

JIKTI

JURNAL KIMIA TERAPAN INDONESIA

Analisis, Identifikasi Precursor dan Hasil Degradasi Senyawa Senjata Kimia Menggunakan Teknik Gas Chromatography Mass Spectrometry - Electron Ionisasi (Gcms-Ei) / *Analysis, Precursor Identification and Degradation Chemical Compounds Related To Chemical Weapons Using Gas Chromatography Mass Spectrometry - Electron Ionisasi (Gcms-Ei)*

Development and Validation of a TLC Densitometric Method for Determination of Glimperide in Tablets / *Pengembangan dan Validasi Metode TLC Densitometri untuk Determinasi Glimperide dalam Sediaan Tablet.*

Isolasi Senyawa Antioksidan dalam Ekstrak Heksana Kulit Batang Manggis Hutan (*garcinia bancana miq*) / *Isolation Antioxidant Compound on Hexane Extract Barks of Garcinia bancana Miq.*

Kandungan Inulin dari Umbi Dahlia sp yang ditanam pada Jenis Tanah Vertisol, Inceptisol dan Andisol / *Inulin Content of the Planted Dahlia sp on Different Soiltype Vertisol, Inceptisol and Andisol.*

Sintesis, Uji Aktivitas Sitotoksik *in Vitro* dan Molecular Docking Senyawa 1-(4-klorobenzol)-1, 3-dimetilurea / *Synthesis, in Vitro Cytotoxic Activity and Molecular Docking of 1-benzoyl-1, 3-dimethylurea.*

Separation of Savory Fraction from Autolysate of Kidney Bean (*Phaseolus vulgaris L.*) Fermented by *Rhizopus sp-p19* Through Cross-Flow Microfiltration (CFMF) Membrane Module / *Pemisahan Fraksi Gurih dari Autolisat Kacang Merah (Phaseolus vulgaris L.) Terfermentasi oleh Rhizopus sp-p19 Melalui Modul Membran Mikrofiltrasi Cross-Flow (MFCF).*

Sintesis dan Karakterisasi Nanofiber Komposit Zn-PVDF Kopolimer / *Synthesis and Characterization of Zn-PVDF Copolymer Nanofiber Composite*

Melacak Pelaku Terorisme Melalui Penentuan Kandungan Kation dan Anion dalam Sampel Hasil Pencucian Telapak Tangan Pelaku dengan Teknik Kromatografi Ion / *Tracing Terrorist Through the Determination of Cations and Anions Concentration in Palm Washing Sample Using Ion Chromatography Technique.*



PUSAT PENELITIAN KIMIA
LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA

LIPI

Jurnal Kimia Terapan Indonesia	Vol. 16	No. 1	Hal. 1 - 61	Bandung Juni 2014	ISSN 0853 - 2788
-----------------------------------	---------	-------	-------------	----------------------	---------------------

Jurnal Kimia Terapan Indonesia (JKTI)

Sebagai Majalah Ilmiah SK LIPI Nomor : 540/AU1/P2MI/LIPI/06/2013

Masa Berlaku Bulan : Juli 2013 - Juli 2016

Terbit : 2 kali dalam setahun (Juni dan Desember)

CALL FOR PAPER

Redaksi menerima sumbangan naskah yang ditulis sesuai dengan Pedoman Penulisan Naskah JKTI, lihat pada halaman dalam belakang Pedoman untuk Penulis.

SUSUNAN PENGELOLA

DEWAN KEHORMATAN :

Kepala Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia
Deputi Bidang Ilmu Pengetahuan Teknik

PENANGGUNG JAWAB :

Kepala Pusat Penelitian Kimia LIPI

DEWAN EDITOR :

Ketua:

Prof. Dr. Muhammad Hanafi, M.Sc (Peneliti Bidang Kimia Bahan Alam PP Kimia LIPI)

Anggota :

