

SINTESIS DAN UJI AKTIVITAS SITOTOKSIK SENYAWA ETIL 4-(4-ETOKSI-3,5- DIMETILFENIL) -6-METIL-2-OKSO-1,2,3,4-TETRAHIDROPIRIMIDIN-5-KARBOKSILAT TERHADAP SEL T47D

Muhammad Reza Ramadhan, Ahmad Fauzi*, Fariha Mufidah Maulina, Wafiq Kholifatul Hakimah

Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta, Indonesia

*E-mail: af585@ums.ac.id

Abstrak

Dihidropirimidinon (DHPM) adalah senyawa heterosiklik dengan inti cincin pirimidin, senyawa ini memiliki berbagai aktivitas biologis salah satunya sebagai agen antikanker. Penelitian ini bertujuan untuk mensintesis senyawa turunan dihidropirimidinon, yaitu etil 4-(4-etoksi-3,5-dimetilfenil)-6-metil-2-okso-1,2,3,4-tetrahidropirimidin-5-karboksilat (A2), melalui Reaksi Mitsunobu dan melakukan pengujian sitotoksik terhadap sel kanker payudara T47D. Sintesis dimulai dari senyawa etil 4-(4-hidroksi-3,5-dimetilfenil)-6-metil-2-okso-1,2,3,4-tetrahidropirimidin-5-karboksilat (M1), yang dihasilkan melalui Reaksi Biginelli dengan mereaksikan bahan utama aldehid, urea dan etil asetoasetat. Sintesis dilanjutkan dengan menggunakan Reaksi Mitsunobu bersama etanol untuk memperoleh senyawa A2. Hasil dari sintesis dilakukan karakterisasi menggunakan instrumen FTIR dan LC-MS. Karakterisasi menunjukkan adanya gugus khas hasil sintesis yaitu eter (C-O) pada bilangan gelombang $1042,31\text{ cm}^{-1}$ dan massa molekul A2 sebesar $375,23\text{ m/z}$. Pengujian aktivitas sitotoksik menggunakan metode MTT assay memberikan hasil bahwa nilai IC_{50} senyawa A2 adalah $270,48\text{ }\mu\text{g/mL}$, yang tergolong aktivitas lemah dibandingkan kontrol positif doxorubicin ($IC_{50} = 3,33\text{ }\mu\text{g/mL}$). Berdasarkan hasil penelitian ini, senyawa A2 masih memerlukan pengembangan dan pengkajian lebih lanjut untuk meningkatkan potensi sitotoksiknya sebagai senyawa baru obat antikanker.

Kata kunci: Dihidropirimidinon; Reaksi Mitsunobu; Sel T47D

Abstract

Dihydropyrimidinone (DHPM) is a heterocyclic compound with a pyrimidine ring core, this compound has various biological activities one of which is as an anticancer agent. This study aims to synthesize dihydropyrimidinone derivative compounds, namely ethyl 4-(4-ethoxy-3,5-dimethylphenyl)-6-methyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidine-5-carboxylate (A2), through the Mitsunobu Reaction and conduct cytotoxic testing on T47D breast cancer cells. The synthesis begins with the compound ethyl 4-(4-hydroxy-3,5-dimethylphenyl)-6-methyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidine-5-carboxylate (M1), which is produced through the Biginelli Reaction by reacting the main ingredients aldehyde, urea and ethyl acetoacetate. The synthesis is continued using the Mitsunobu Reaction with ethanol to obtain compound A2. The results of the synthesis were characterized using FTIR and LC-MS instruments. Characterization showed the presence of a typical group of the synthesis results, namely ether (C-O) at a wave number of 1042.31 cm^{-1} and a molecular mass of A2 of 375.23 m/z . Cytotoxic activity testing using the MTT assay method gave the result that the IC_{50} value of compound A2 was $270.48\text{ }\mu\text{g/mL}$, which is classified as weak activity compared to the positive control doxorubicin ($IC_{50} = 3.33\text{ }\mu\text{g/mL}$). Based on the results of this study, compound A2 still requires further development and study to increase its cytotoxic potential as a new anticancer drug compound.

