

KELARUTAN DAN STABILITAS KIMIA KOMPLEKS DIDANOSIN DENGAN NIKOTINAMID ATAU L-ARGININ

Fikri Alatas¹, Sundani N. Soewandhi², Lucy Sasongko² dan Ismunandar³

¹Fakultas Farmasi, Universitas Jenderal Achmad Yani
Jl. Terusan Jenderal Sudirman, PO BOX 148 Cimahi, Bandung

²Sekolah Farmasi - Institut Teknologi Bandung
Jl. Ganesha 10, Bandung 40132

³Departemen Kimia, FMIPA - Institut Teknologi Bandung
Jl. Ganesha 10, Bandung 40132
e-mail: fikrifaza@yahoo.co.id

Diterima: 5 Juni 2013

Diperbaiki: 1 Oktober 2013

Disetujui: 28 November 2013

ABSTRAK

KELARUTAN DAN STABILITAS KIMIA KOMPLEKS DIDANOSIN DENGAN NIKOTINAMID ATAU L-ARGININ. Didanosin (DDI) adalah obat anti *HIV* yang bekerja dengan menghambat enzim reverse transkriptase yang bertanggung jawab dalam replikasi virus *HIV*. Ketersediaan hayati DDI pada pemberian secara oral sangat buruk akibat terhidrolisis dalam suasana asam. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pembentukan kompleks antara DDI dengan NKT atau ARG terhadap kelarutan dan stabilitas kimia DDI. Kompleks DDI-NKT dibuat dengan metode *slurry* menggunakan pelarut campuran etanol:air (7:3), sedangkan kompleks DDI-ARG dibuat dengan metode penguapan pelarut menggunakan pelarut yang sama. Karakterisasi kompleks DDI-NKT dan DDI-ARG meliputi, analisis dengan mikroskop polarisasi, difraksi sinar-X serbuk, uji kelarutan, dan stabilitas kimia pada larutan dapar pH 1,2; 4,5 dan 6,8 di suhu 37 °C. Karakterisasi dengan mikroskop polarisasi dan difraksi sinar-X serbuk menunjukkan terbentuknya kompleks DDI-NKT dan DDI-ARG. Kelarutan kompleks DDI-ARG dan DDI-NKT dalam air berturut-turut 1,86 dan 4,54 kali lipat dari kelarutan DDI murni. Hasil uji stabilitas kimia menunjukkan larutan kompleks DDI-NKT dan DDI-ARG mengalami degradasi lebih lambat daripada DDI murni pada pH 1,2; 4,5; dan 6,8 di suhu 37°C. Hubungan linier antara pH terhadap logaritma tetapan laju degradasi ($\log k_{obs}$) menunjukkan, bahwa degradasi kompleks DDI-NKT, DDI-ARG, dan DDI pada pH 1,2 hingga 6,8 dikatalisis oleh asam spesifik. Hasil penelitian dapat disimpulkan, bahwa pembentukan kompleks DDI-NKT dan DDI-ARG dapat meningkatkan kelarutan dan stabilitas kimia DDI.

Kata kunci: DDI, Nikotinamid, L-arginin, Kelarutan, Stabilitas kimia

ABSTRACT

SOLUBILITY AND CHEMICAL STABILITY OF COMPLEXES BETWEEN DIDANOSINE AND NICOTINAMIDE OR L-ARGININE. Didanosine (DDI) is an anti-*HIV* drug that works by inhibiting the reverse transcriptase enzyme responsible for the replication of the *HIV* virus. Oral bioavailability of DDI is very poor due to its hydrolyzed in acidic conditions. This aim of this study is to know influence of complex formation between DDI and nicotinamide (NKT) or l-arginine (ARG) on the solubility and chemical stability of DDI. Formation between DDI and two co-crystal former, i.e. nicotinamide (NKT) and L-arginine (ARG). DDI-NKT complex was prepared by slurry method using a solvent mixture of ethanol: water (7:3), while the DDI-ARG complex was prepared by solvent evaporation method using the same solvent. Characterization of DDI-NKT and DDI-ARG complexes includes analyzes by the polarization microscope, powder x-ray diffractometer, solubility testing, and chemical stability in pH 1.2; 4.5; and 6.8 buffer solutions at a temperature of 37°C. Characterization with polarization microscopy and PXRD showed the formation of DDI-NKT and DDI-ARG complexes. The solubility of DDI-NKT and DDI-ARG complexes in water were 4.54 and 1.86 times higher than pure DDI, respectively. The chemical stability test results showed the solution DDI-NKT and DDI-ARG complexes degraded more slowly than pure DDI at pH 1.2, 4.5, and 6.8 at 37°C. Linear relationship between the logarithm of pH on degradation rate constants ($\log k_{obs}$) showed that the degradation DDI-NKT, DDI-ARG, and pure DDI at pH 1.2 to 6.8 catalyzed by specific-acid. It can be concluded, that the formation of DDI-NKT and DDI-ARG complexes can improve the solubility and chemical stability of DDI.

Keywords: Didanosine, Nicotinamide, l-arginine, Solubility, Chemical stability

PENDAHULUAN

Didanosin (DDI) atau 2',3' dideoxyinosine adalah analog sintetis dideoksi purin nukleosida inosin yang dilaporkan dapat menghambat replikasi *Human Immunodeficiency Virus (HIV)*. DDI bekerja dengan cara menghambat enzim reverse transcriptase dari virus *HIV*. Obat ini disetujui oleh *US Food and Drug Administration* untuk pengobatan orang dewasa dan anak-anak yang berusia diatas 6 bulan [1]. DDI mudah mengalami degradasi dalam suasana asam. DDI mengalami degradasi hidrolitik dalam larutan asam [2]. Hipoksantin merupakan hasil urai utama dari didanosin [3]. Konsekuensi akibat ketidakstabilan DDI di dalam saluran cerna ini menyebabkan bioavailabilitasnya sangat rendah setelah pemberian oral, yaitu hanya 13% termasuk dalam sediaan tablet dapat dan tablet kunyah dengan antasida [4].