Dr. Lina Zalinar Udin (Peneliti Bidang Biologi PP Kimia LIPI)
Dr. Ir. Hari Rom Hariyadi, M.Phil (Peneliti Bidang Lingkungan PP Kimia LIPI)
Dr. (Eng) Agus Haryono (Peneliti Bidang Teknik Kimia PP Kimia LIPI)
Dr. (Eng) Haznan Abimanyu (Peneliti Bidang Kimia Katalis PP Kimia LIPI)
Dr. Rosi Ketrin (Peneliti Bidang Kimia Analitik dan Standar PP Kimia LIPI)
Dr. Endang Syaefudin (FMIPA Kimia UI)

MITRA BESTARI :

Prof. (R). Dr. L. Broto Sugeng Kardono (Farmasi PP Kimia LIPI)
Prof. Dr. Andreanus A. Sumardji (Farmasi ITB)
Prof. Dr. Tjandra Setiadi (Teknik Kimia ITB)
Prof. Dr. H. Buchari (FMIPA Kimia ITB)
Prof. Dr. Muljadji Agma (FMIPA Kimia UNPAD)
Prof. Dr. Enri Damanhuri (Teknik Lingkungan ITB)
Prof. Dr. Anna Permanasari (FPMIPA Kimia UPI)

REDAKSI PELAKSANA :

Ir. Suhermanto
Jony Winaryo Wibowo, MT
Herlian E. Saputra, MT
Dina Roeslaeni, MT
Nandang Sutiana, Amd

ALAMAT REDAKSI :

Majalah Jurnal Kimia Terapan Indonesia (JKTI)
Pusat Penelitian Kimia – LIPI
Jl. Cisituh – Sangkuriang Bandung – 40135
Telpon. (022) 250.3051, 250.7769
Fax : (022) 250.3240
Website : <http://www.kimia.lipi.go.id>
Email : jkti_ppkimialipi@yahoo.com

SINTESIS, UJI AKTIVITAS SITOTOKSIK *IN VITRO* DAN MOLECULAR DOCKING SENYAWA 1-(4-KLOROBENZOIL)-1, 3-DIMETILUREA

SYNTHESIS, *IN VITRO* CYTOTOXIC ACTIVITY AND MOLECULAR DOCKING OF 1-BENZOYL-1, 3-DIMETHYLUREA

Dian Agung Pangaribowo¹⁾, Siswandono²⁾ dan Bambang Tri Purwanto³⁾

¹⁾Fakultas Farmasi Universitas Jember, Jl. Kalimantan 1/2 Kampus Tegalboto Jember 68121

²⁾Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, Jl. Dharmawangsa Dalam Surabaya 60286

Email: agung.pangaribowo@gmail.com

Diterima : 5 Maret 2014, Revisi : 14 Maret 2014, Disetujui : 25 Maret 2014

ABSTRAK

Senyawa 1-(4-klorobenzoil)-1,3-dimetilurea telah dirancang, disintesis, diidentifikasi struktur, dan diuji aktivitas sitotoksik secara *in vitro*. Simulasi *docking* dilakukan dengan memposisikan senyawa ke dalam sisi aktif reseptor *Checkpoint kinase 1* (Chk1) untuk menentukan model pengikatan ligan reseptor. Sintesis 1-(4-klorobenzoil)-1,3-dimetilurea dilakukan lewat reaksi asilasi antara 1,3-dimetilurea dan 4-klorobenzoil klorida. Kemurnian produk hasil sintesis ditentukan dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Identifikasi struktur dilakukan dengan spektrofotometer UV, FT-IR dan spektrometer NMR. Hasil uji antiproliferatif menunjukkan bahwa senyawa 1-(4-klorobenzoil)-1,3-dimetilurea memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel HeLa yang lebih baik dibandingkan dengan kontrol positif yaitu hidroksiurea. Senyawa 1-(4-klorobenzoil)-1,3-dimetilurea dengan potensi aktivitas sitotoksik ini dapat menjadi agen antikanker yang potensial.