Keywords: Dihydropyrimidinone; Mitsunobu Reaction; T47D Cells

PENDAHULUAN

Senyawa dihidropirimidinon dihasilkan melalui reaksi siklokondensasi Biginelli, yang melibatkan aldehid, etil asetoasetat, serta urea atau tiourea sebagai bahan baku utamanya (Hakim, Fitriadi and Supartono, 2018). Dihidropirimidinon (DHPM) adalah senyawa heterosiklik dengan inti cincin pirimidin,

senyawa ini memiliki berbagai aktivitas biologis mencakup sifat antibakteri, antiinflamasi, antivirus, antitumor, antimalaria, antioksidan, antiulser, antikanker, dan komponen penting dalam banyak senyawa heterosiklik bioaktif (Y. S. Thakare, 2021). Salah satu gugus yang berperan dalam aktivitas antikanker adalah amina siklik yang dapat meningkatkan sifat farmakokinetik dan

farmakodinamik obat antikanker (Mostafa and Selim, 2018).

Pada penelitian sebelumnya telah berhasil dilakukan sintesis turunan dihidropirimidinon etil 4-(4-hidroksi-3,5-dimetilfenil)-6-metil-2-okso-1,2,3,4-tetrahidropirimidin-5-karboksilat atau selanjutnya disebut sebagai senyawa M1 melalui reaksi Multi-komponen (Fauzi, Saifudin and Rullah, 2023). Dalam penelitian ini dilakukan modifikasi terhadap senyawa M1 melalui Reaksi Mitsunobu untuk memperoleh senyawa baru. Reaksi Mitsunobu adalah metode untuk kopling dehidratif asam/pronukleofil dan alkohol dengan menggabungkan pereaksi fosfin pereduksi dengan pereaksi azo pengoksidasi. Reaksi ini sangat stereoselektif dalam persiapan berbagai macam gugus fungsi (Lim, Park and Lee, 2007). Reaksi Mitsunobu digunakan karena metode ini relatif cepat dan telah terbukti berhasil dalam penggabungan berbagai macam substrat seperti alkohol dan fenol (Lepore and He, 2003).

Senyawa M1 disintesis dengan etanol melalui Reaksi Mitsunobu sehingga dapat menghasilkan senyawa turunan dihidropirimidinon baru yaitu etil 4-(4-etoksi-3,5-dimetilfenil)-6-metil-2-okso-1,2,3,4-tetrahidropirimidin-5-karboksilat atau selanjutnya disebut senyawa A2. Untuk mengetahui besarnya potensi aktivitas sitotoksik dari hasil sintesis senyawa tersebut dilakukan uji sitotoksik menggunakan metode Microtetrazolium (MTT) assay. Metode ini bekerja dengan dengan membaca absorbansi dari formazan yang terbentuk. Kemudian hasil dianalisis pada ELISA reader untuk menghitung nilai *IC50*. Pada penelitian ini sel target yang digunakan dalam uji sitotoksik dengan metode MTT assay adalah sel kanker payudara T47D. Sel T47D adalah garis sel yang terus-menerus diperbanyak yang berasal dari tumor duktal payudara seorang wanita berusia 54 tahun. Karena sel yang mudah dikelola, sangat homogen, dan dapat bereplikasi tanpa batas, garis sel ini sering digunakan dalam penelitian kanker in vitro (Burdall *et al.*, 2003).

Studi sebelumnya telah dilakukan uji sitotoksitas senyawa M1 dengan metode uji MTT menggunakan sel T47D. Senyawa turunan dihidropirimidinon yang disintesis memberikan aktivitas sitotoksik baik pada sel T47D dengan *IC50* 90,4 µg/mL. Doxorubicin sebagai kontrol positif menunjukkan aktivitas penghambatan dengan nilai *IC50* sebesar 7,8 µg/mL terhadap sel T47D (Fauzi, Saifudin and Rullah, 2023). Pada penelitian Kaur *et al.* juga telah dilaporkan bahwa hubungan aktivitas struktur adanya gugus fungsional thio-urea dalam senyawa dihidropirimidinon dapat meningkatkan aktivitas antikanker (Kaur *et al.*, 2017).

