasarkan keterangan diatas, maka dalam penelitian ini akan disintesis serangkaian turunan 5-Fu dengan berbagai variasi substituen benzoil pada berbagai posisi substitusi (tujuh senyawa). Senyawa hasil sintesis yang diperoleh kemudian diuji kemurniannya dan dilakukan penentuan struktur dengan FTIR dan ¹HNMR. Penentuan aktivitas antikanker turunan 5-fluorourasil dilakukan secara *in vitro* menggunakan sel kanker payudara MCF-7 dengan metode MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) dan hambatan ekspresi COX-2.

Secara ringkas penelitian ini diharapkan dapat memproduksi beberapa senyawa baru yang mempunyai aktivitas sitotoksik/antikanker secara *in vitro* dan hambatan ekspresi COX-2 yang lebih besar dibandingkan 5-Fu. Serangkaian informasi yang bermanfaat tentang hubungan antara struktur dan aktivitas dapat dikembangkan lebih lanjut untuk turunan 5-Fu supaya didapatkan senyawa sitotoksik atau antikanker baru serta hambatan COX-2 yang lebih efektif dan dijadikan suatu model untuk penemuan senyawa baru turunan 5-Fu.

Metodologi Penelitian

Bahan : 5-Fluorourasil (prosintesis/Merck), benzoil klorida (Sigma), 3,4-diklorobenzoil klorida (Sigma), 4-CF₃ benzoil klorida (Sigma), 3-nitrobenzoil klorida (Sigma), 4-metoksi benzoil klorida (Sigma), 3-klorobenzoil klorida (Sigma), 2-klorobenzoil klorida (Sigma), formaldehid (prosintesis/), trietilamin (Merck), aseton (Merck), eter (Merck), trietilamin (Merck), kloroform (Merck), Silika gel 60 F 254, dietil eter (Merck), kloroform (Merck), metanol (Merck), etil asetat (Merck), aseton (Merck), metanol (Merck), aquadest, KBr pro spektrometri, D₃CCOCD₃ (aseton-d6) pro NMR, tetrametilsilan pro NMR

Alat : Pemanas dan pengaduk magnetik, timbangan analitik, alat refluks, chamber KLT, lampu UV 254 nm, TLC scanner, penentu titik leleh Electrothermal, ¹HNMR frekuensi

gelombang radio 500 Mhz, Spektrofotometer FTIR.

Sintesis turunan 5-fluorourasil dan derivatnya

Tahap pertama dilakukan dengan mereaksikan 5 Fu dengan formaldehid dan aquadest pada labu alas bulat pada suhu 60°C selama 6 jam untuk mendapatkan senyawa 1-hidroksimetil-5-fluorourasil. Hasil refluks diuapkan sampai habis kemudian residunya dilarutkan dalam aseton 50 ml. Selanjutnya pada tahap kedua ditambahkan trietilamin dan benzoil klorida untuk reaksi substitusi nukleofilik dari corong pisah ke dalam labu setetes demi setetes selama 30 menit hingga habis sambil diaduk dalam bak es. Campuran dipanaskan pada suhu 40°C selama 4 jam sambil diaduk (temperatur dan lama waktu reaksi dioptimasi). Hasil reaksi diuapkan dengan evaporator sampai pelarutnya habis kemudian diekstrak dengan air dan etil asetat lalu dicuci dengan HCl pH 3-4. Perlakuan ini dilakukan sebanyak 3 kali. Selanjutnya fase etil asetat dicuci dengan NaHCO₃ pH 7-8 dan dipisahkan sehingga diperoleh fase etil asetat. Perlakuan ini dilakukan sebanyak 3 kali. Kemudian dikeringkan dengan natrium sulfat anhidrat. Fase etil asetat diuapkan dengan evaporator sampai habis. Residu yang tersisa dimurnikan dengan kromatografi kolom dengan eluen heksan : aseton (6:4).

Untuk sintesis turunan 5-Fu lainnya menggunakan prosedur sintesis yang sama dengan uraian di atas. Namun pada tahap kedua penggunaan benzoil tersubstitusi diganti dengan substituen lainnya antara lain 3,4-dikloro; 4-CF₃; 2-kloro; 3-kloro; 3-nitro; dan 4-metoksi.