Kata kunci : 1-(4-klorobenzoil)-1,3-dimetilurea, *molecular docking*, sintesis, aktivitas sitotoksik, hidroksiurea

ABSTRACT

A novel 1-(4-chlorobenzoyl)-1,3-dimethylurea has been designed, synthesized, structurally determined, and the *in vitro* cytotoxic activity was evaluated. Docking simulation was performed to position this compound into the *Checkpoint kinase 1* (Chk1) active site to determine the probable binding model. Synthesis of 1-(4-chlorobenzoyl)-1,3-dimethylurea was completed by acylation reaction between 1,3-dimethylurea and 4-chlorobenzoyl chloride. The purity of synthesized product was determined by Thin Layer Chromatography. Structure identification was performed by UV spectrophotometer, FT-IR and NMR spectrometer. Antiproliferative assay result demonstrated that this compound possessed good cytotoxic activity against HeLa cells, which is comparable to the positive control,

hydroxyurea. This compound with potent cytotoxic activity might be a potential anticancer agent.

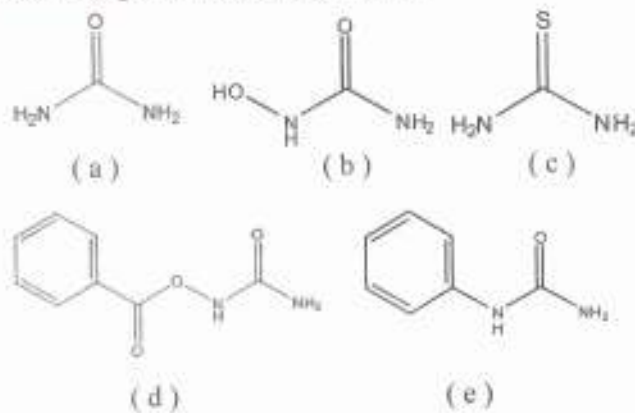
Keywords : 1-(4-chlorobenzoyl)-1,3-dimethylurea, *molecular docking*, synthesis, cytotoxic activity

PENDAHULUAN

Kanker merupakan permasalahan kesehatan masyarakat yang utama di Indonesia dan negara lain di dunia. Sebagai negara berkembang, prevalensi penyakit tumor/kanker di Indonesia adalah 1,4 per 1.000 penduduk. Kanker merupakan penyebab kematian nomor 7 setelah stroke, tuberkulosis, hipertensi, cedera, perinatal, dan *Diabetes Mellitus*⁽¹⁾. Pada tahun 2012 terdapat 1.638.910 kasus kanker baru di Amerika Serikat, dengan perkiraan kasus kematian sejumlah 577.190⁽²⁾.

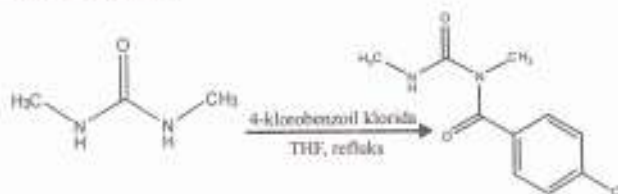
Beberapa penelitian telah dilakukan pada turunan urea sebagai senyawa antineoplastik. Song, dkk⁽³⁾ mensintesis 14 senyawa baru turunan fenilurea. Diantara senyawa analog tersebut, senyawa dengan gugus bromoasetil pada posisi N' menunjukkan aktivitas terhadap delapan jenis sel tumor dengan nilai IC₅₀ berkisar antara 0,38 sampai 4,07 µM. Saeed, dkk⁽⁴⁾ melakukan sintesis turunan tiourea yang berikatan dengan gugus benzotiazol. Uji aktivitas antikanker turunan tiourea tersebut dilakukan dengan menggunakan sel HeLa dan MCF-7. Dari penelitian didapatkan nilai IC₅₀ senyawa turunan tiourea dengan menggunakan sel MCF-7 berkisar antara 18,10-45,72 µM, dan pada sel HeLa nilai IC₅₀ berkisar antara 38,85-