Berdasarkan adanya potensi dari senyawa turunan dihidropirimidinon sebagai agen antikanker, maka peneliti disini tertarik untuk melakukan eksplorasi atau pengembangan terhadap turunan senyawa dihidropirimidinon. Senyawa turunan dihidropirimidinon yang berhasil disintesis diharapkan memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker T47D.

METODE

Alat dan bahan

Alat yang digunakan adalah timbangan analitik (Ohaus®), *waterbath* (Mettler), sonikator (Branson®), termometer, LC-MS Waters Xevo-TQD (Massachusetts, USA), FTIR Perkin-Elmer Spectrum Two (Massachusetts, USA), 96-well plate, vortex (Barnstead International), hot plate magnetic stirrer (Cimarec), *vacuum buchner*, *inverted microscope* (Olympus CKX41), incubator CO₂ (Binder), ELISA reader (Epoch), *Laminar Air Flow* (LAF).

Bahan yang digunakan adalah 4-hidroksi-3,5-dimetilbenzaldehid (Sigma Aldrich), urea (CO(NH₂)₂) (Merck), etil asetoasetat *for synthesis* (Merck), trifenilfosfin (PPh₃) (Merck), Diisopropil Azodikarboksilat (DIAD), Tetrahydrofuran (THF) (Merck), etanol absolut *for analysis* (Merck), aquadest, MTT (3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5 difenil tetrazolium bromida), doxorubicin,

Dimetilsulfoksida (DMSO), *Phosphate Buffered Saline* (PBS), *Sodium Dodecyl Sulfate* (SDS), media RPMI, sel kanker T47D dari Laboratorium Biologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.

Prosedur kerja

Sintesis senyawa M1

Campur 4-hidroksi-3,5 dimetilbenzaldehyd (3 gram), urea (2,4 gram), dan etil asetoasetat (5,2 gram) dalam labu alas bulat. Campuran direfluks pada suhu 60-80°C selama 1 jam. Endapan (kristal) yang terbentuk dicuci dengan aquades dingin (100 mL) dan saring menggunakan vakum Buchner (Fauzi, Saifudin and Rullah, 2023). Sampel di simpan dalam eksikator hingga mengering.

Sintesis senyawa A2

Campur sampel M1 (100 mg; $6,558 \times 10^{-2}$ mmol), etanol (198,101 mg; 4,30 mmol), trifenilfosfin (18 mg; $6,891 \times 10^{-2}$ mmol), dan tetrahidrofuran (1 mL) dalam flakon. Sampel disonikasi selama 10 menit, tambahkan DIAD (13,7 μ L) dan sonikasi dilanjutkan selama 50 menit pada suhu 55°C. Setelah dingin, masukkan pada kulkas selama 24 jam. Kemudian sampel diletakkan pada waterbath dengan suhu 55°C selama 20 menit hingga terbentuk endapan atau kristal. Karakterisasi senyawa hasil sintesis dilakukan dengan spektrofotometer infra merah (IR) dan spectrometer masa (MS). Penentuan titik lebur menggunakan *electrothermal digital melting point apparatus*.

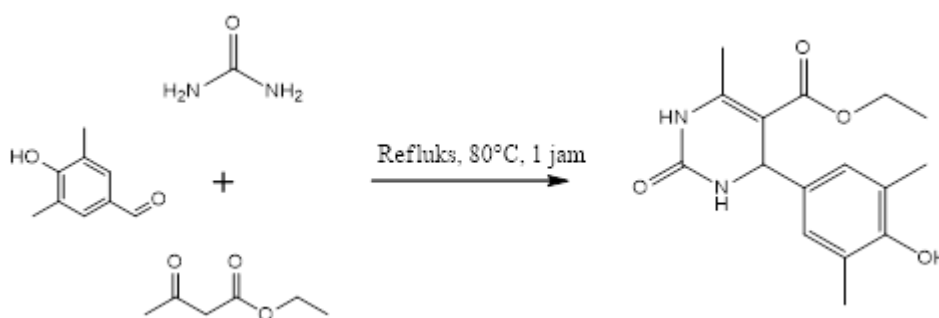
Uji aktivitas sitotoksik

Uji sitotoksik dilakukan menggunakan metode MTT dengan menyiapkan senyawa uji (A2) dalam DMSO pada berbagai konsentrasi, yaitu 3,125; 6,25; 12,5; 25; 50; 100; dan 200 μ g/mL. Doksorubisin sebagai kontrol positif dibuat dengan seri konsentrasi 0,15625; 0,3125; 0,625; 1,25; 2,5; 5; dan 10 μ g/mL. Masukkan 100 μ L suspensi sel T47D