Karakterisasi Produk Sintesis Turunan 5-Fu

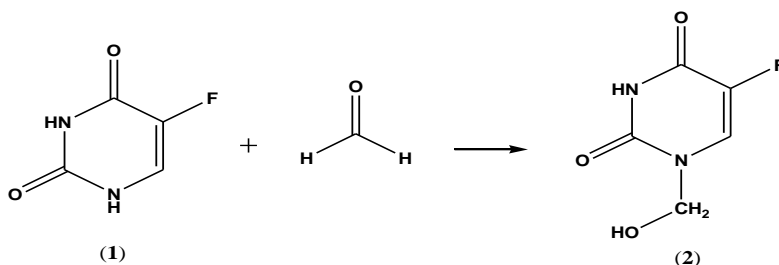
Produk sintesis dari turunan 5-Fu dikarakterisasi dan diuji kemurniannya menggunakan TLC Scanner atau densitometer, melting point apparatus, FTIR dan ¹HNMR.

Hasil yang dicapai

Pada penelitian ini telah disintesis tujuh senyawa turunan 5-fluorourasil (5-Fu) melalui dua tahapan reaksi yaitu antara 5-fluorourasil dengan formaldehid melalui reaksi alkilasi, yang kemudian dilanjutkan dengan reaksi esterifikasi dengan benzoil klorida berbagai substituen. Setelah proses sintesis dilakukan, dilanjutkan dengan optimasi eluen. Optimasi kondisi sintesis dilakukan melalui optimasi waktu refluks tahap 2 (esterifikasi). Proses selanjutnya adalah purifikasi menggunakan kromatografi kolom untuk mendapatkan senyawa murni yang kemudian diuji karakteristiknya meliputi uji organoleptis, uji jarak lebur, uji kemurnian dan identifikasi struktur dengan FTIR dan ¹HNMR.

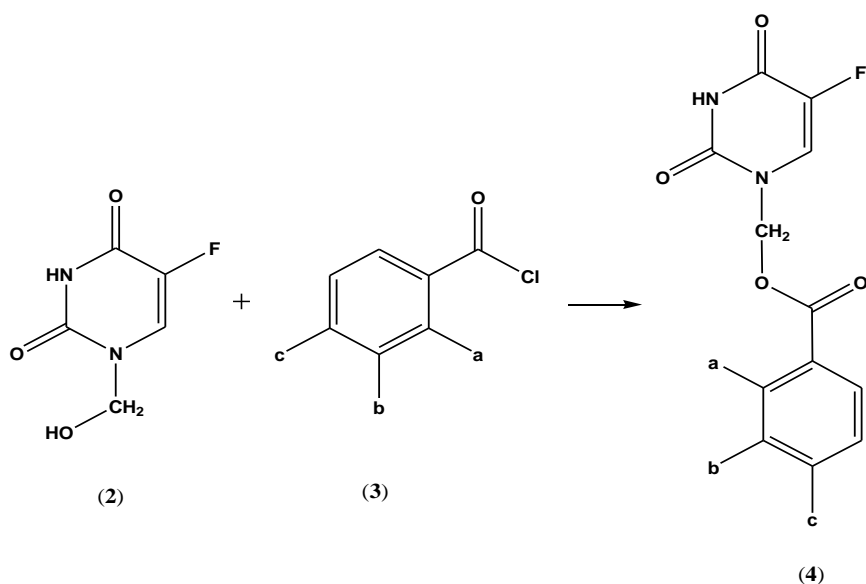
Proses Sintesis Turunan 5-Fu

Metode sintesis yang digunakan dalam penelitian ini adalah alkilasi (melalui pembentukan alkohol) dan esterifikasi (dengan reaksi benzoilasi). Alkilasi terjadi antara 5-Fu (1) dengan formadehid. Reaksi tersebut merupakan proses pembentukan 1-hidroksimetil-5-fluorourasil, senyawa 2 (Gambar 1).



Gambar 1. Reaksi tahap 1: pembentukan 1-hidroksimetil-5-fluorourasil (2)

Pada tahap kedua akan terbentuk turunan 5-Fu dengan mekanisme reaksi adisi nukleofilik dan eliminasi ion klorida pada substituen benzoil klorida (Gambar 2). Benzoil klorida dengan variasi substituen merupakan senyawa yang sangat reaktif, dan mudah terhidrolisis menjadi bentuk asam benzoatnya apabila kontak dengan molekul H₂O.



Gambar 2 Reaksi tahap 2 sintesis turunan 5-fluorourasil dengan substituen benzoil klorida.