75,13 μM . Hardjono⁽⁹⁾ melakukan modifikasi struktur 1-(benzoiloksi)urea dan mencari hubungan kuantitatif struktur aktivitas sitotoksiknya secara *in vitro* terhadap sel HeLa. Struktur senyawa turunan urea dan tiourea tersebut dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Struktur senyawa (a) urea, (b) hidroksiurea, (c) tiourea (d) 1-(benzoiloksi)urea, (e) fenilurea

Rancangan sintesis dalam penelitian ini adalah melakukan reaksi asilasi salah satu gugus amina pada 1,3-dimetilurea dengan 4-klorobenzoil klorida dalam pelarut tetrahidrofuran, dalam suasana basa dengan trietilamin. Prosedur sintesis senyawa turunan urea ini mengacu pada reaksi Schotten-Baumann yang telah dimodifikasi⁽¹⁰⁾.



Gambar 2. Skema sintesis senyawa 1-(4-klorobenzoil)-1,3-dimetilurea⁽¹⁰⁾

Uji *in silico* dilakukan dengan melakukan proses *docking* molekul kandidat obat terhadap reseptor melalui simulasi komputer. *Docking* molekul senyawa 1-(4-klorobenzoil)-1,3-dimetilurea dilakukan terhadap reseptor Chk1 yang dapat diunduh dari *Protein Data Bank*. Penentuan aktivitas antikanker turunan 1-(4-klorobenzoil)-1,3-dimetilurea dilakukan secara *in vitro* dengan metode MTT menggunakan sel HeLa, sesuai dengan uji aktivitas antikanker turunan urea pada penelitian sebelumnya. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan senyawa 1-(4-klorobenzoil)-1,3-dimetilurea dengan aktivitas antikanker yang lebih besar dibandingkan kontrol positif, yaitu hidroksiurea.

BAHAN DAN METODA

Bahan

Bahan baku sintesis: 1,3-Dimetilurea p.s (Merck), 4-Klorobenzoil klorida p.s (Aldrich), Tetrahidrofuran p.a (Merck), Etanol p.a (Merck), Trietilamin p.a (Merck)

Bahan uji sitotoksik: Reagen MTT [3-(4,5-dimetilthiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolium bromida]; *Fetal Bovine Serum* (FBS); penisilin; streptomisin; Kultur sel kanker *HeLa*; DMSO (dimetil sulfoksida); PBS (*phosphoric buffer solution*); SDS (sodiumdodesil sulfat).

Peralatan

Uji kemurnian senyawa hasil sintesis menggunakan plat KLT GF254. Identifikasi gugus kromofor menggunakan Spektrofotometer UV HP 8452A Diode Array pada kisaran panjang gelombang, $\lambda = 200-400$ nm dengan konsentrasi 10 ppm dalam pelarut etanol. Analisis gugus fungsi menggunakan Spektrofotometer FT-IR PERKIN ELMER *Spectrum One*. Sampel padatan yang digerus bersama KBr kemudian dibentuk menjadi cakram tipis dan serapannya diukur pada daerah infra merah. Konfirmasi struktur lebih lanjut ditentukan dengan ¹H-NMR dan ¹³C-NMR.

Metoda sintesis

Pada labu alas bulat 250 mL, dicampur 0,08 mol 1,3-dimetilurea dengan 50 mL tetrahidrofuran dan 0,08 mol trietilamin. Tambahkan larutan 4-klorobenzoil klorida 0,04 mol dalam 15 mL tetrahidrofuran sedikit demi sedikit sampai habis. Kemudian campuran direfluks di atas penangas air selama 4 jam. Jika reaksi dianggap telah selesai, campuran dicuci dengan 100 ml air sebanyak dua kali, kemudian disaring dengan corong Buchner. Proses rekristalisasi dilakukan dengan menggunakan etanol panas. Kristal yang terbentuk disaring dengan corong Buchner, dicuci dengan etanol 10 mL sebanyak dua kali. Kristal dikeringkan dalam oven pada suhu 60°C⁽¹¹⁾.