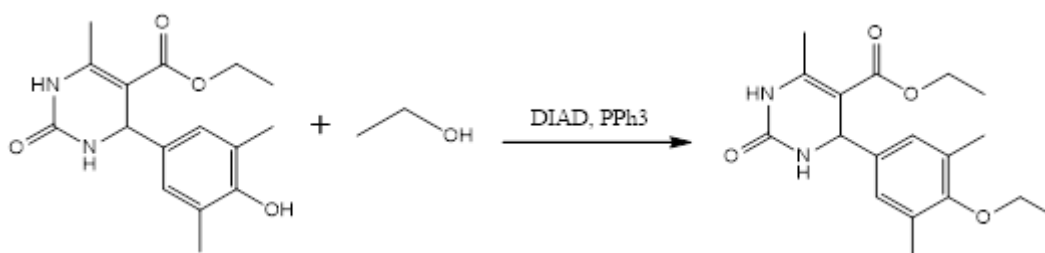
pada 96-well plate, selanjutnya diinkubasi dalam inkubator dengan kondisi CO₂ 5% pada suhu 37°C selama 24 jam. Plate yang berisi sel tersebut dikeluarkan dari inkubator dan media dalam sumuran dibuang. Selanjutnya sebanyak 100 μ L sampel senyawa uji dimasukkan ke dalam 96 sumuran seperti pola yang dibuat. Setiap konsentrasi dibuat sebanyak 3 replikasi. Kontrol sel terdiri dari sel T47D dan media penumbuh (RPMI) sedangkan kontrol media hanya berisi media penumbuh (RPMI). Media pada sumuran yang telah diberi perlakuan dibuang dan dicuci dengan PBS, kemudian ditambahkan 100 μ L larutan MTT ke dalam masing-masing sumuran dan diinkubasi selama 4 jam. Selanjutnya masing-masing sumuran ditambahkan 100 μ L SDS 10%. Plate dibungkus dengan kertas alumunium dan ditempatkan dalam keadaan gelap dengan temperatur ruang selama semalam. Plate sel selanjutnya dimasukkan ke dalam ELISA reader dengan λ 595 nm untuk menentukan absorbansinya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini senyawa etil 4-(4-hidroksi-3,5-dimetilfenil) -6-metil-2-okso-1,2,3,4-tetrahidropirimidin-5-karboksilat (M1) diperoleh melalui Reaksi Multi-komponen yaitu Reaksi Biginelli. Reaksi multi-komponen merupakan reaksi organik khusus untuk menghasilkan produk yang diinginkan dengan mereaksikan tiga atau lebih bahan awal (Dömling, 2000). Sintesis dilakukan dengan mereaksikan aldehid, urea, dan etil asetoasetat pada kondisi seperti **Gambar 1**. Pemanasan dan kondensasi dengan refluks yang dijaga pada suhu 80°C diterapkan pada proses ini (Fauzi, Saifudin and Rullah, 2023). Modifikasi dan pengembangan senyawa M1 dilakukan melalui Reaksi Mitsunobu antara senyawa M1 dan etanol (**Gambar 2**).