Senyawa (3):

3a : a = H; b = Cl; c = H : 3-kloro benzoil klorida

3b : a = Cl; b = H; c = H : 2-kloro benzoil klorida

3c : a = H; b = NO₃; c = H : 3-nitro benzoil klorida

3d : a = H; b = H; c = OCH₃ : 4-metoksi benzoil klorida

3e : a = H; b = H; c = CF₃ : 4-trifluorometil benzoil klorida

3f : a = H; b = Cl; c = Cl : 3,4-dikloro benzoil klorida

3g : a = H; b = H; c = NO₃ : 4-nitro benzoil klorida

Senyawa (**4**):

4a : a = H; b = Cl; c = H : 1-(3-klorobenzoil oksimetil)-5-fluorourasil

4b : a = Cl; b = H; c = H : 1-(2-klorobenzoil oksimetil)-5-fluorourasil

4c : a = H; b = NO₃; c = H : 1-(3-nitrobenzoil oksimetil)-5-fluorourasil

4d : a = H; b = H; c = OCH₃ : 1-(4-metoksibenzoil oksimetil)-5-fluorourasil

4e : a = H; b = H; c = CF₃ : 1-(4-trifluorometilbenzoil oksimetil)-5-fluorourasil

4f : a = H; b = Cl; c = Cl : 1-(3,4-diklorobenzoil oksimetil)-5-fluorourasil

4g : a = H; b = H; c = NO₃ : 1-(4-nitrobenzoil oksimetil)-5-fluorourasil

Optimasi Eluen

Optimasi dilakukan untuk menentukan eluen yang sesuai untuk uji kemurnian dan proses purifikasi dengan kromatografi kolom dan KLT. Eluen optimal dipilih berdasarkan kemampuan eluen dalam memisahkan analit dan noda terlihat jelas tanpa ada *tailing*. Dimana hal ini dinyatakan dengan nilai R_f dan R_s yang optimum namun masih memenuhi syarat nilai R_f dan R_s yang baik yaitu 0,2 sampai 0,8 dan lebih dari 1,5. Perbandingan nilai R_s pada penggunaan kedua jenis eluen tersebut dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil optimasi eluen terhadap pemisahan produk turunan 5-Fu

Produk turunan 5-Fu	R _s dari Eluen Heksana:Aseton	
	7:3	6:4
4a	1,04 (tailing)	1,00
4b	0,70	1,67
4c	0,59	2,97
4d	1,41	2,40
4e	0,94	1,57
4f	0,66	1,33
4g	1,17	2,17

Berdasarkan besarnya nilai R_s pada tabel, dapat diperoleh kesimpulan bahwasanya mayoritas semua senyawa turunan 5-Fu mengalami pemisahan yang lebih baik jika menggunakan eluen heksana : aseton (6 : 4), kecuali pada senyawa **4a**. Namun pemisahan KLT pada senyawa **4a**

menunjukkan bahwasanya terdapat tailing noda jika diekspansi menggunakan eluen heksana : aseton (7 : 3). Sehingga eluen yang dipilih tetap adalah heksana : aseton (6 : 4).

Optimasi Lama Waktu Refluks Tahap 2

Optimasi waktu refluks tahap 2 dilakukan untuk menentukan waktu optimum dalam menghasilkan produk sintesis yang optimum juga. Pada sintesis Tian (2007) sudah dilakukan optimasi reaksi tahap 1 dan dilanjutkan dengan optimasi yang dilakukan oleh Puspaningtyas (2011) mengenai waktu dan suhu refluks yang optimum yaitu 6 jam dengan suhu 60°C. Suhu refluks tahap 2 juga sudah dilakukan optimasi oleh Puspaningtyas (2011) yaitu ditemukan suhu 40°C yang merupakan suhu optimum dimana produk yang akan dihasilkan berbentuk kristal. Namun karena substituen benzoil klorida yang digunakan dalam penelitian ini berbeda dengan yang digunakan Puspaningtyas (2011), maka perlu dilakukan optimasi kondisi (lama waktu reaksi) sintesis tahap kedua tersebut.

Lama waktu refluks yang optimum (tabel 2) diperoleh dengan cara membandingkan luas area noda produk dan bahan awal pada kromatogram dari reaksi pada masing-masing variasi waktu. Waktu reaksi yang dipilih adalah waktu dimana perbandingan luas area kromatogram produk dengan bahan awal yang paling kecil.