Metoda *molecular docking*

Molecular docking senyawa 1-(4-klorobenzoil)-1,3-dimetilurea dilakukan dengan menggunakan program *Molegro Virtual Docker* (MVD). Ligan di *docking* pada sisi aktif reseptor *Checkpoint kinase 1* (2YWP.pdb). Model pengikatan ligan reseptor dilihat melalui ikatan Hidrogen ligan reseptor dan nilai *Rerank Score*⁽¹²⁾.

Metoda uji sitotoksik secara in vitro

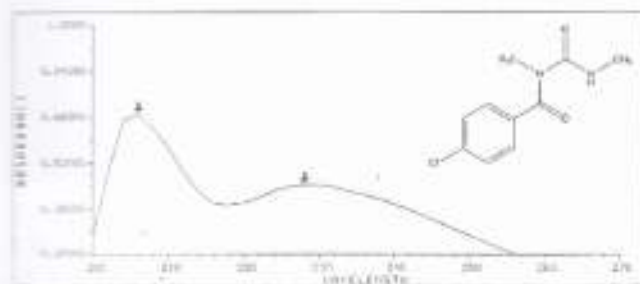
Kultur sel HeLa sejumlah 7×10^5 sel/well diinokulasikan ke dalam *microplate* 96 well plate dan diinkubasi dalam inkubator CO_2 . Hari kedua dilakukan penambahan sampel yang dilarutkan dalam pelarut DMSO (dimetil sulfoksida). Sampel dengan konsentrasi beragam diencerkan dengan penambahan PBS (*phosphoric buffer solution*) dengan pH (7,30–7,65) ditambahkan ke dalam sel dalam *microplate* lalu dikocok dan disimpan kembali dalam inkubator CO_2 . Setelah 48 jam, ke dalam sel ditambahkan reagen MTT dan diinkubasi selama 4 jam untuk selanjutnya ditambahkan SDS dan dikocok dengan baik. Inkubasi sel dilanjutkan kembali selama 24 jam. Perubahan warna dari MTT kuning menjadi formazan ungu di dalam mitokondria sel yang masih hidup dapat dikuantifikasi pada panjang gelombang $\lambda=550$ nm dengan *Microplate reader*. Nilai IC_{50} dilihat dari grafik hubungan antara konsentrasi senyawa bahan uji ($\mu\text{g}/\text{mL}$) dengan intensitas larutan dari viabilitas sel⁽⁹⁾.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sintesis senyawa 1-(4-klorobenzoil)-1,3-dimetilurea

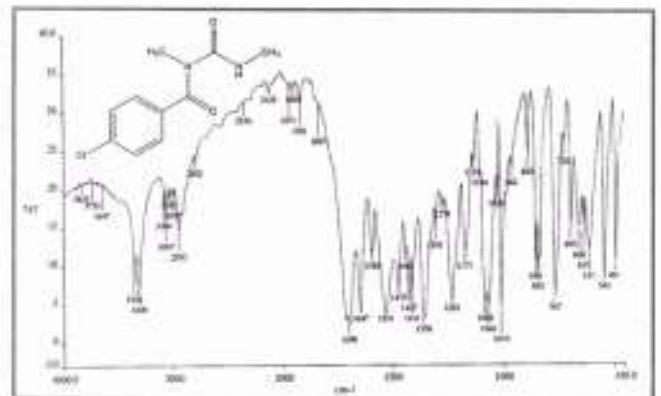
Skema sintesis senyawa 1-(4-klorobenzoil)-1,3-dimetilurea dapat dilihat pada Gambar 2. Dari reaksi tersebut dihasilkan rendemen sebesar 74,5%. Uji kemurnian dengan metode KLT menggunakan tiga komposisi eluen dengan polaritas yang berbeda dihasilkan noda tunggal.