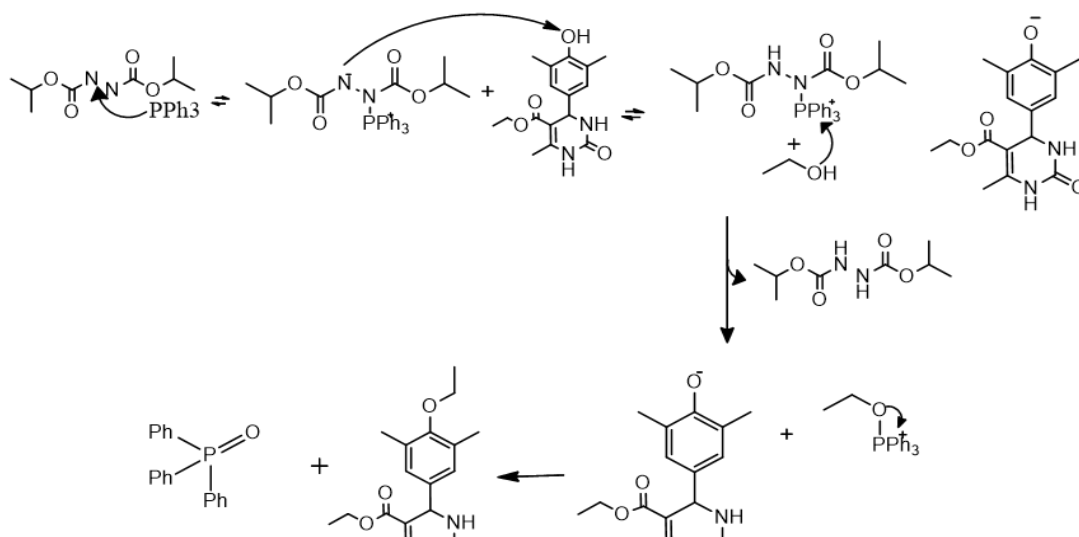
Gambar 1. Sintesis etil 4-(4-hidroksi-3,5- dimetilfenil) -6-metil-2-okso- 1,2,3,4-tetrahidropirimidin-5-karboksilat (senyawa M1)



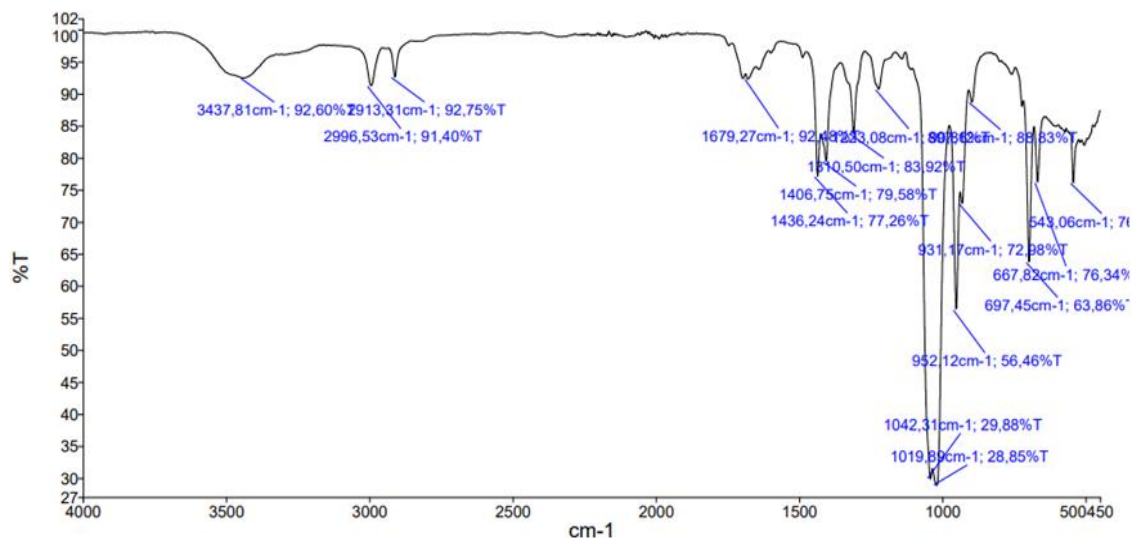
Gambar 2. Sintesis etil 4-(4-etoksi-3,5-dimetilfenil)-6-metil-2-okso-1,2,3,4 tetrahidropirimidin-5-karboksilat (senyawa A2)

Reaksi Mitsunobu digunakan dalam penelitian ini karena pada prinsipnya Reaksi Mitsunobu dapat mengubah alkohol primer, sekunder atau terkadang tersier dengan suatu senyawa yang dapat bertindak sebagai nukleofil (Beacham, 1944).

Mekanisme pada Reaksi Mitsunobu sebagaimana **Gambar 3** diawali dengan adanya serangan nukleofil trifenilfosfin (PPh_3) terhadap diisopropil azodikarboksilat (DIAD). Reaksi tersebut menghasilkan intermediat betain yang berperan dalam proses pelepasan proton dari asam nukleofil.