Tabel 2. Hasil optimasi lama waktu reaksi tahap 2 pada sintesis turunan 5-Fu

Produk turunan 5-Fu	Kondisi reaksi (suhu)	Lama waktu reaksi (jam)
4a	Refluks (40°C)	6
4b	Refluks (40°C)	6
4c	Refluks (40°C)	6
4d	Refluks (40°C)	6
4e	Icebath (0°C)	11
4f	Icebath (0°C)	17
4g	Refluks (40°C)	6

Purifikasi dan Karakterisasi Senyawa Hasil Sintesis

Pemisahan produk sintesis tahap kedua pada semua senyawa **4** menghasilkan beberapa kelompok fraksi. Fraksi yang dipilih untuk uji ¹HNMR merupakan fraksi yang memiliki satu noda saja, dengan R_f sama dengan R_f produk sintesis pada saat optimasi eluen. Senyawa murni dikarakterisasi fisik meliputi uji bentuk dan warna serta jarak lebur (Tabel 3).

Tabel 3. Data karakter fisik dari senyawa produk turunan 5-Fu

Senyawa Produk Sintesis	Nomor Fraksi Hasil Pemurnian	Jarak Lebur (°C)	Kondisi Fisik
4a	9 – 25	166 – 167	Serbuk hablur, vonim
4b	24	193 – 194	Serbuk kuning pucat
4c	14 – 19	116 – 117	Serbuk kuning pucat
4d	23 – 32	168 – 169	Kristal jarum putih kekuningan
4e	12 – 16	172 – 174	Kristal jarum putih
4f	8 – 15	184 – 186	Serbuk putih
4g	11 – 17	209 – 211	Kristal seperti benang putih

Identifikasi Struktur Senyawa

Identifikasi struktur pada kelompok fraksi produk sintesis turunan 5-Fu dilakukan menggunakan alat $^1\text{HNMR}$ dan FTIR. Untuk memastikan bahwa fraksi tertentu benar merupakan senyawa turunan 5-Fu yang diharapkan maka dilakukan identifikasi gugus fungsional senyawa menggunakan FTIR. Interpretasi serapan yang muncul pada spektrum FTIR kemudian dibandingkan dengan literatur.

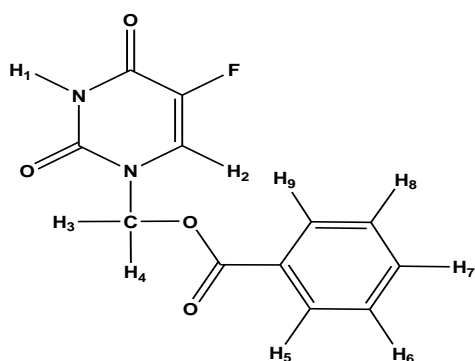
Kunci sukses terbentuknya produk sintesis turunan 5-Fu adalah munculnya serapan gugus karbonil dari ester. Frekuensi serapan karbonil ester ini muncul didaerah $1750 - 1730 \text{ cm}^{-1}$. Sementara itu signal $-\text{OH}$ didaerah 3400 cm^{-1} pada senyawa **2** diharapkan juga hilang karena telah membentuk ester dengan substituen benzoil klorida. Tabel 4 menunjukkan serapan gugus fungsi yang umum terdapat pada turunan 5-Fu, senyawa **4**.

Tabel 4. Spektrum FTIR senyawa 4a – 4g.

Gugus Fungsi	Frekuensi dalam cm^{-1}						
	4a	4b	4c	4d	4e	4f	4g
C=O amida	1661	1673	1651	1672	1659	1697	1672
-NH sekunder	3424	3439	3441	3421	3447	3404	3466
C=O ester	1707	1737	1735	1738	1725	1722	1727
C-Cl	791	1039	-	-	-	795 1036	-
-NO ₂ aromatis	-	-	1365	-	-	-	1523

			1216				1352
Ar-eter	-	-	-	1713	-	-	-
Polifluoro alkana	-	-	-	-	1329	-	-

Spektra $^1\text{HNMR}$ yang dihasilkan dibandingkan dengan spektra prediksi dari software ChemOffice 2008 dan literatur (tabel 5). Spektra utama $^1\text{HNMR}$ yang menandai terbentuknya produk yang diharapkan adalah munculnya spektra proton gugus $-\text{CH}_2-$ pada 6 ppm sebagai perwakilan spektra ikatan antara senyawa **2** dengan substituen benzoil klorida **3**. Pergeseran kimia hidrogen pada gugus $-\text{CH}_2-$ ini lebih besar dibandingkan literatur (4,93) dikarenakan karbon pada gugus tersebut terikat pada dua heteroatom (O dan N). Spektra gugus $-\text{NH}-$ sesuai prediksi akan muncul pada pergeseran kimia 10 ppm. Namun kadangkala spektra proton gugus NH pada geseran kimia 10 ppm tidak muncul dikarenakan lemahnya kualitas spektra. Sementara itu *residu peak* dari aseton- d_6 biasanya juga muncul pada geseran 2 ppm.