Konfirmasi struktur 1-(4-klorobenzoil)-1,3-dimetilurea dengan menggunakan spektrum UV terlihat bahwa terbentuk dua puncak pada λ_{maks} 206 nm dan 228 nm. Absorbansi pada λ 228 nm dikarenakan adanya ikatan rangkap terkonjugasi dari cincin aromatis (Gambar 3)



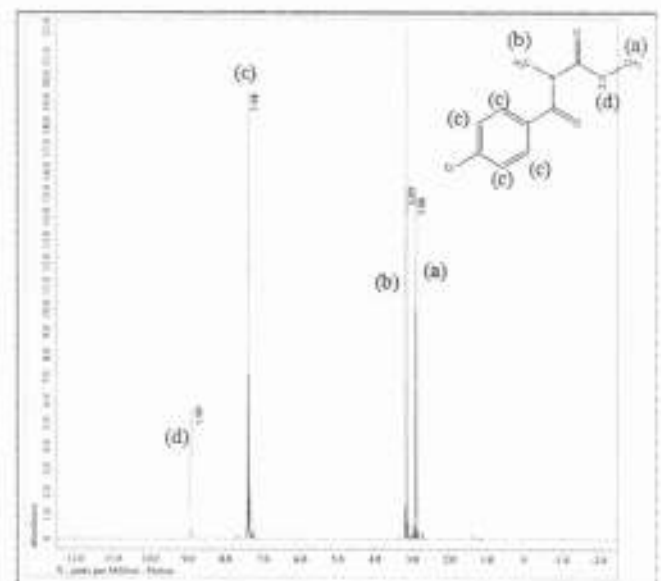
Gambar 3. Spektrum UV senyawa 1-(4-klorobenzoil)-1,3-dimetilurea dalam pelarut etanol

Pada spektrum IR terlihat adanya pita serapan pada 3309 cm^{-1} yang menunjukkan adanya gugus $-\text{NH}$; 1698 cm^{-1} dan 1647 cm^{-1} menunjukkan adanya dua gugus karbonil imida; 1531 cm^{-1} menunjukkan adanya $-\text{C}=\text{C}-$ aromatis. Terbentuknya dua pita serapan gugus karbonil $-\text{C}=\text{O}$ menunjukkan bahwa senyawa hasil sintesis terbentuk, karena senyawa asal hanya memiliki satu gugus karbonil $-\text{C}=\text{O}$ (Gambar 4).



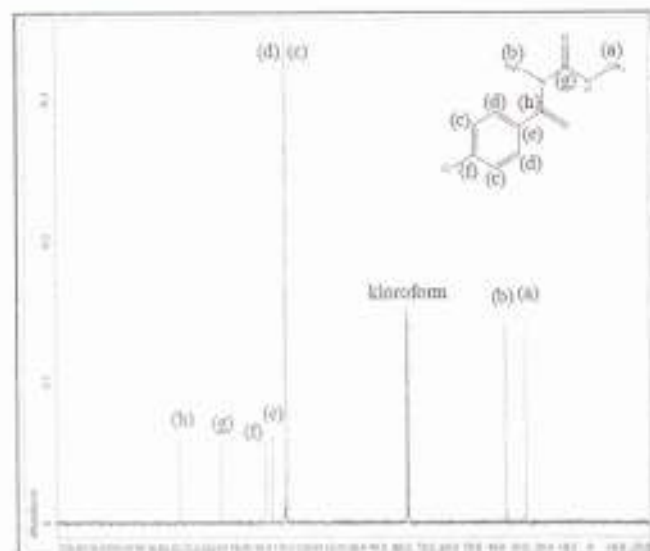
Gambar 4. Spektrum IR senyawa 1-(4-klorobenzoil)-1,3-dimetilurea dalam pelet KBr

Dari spektrum $^1\text{H-NMR}$ terlihat dua puncak singlet pada 2,88 ppm dan 3,14 ppm (a dan b) yang berasal dari atom H dua gugus metil. Puncak pada 7,32–7,42 ppm (c) berasal dari atom H cincin aromatis, dan puncak pada 8,92 ppm (d) berasal dari atom H gugus $-\text{NH}$ (Gambar 5).