Gambar 3. Mekanisme Reaksi Mitsunobu

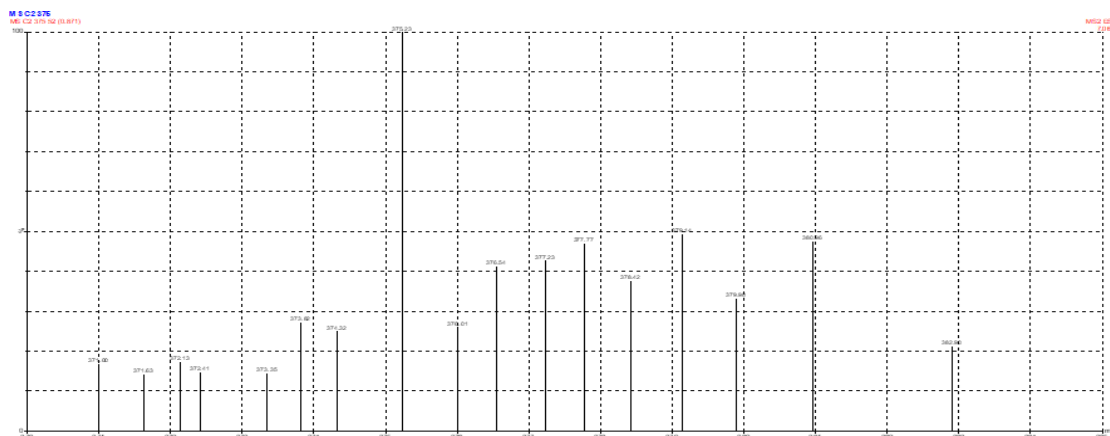


Gambar 4. Hasil analisis FTIR senyawa A2

Gugus -OH pada senyawa M1 diubah menjadi alkoksida setelah mengalami reaksi dengan nukleofil dari reaksi sebelumnya. Gugus alkoksida kemudian mengalami substitusi dari nukleofil (etanol) sehingga menghasilkan produk utama yaitu senyawa A2 dan trifenilfosfin oksida.

Karakterisasi dilakukan dengan spektrofotometer infra merah (FTIR) untuk mengidentifikasi gugus fungsi pada senyawa hasil sintesis. Berdasarkan hasil analisis FT-IR senyawa A2 (**Gambar 4**) menunjukkan adanya serapan pada bilangan gelombang 3437; 2996,53; 2913,3; 1223,08 cm⁻¹ yang merupakan serapan vibrasi rentangan dari gugus hidroksi (-OH). Bilangan gelombang 1679 cm⁻¹ menunjukkan adanya serapan

gugus aldehid (R-CHO). Adanya serapan pada bilangan gelombang 1436,24 cm⁻¹ merupakan serapan dari gugus alkana (C-H). Serapan pada bilangan gelombang 1310,50 cm⁻¹ menunjukkan serapan dari gugus amina (R-NH₂). Serapan pada bilangan gelombang 1042,31 cm⁻¹ menunjukkan serapan vibrasi rentangan gugus eter (C-O). Serapan pada bilangan gelombang 1019,89 cm⁻¹ menunjukkan adanya gugus C-C dan daerah serapan pada 667,82; 697,45; 897,12 merupakan gugus aromatic (Mortensen, Anderson and White, 2015). Analisis menunjukkan bahwa sintesis senyawa M1 dengan reaksi Mitsunobu untuk menghasilkan senyawa A2 memberikan spektrum IR khas yaitu adanya gugus eter (etoksi) pada bilangan



Gambar 5. Hasil analisis LC-MS senyawa A2

gelombang 1042,31 cm⁻¹.

Senyawa A2 hasil sintesis memiliki titik leleh sebesar 200-220°C dan analisis MS (*Mass Spectrometry*) menunjukkan berat molekul senyawa A2 sebesar 375,23 m/z seperti tampak pada **Gambar 5**. Berat ini tidak sesuai dengan target berat senyawa A2 (C₁₈H₂₄N₂O₄) yaitu 332,17 m/z. Adanya adduksi atau pembentukan kompleks antara molekul target dengan ion lain memungkinkan bertambahnya massa molekul yang lebih besar. Salah satu faktor yang berperan dalam pembentukan adduksi adalah ketersediaan ion pembentuk adduksi seperti kalium, natrium, amonium atau klorida dalam

sumber ion selama proses ionisasi (Erngren *et al.*, 2019).