Tabel 5. Spektrum $^1\text{HNMR}$ senyawa 4a – 4g dalam aseton- d_6 .

No. H	δ_{H} (multiplisitas) Hz						
	4a	4b	4c	4d	4e	4f	4g
1	10.6 (s)	-	-	10.64 (s)	10.67 (s)	10.7 (s)	10.59 (s)
2	7.58 (t)	8.09 (s)	7.44 (st)	8.04 (d)	8.11 (d)	8.15 (d)	8.11 (m)
3	6 (s)	5.97 (s)	5.35 (s)	5.91 (s)	6.01 (s)	5.98 (s)	6.01 (s)
4	6 (s)	5.97 (s)	5.35 (s)	5.91 (s)	6.01 (s)	5.98 (s)	6.01 (s)
5	8.1 (d)	7.89 (m)	8.71 (d)	7.03 (d)	8.24 (d)	7.96 (m)	8.29 (m)
6	-	7.45 (m)	-	7.12 (d)	7.89 (d)	-	8.37 (m)
7	8.0 (d)	7.58 (m)	8.37 (m)	-	-	-	-
8	7.72 (d)	7.54 (m)	7.83 (d)	7.12 (d)	7.89 (d)	7.76 (d)	8.39 (m)
9	8 (d)	-	8.47 (s)	7.03 (d)	8.24 (d)	7.74 (d)	8.31 (m)
7-OCH ₃	-	-	-	3.89 (s)	-	-	-

Kesimpulan

Pada penelitian ini telah dikaji kondisi dan lama waktu reaksi sintesis pada tahap 2 yang optimum. Senyawa **4a**, **4b**, **4c**, **4d**, dan **4g** optimum disintesis dengan metode refluks suhu 40°C selama 6 jam, sedangkan senyawa 4e dan 4f reaksi dilakukan pada *icebath* selama 11 dan 17 jam. Proses pemurnian semua produk sintesis, senyawa **4**, diekstraksi menggunakan eluen heksana : aseton (6 : 4). Hasil pemurnian produk sintesis menggunakan kromatografi kolom menghasilkan fraksi terpilih fraksi 9 – 25 (senyawa **4a**); fraksi 24 (senyawa **4b**); fraksi 14 – 19 (senyawa **4c**); fraksi 23 – 32 (senyawa **4d**); fraksi 12 – 16 (senyawa **4e**); fraksi 8 – 15 (senyawa **4f**); dan fraksi 11 – 17 (senyawa **4g**). Berdasarkan data FTIR dan ¹HNMR fraksi-fraksi tersebut, diperoleh kesimpulan bahwasanya semua turunan 5-Fu bisa disintesis menggunakan metode yang diusulkan pada penelitian ini.

Kata Kunci : 5-Fluorourasil, Sintesis, Sitotoksik, COX-2, Docking

Referensi

- Avendan˜o, C., and Mene´ndez, J. C., 2008. *Medicinal Chemistry of Anticancer Drugs*, Ed 1st, UK: Elsevier Ltd., pp. 18-31.
- Puspaningtyas, A.R., 2011. Modifikasi struktur 5 fluorourasil menjadi benzoil oksimetil 5-fluorourasil dan aktivitas sitotoksiknya pada MCF-7. Tesis. Universitas Airlangga.
- Tian, Z. Y., Du, G. J., Xie, S. Q., Zhao, J., Gao, W. Y., and Wang, C. J., 2007. Synthesis and Bioevaluation of 5-Fluorouracil Derivatives. *Molecules* 12 : 2450-2457.
- Xiong, J., Zhu, H. F., Zhao, Y. J., Lan, Y. J., Jiang, J. W., Yang, J. J., and Zhang, S. F., 2009. Synthesis and Antitumor Activity of Amino Acid Ester Derivatives Containing 5-Fluorouracil. *Molecules* 14 : 3142-3152.
- Zhang, F.M., Yao, X. J., Tian, X and Tu, Y. Q., 2006. Synthesis and Biological Evaluation of New 4β-5-Fu-substituted 4'-Demethylepipodophyllotoxin Derivatives. *Molecules* 11 : 849-857.
- Zuo, D. S., Jiang, T., Guan, H. S., Wang, K. Q., Qi, X., and Shi, Z., 2001. Synthesis, Structure and Antitumor Activity of Dibutyltin Oxide Complexes with 5-Fluorouracil Derivatives. Crystal Structure of [(5-Fluorouracil)-1-CH₂CH₂COOSn(*n*-Bu) 2]4O₂. *Molecules* 6 : 647-654.