Gambar 5. Spektrum $^1\text{H-NMR}$ senyawa 1-(4-klorobenzoil)-1,3-dimetilurea dengan pelarut kloroform

Dari spektrum ¹³C-NMR dapat dilihat dua puncak pada pergeseran kimia 27,18 ppm dan 35,84 ppm (a dan b) yang berasal dari dua atom C gugus metil. Cincin aromatis memberikan empat puncak yaitu pada 128,29 ppm; 129,06 ppm; 134,45 ppm; dan 137,05 ppm (c, d, e dan f). Dua puncak pada pergeseran kimia 155,79 ppm dan 173,53 ppm (g dan h) berasal dari dua atom C gugus karbonil -C=O (Gambar 6).



Gambar 6. Spektrum ¹³C-NMR senyawa 1-(4-klorobenzoil)-1,3-dimetilurea dalam pelarut kloroform

Uji sitotoksik *in vitro*

Metode yang digunakan dalam uji aktivitas sitotoksik adalah metode MTT[®]. Prinsip dari metode MTT adalah terjadinya reduksi garam kuning tetrazolium MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromida) oleh sistem reduktase. Suksinat tetrazolium yang termasuk dalam rantai respirasi dalam mitokondria sel-sel yang hidup membentuk kristal formazan berwarna ungu dan tidak larut air. Penambahan *reagen stopper* (bersifat detergenik) akan melarutkan kristal berwarna ini yang kemudian diukur absorbansinya menggunakan ELISA reader. Intensitas warna ungu yang terbentuk proporsional dengan jumlah sel hidup. Sehingga jika intensitas warna ungu semakin besar, maka berarti jumlah sel hidup semakin banyak.

Hasil uji sitotoksik senyawa 1-(4-klorobenzoil)-1,3-dimetilurea dapat dilihat pada Tabel 1. Berdasarkan nilai IC₅₀ pada tabel 1, dapat disimpulkan senyawa 1-(4-klorobenzoil)-1,3-dimetilurea memiliki aktivitas

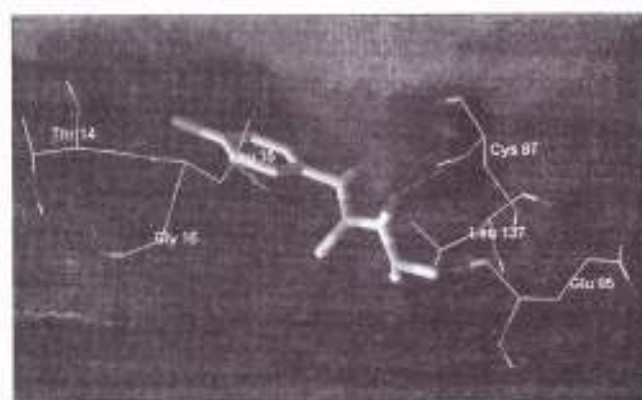
sitotoksik yang lebih besar dibandingkan dengan obat kanker yang telah beredar yaitu hidroksiurea

Tabel 1. Hasil uji sitotoksik senyawa 1-(4-klorobenzoil)-1,3-dimetilurea dan hidroksiurea sebagai kontrol positif, terhadap sel HeLa

No	Sampel Uji	IC ₅₀ (µg/ml)
1	1-(4-klorobenzoil)-1,3-dimetilurea	236,93 (Y = 0,139X + 16,340) (R=0,953)
2	Hidroksiurea (kontrol positif)	479,02 (Y = 0,068X + 5,471) (R=0,937)