Pengujian aktivitas sitotoksik senyawa A2 terhadap sel T47D dilakukan dengan menggunakan metode MTT (3-(4,5-difeniltiazol-2-il)-2,5 difenil tetrazo-lium bromida). Nilai absorbansi yang diperoleh dianalisis untuk menghitung persentase inhibisi dan besarnya nilai *IC*₅₀. Berdasarkan perhitungan yang telah dilakukan seperti pada **Tabel 1**, diperoleh hasil nilai *IC*₅₀ senyawa A2 sebesar 270,48 µg/mL. Kontrol positif doxorubixin memiliki nilai *IC*₅₀ sebesar 3,33 µg/mL.

Tabel 1. Data uji sitotoksitas senyawa A2 dan kontrol positif doxorubixin

Senyawa A2			Kontrol positif (doxorubixin)		
Konsentrasi (µg/mL)	% inhibisi	<i>IC</i> ₅₀ (µg/mL)	Konsentrasi (µg/mL)	% inhibisi	<i>IC</i> ₅₀ (µg/mL)
3,125	88,22	270,48	0,15625	80,389	3,33
6,25	89,25		0,3125	76,917	
12,5	94,11		0,625	75,889	
25	94,00		1,25	58,806	
50	93,25		2,5	36,972	
100	79,58		5	23,167	
200	58,97		10	19,833	

Turunan senyawa dihidropirimidinon sebelumnya menunjukkan aktivitas sitotoksik baik dengan nilai *IC*₅₀ sebesar 90,4 µg/mL terhadap sel T47D (Fauzi, Saifudin and Rullah, 2023). Menurut *National Cancer Institute*, suatu senyawa dikategorikan sangat toksik jika memiliki nilai *IC*₅₀ ≤ 20 µg/mL, sitotoksik moderat jika *IC*₅₀ 21-200 µg/mL, sitotoksik lemah *IC*₅₀ 201-500 µg/mL dan dianggap tidak toksik dengan nilai *IC*₅₀ >500 µg/mL.

Berdasarkan hasil *IC*₅₀ yang diperoleh senyawa A2 memberikan aktivitas sitotoksik lemah. Hal ini dapat terjadi karena adanya modifikasi atau perubahan gugus fungsi pada senyawa tersebut. Gugus hidroksi yang terikat pada cincin aromatik dilaporkan memiliki aktivitas sitotoksik yang baik dan signifikan (Way, Kao and Lin, 2005; Lestari *et al.*,

2018). Terjadinya perubahan gugus hidroksi pada turunan dihidropirimidinon ini melalui mekanisme Reaksi Mitsunobu memungkinkan penurunan aktivitas sitotoksik sehingga proliferasi sel kanker tidak terhambat sempurna. Kontrol positif doxorubixin memberikan hasil sangat toksik dengan *IC*₅₀ lebih rendah dibanding senyawa A2. Rendahnya nilai *IC*₅₀ berarti bahwa hanya diperlukan sedikit jumlah obat untuk memusnahkan sel-sel beracun sedangkan tingginya persentase viabilitas dalam jangka waktu yang lebih lama berarti bahwa obat tersebut memiliki efek merugikan yang kecil terhadap sel-sel sehat (Suppan, Ranjan and Pichumani, no date).

Dalam penelitian ini senyawa turunan hasil sintesis dengan Reaksi Mitsunobu tetap memberikan aktivitas sitotoksik meski

tergolong lemah. Pengembangan atau optimasi lebih lanjut dapat dilakukan untuk memperbesar potensi aktivitas antikanker senyawa baru turunan dihidropirimidinon.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, senyawa turunan dihidropirimidinon etil 4-(4-etoksi-3,5-dimetilfenil)-6-metil-2-okso-1,2,3,4-tetrahidropirimidin-5-karboksilat (senyawa A2) berhasil disintesis melalui Reaksi Mitsunobu sebagai senyawa baru yang berpotensi memiliki aktivitas sitotoksik. Senyawa A2 memberikan hasil sitotoksik lemah dengan nilai IC_{50} sebesar 270,48 $\mu\text{g/mL}$.

SARAN

Peneliti selanjutnya disarankan dapat menggunakan instrumen tambahan seperti NMR (*Nuclear Magnetic Resonance*) guna mendapatkan informasi detail mengenai kerangka struktur atau posisi gugus fungsi pada senyawa.

DAFTAR RUJUKAN

- Beacham, L.M. (1944) 'Organic Chemistry', *Journal of AOAC INTERNATIONAL*, 27(4), pp. 588–589.
- Burdall, S.E. *et al.* (2003) 'Breast cancer cell lines: Friend or foe?', *Breast Cancer Research*, 5(2), pp. 89–95.
- Dömling, A. (2000) 'The discovery of new isocyanide-based multi-component reactions', *Current Opinion in Chemical Biology*, 4(3), pp. 318–323.
- Erngren, I. *et al.* (2019) 'Adduct formation in electrospray ionisation-mass spectrometry with hydrophilic interaction liquid chromatography is strongly affected by the inorganic ion concentration of the samples', *Journal of Chromatography A*, 1600, pp. 174–182.
- Fauzi, A., Saifudin, A. and Rullah, K. (2023) 'Synthesis of Dihydropyrimidinone (DHPM) Derivatives through a Multicomponent Reaction (MCR) and Their Biological Activity', *Journal of Medicinal and Chemical Sciences*, 6(8), pp. 1810–1817.
- Hakim, F., Fitriadi, I. and Supartono, S. (2018) 'Sintesis Senyawa Dihidropirimidinon Melalui Reaksi Siklokondensasi Menggunakan Katalis Larutan Asam Jawa', *Walisongo Journal of Chemistry*, 1(1), p. 46.
- Kaur, R. *et al.* (2017) 'Recent synthetic and medicinal perspectives of dihydropyrimidinones: A review', *European Journal of Medicinal Chemistry*, 132, pp. 108–134.
- Lepore, S.D. and He, Y. (2003) 'Use of sonication for the coupling of sterically hindered substrates in the phenolic Mitsunobu reaction', *Journal of Organic Chemistry*, 68(21), pp. 8261–8263.
- Lestari, E. *et al.* (2018) 'Sintesis Senyawa Turunan Khalkon Dan Flavon Berbahan Dasar Vanilin Dan Uji Sitotoksik Terhadap Sel Kanker Serviks (Hela), Sel Kanker Kolon (Widr), Dan Sel Kanker Payudara (T47D) Secara In Vitro', *Bimipa*, 25(1), pp. 53–65.
- Lim, Y., Park, S. and Lee, E. (2007) 'Carbohydrate-attached nanostructures...', *Chemistry - An Asian Journal*, 2(11), p. 2007.
- Mortensen, J.L., Anderson, D.M. and White, J.L. (2015) 'Infrared spectrometry', *Methods of Soil Analysis, Part 1: Physical and Mineralogical Properties, Including Statistics of Measurement and Sampling*, pp. 743–770.
- Mostafa, A.S. and Selim, K.B. (2018) 'Synthesis and anticancer activity of new dihydropyrimidinone derivatives', *European Journal of Medicinal Chemistry*, 156, pp. 304–315.
- Suppan, T., Ranjan, R. and Pichumani, M. (no date) 'Evaluation of anticancer and antimicrobial activities of novel dihydropyrimidinone derivatives',



ChemRxiv [Preprint].

- Way, T. Der, Kao, M.C. and Lin, J.K. (2005) 'Degradation of HER2/neu by apigenin induces apoptosis through cytochrome c release and caspase-3 activation in HER2/neu-overexpressing breast cancer cells', *FEBS Letters*, 579(1), pp. 145–152.
- Y. S. Thakare (2021) 'Green Synthesis of Dihydropyrimidinone Derivatives and Study of Physicochemical Properties and Antimicrobial Activity', *International Journal of Advanced Research in Science, Communication and Technology*, 12(4), pp. 237–242.