Molecular docking senyawa 1-(4-klorobenzoil)-1,3-dimetilurea

Proses *docking* senyawa 1-(4-klorobenzoil)-1,3-dimetilurea dilakukan terhadap reseptor Chk1 menggunakan program MVD. Dari proses *docking* ligan terhadap reseptor didapatkan data bahwa gugus urea merupakan farmakofor dari senyawa 1-(4-klorobenzoil)-1,3-dimetilurea, yang berikatan hidrogen dengan asam amino Cys 87. Ikatan Hidrogen yang ditandai dengan garis putus-putus dapat dilihat pada Gambar 7. Nilai *Rerank Score* dari senyawa 1-(4-klorobenzoil)-1,3-dimetilurea yaitu -64,2016 dan hidroksiurea sebesar -39,0396. Nilai *Rerank Score* menggambarkan kestabilan ikatan ligan dan reseptor. Semakin kecil nilai *Rerank Score* maka semakin stabil ikatan obat reseptor. Dari data *Rerank Score* dapat disimpulkan bahwa ikatan antara senyawa 1-(4-klorobenzoil)-1,3-dimetilurea dengan reseptor lebih stabil dibandingkan ikatan hidroksiurea dengan reseptor.



Gambar 7. Model ikatan antara 1-(4-klorobenzoil)-1,3-dimetilurea dengan reseptor 2YWP, menghasilkan nilai *Rerank Score* -64,2016 dan membentuk 1 ikatan Hidrogen (garis putus-putus hijau) antara gugus urea dan asam amino Cys 87 dengan jarak 2,68 Å

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa senyawa 1-(4-klorobenzoil)-1,3-dimetilurea dapat disintesis melalui reaksi asilasi antara 1,3-dimetilurea dan 4-klorobenzoil klorida, dan diperoleh rendemen sebesar 74,5%. Senyawa 1-(4-klorobenzoil)-1,3-dimetilurea ($IC_{50} = 236,93 \mu\text{g/mL}$) memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel HeLa yang lebih besar dibandingkan dengan obat kanker yang telah beredar yaitu hidroksiurea ($IC_{50} = 479,02 \mu\text{g/mL}$).

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih untuk Laboratorium Kimia Medisinal Fakultas Farmasi Universitas Airlangga yang memfasilitasi penelitian ini dan Prof. Dr. Siswandono, MS., Apt. yang menyediakan lisensi program MVD.

DAFTAR PUSTAKA

1. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementrian Kesehatan RI. 2013, Riskesdas 2013. <http://labdata.litbang.depkes.go.id/ccount/click.php?id=2>, accessed on Apr 02, 2014.
2. American Cancer Society. 2012, Cancer Facts & Figures <http://www.cancer.org/acs/groups/content/@epidemiologysurveillance/documents/document/acspc-031941.pdf>, accessed on Sept 11, 2013
3. D.Q. Song, N.N. Du, Y.M. Wang, W.Y. He, E.Z. Jiang, S.X. Cheng, Y.X. Wang, Y.H. Li, Y.P. Wang, X. Li, J.D. Jiang, Synthesis and activity evaluation of phenylurea derivatives as potent antitumor agents. *Bioorg. Med. Chem.* 17:3873–3878 (2009)
4. S. Saeed, N. Rashid, P.G. Jones, M. Ali, R. Hussain. Synthesis, characterization and biological evaluation of some thiourea derivatives bearing benzothiazole moiety as potential antimicrobial and anticancer agents. *Eur. J. Med. Chem.* 45:1323–1331 (2010)
5. S. Hardjono. Ph.D. Disertasi, Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya. (2012)
6. Clayden, Greeves, Warren & Wothers. *Organic Chemistry*. Oxford University Press, New York, 2001, pp 279-303
7. R.O. Lopes, N.C. Romeiro, C.K.F. Lima, L.L. Silva, A.L.P. Miranda, P.G. Nascimento, F.Q. Cunha, E.J. Barreiro, L.M. Lima. Docking, synthesis and pharmacological activity of novel urea derivatives designed as p38 MAPK inhibitors, *Eur. J. Med. Chem.*, 30:1-8 (2012)
8. M.J. Gil, M.A. Mafiti, C. Arteaga, M. Migliaccio, I. Encfo, A. Gonzalez, V.M. Merino. Synthesis and Cytotoxic Activity of N-(2-pyridylsulfenyl)urea Derivatives, a New Class of Potential Antineoplastic Agents. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 9: 2321-2324 (1999)