Kristalisasi Bahan Aktif Farmasi (BAF) sebagai kristal multikomponen telah menjadi suatu pendekatan yang dapat diterima untuk menghasilkan bentuk dan sifat fisikokimia yang beragam, seperti kelarutan, stabilitas kimia, dan higroskopisitas [5]. Konsep rekayasa kristal atau ko-kristalisasi yang diterapkan untuk obat-obatan menyediakan jalan baru untuk penemuan yang lebih luas dari struktur multikomponen yang mengandung BAF dengan mempertimbangkan kembali jenis molekul dan interaksi antarmolekul yang dapat digunakan untuk membentuk ko-kristal [6,7].

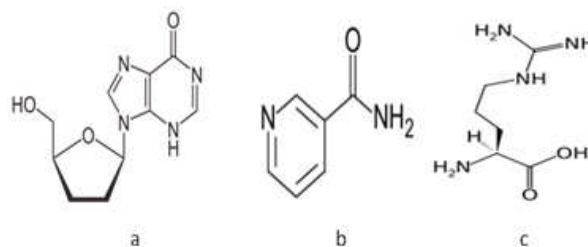
Ko-kristal adalah material padat terbentuk dari dua atau lebih komponen berbeda dengan rasio stoikiometrik pada suhu kamar yang terikat melalui ikatan non kovalen, biasanya ikatan hidrogen [8]. Istilah ko-kristal dalam terminologi ilmu farmasetika sebelumnya dikenal dengan kompleks molekular atau kompleks intermolekular [9,10]. Ko-kristalisasi memiliki sejumlah keunggulan dibandingkan dengan pembentukan garam. Ko-kristalisasi memiliki potensi untuk diterapkan pada semua BAF, termasuk asam, basa, dan molekul yang tidak terionisasi [9,11].

Pembentukan ko-kristal farmasi pada beberapa tahun terakhir ini telah memperoleh perhatian yang lebih besar sebagai cara untuk mengoptimalkan sifat fisikokimia bentuk sediaan farmasi padat [12]. Ko-kristal farmasi dapat meningkatkan kelarutan, laju disolusi, bioavailabilitas, stabilitas fisik, stabilitas kimia, kompresibilitas, dan higroskopisitas dari BAF [13]. Saat ini pembentukan ko-kristal adalah metode yang sangat menarik bagi industri farmasi. Perusahaan farmasi tertarik ko-kristal karena dua alasan utama. Pertama, sifat fisikokimia bahan aktif farmasi dapat dimodifikasi sementara aktivitas farmakologi dari molekul-molekul obat tetap sama. Kedua, usia simpan BAF dapat diperpanjang dengan menggunakan ko-kristal dalam produk farmasi [14,15].

Modifikasi bentuk padatan BAF dengan membentuk senyawa ko-kristal telah terbukti mampu meningkatkan kelarutan BAF. Pembentukan ko-kristal antara obat AMG 517 dengan dua turunan asam karboksilat (asam benzoat dan asam sinamat) dan dua turunan amida (cinamamida dan benzamida) mampu meningkatkan laju disolusi dan ketersediaan hayatinnya [16]. Kelarutan dan ketersediaan hayati antiinflamasi meloksikam ditingkat melalui pembentukan ko-kristal dengan beberapa turunan asam karboksilat [17]. Studi disolusi menunjukkan laju disolusi ko-kristal itraconazol, suatu antifungi dengan kelarutan yang sangat rendah dengan asam 1,4 dikarboksilat meningkat 4-20 kali lipat dari itraconazol murni [18]. Kelarutan teofilin ditingkatkan melalui pembentukan ko-kristal dengan salah satu turunan piridin karboksamid, yaitu nikotinamid [13].

Pembentukan ko-kristal tidak hanya dapat meningkatkan kelarutan BAF, tetapi juga dapat meningkatkan stabilitas kimia. Pembentukan ko-kristal karbamazepin dengan sakarin mampu meningkatkan stabilitas kimia dan ketersediaan hayatinnya [19]. Peningkatan stabilitas kimia BAF tidak hanya terjadi pada ko-kristal antara obat dengan sakarin, tetapi juga terjadi antara obat dengan bahan pembentuk ko-kristal lainnya. Usia simpan ko-kristal temozolomid dengan nikotinamid, isonikotinamid, dan sakarin lebih panjang daripada temozolomid murni [20].

Pembentukan ko-kristal tergantung pada gugus fungsional antara BAF dan *Cocrystal Former (CCF)* untuk memungkinkan terjadinya ikatan hidrogen. DDI merupakan analog purin yang strukturnya hampir mirip dengan derivat xantin, seperti kafein dan teofilin. Derivat xantin memiliki cincin pirimidin yang bergabung dengan cincin imidazol. Selain memiliki inti xantin, DDI juga memiliki cincin dideoksiribosa. Keberadaan cincin pirimidin, imidazol dan dideoksiribosa menyebabkan DDI memiliki beberapa akseptor ikatan hidrogen termasuk nitrogen aromatik (N_{arom}) dan karbonil pada cincin imidazol dan pirimidin, serta gugus hidroksi pada cincin dideoksiribosa. Struktur kimia DDI memiliki 2 donor ikatan hidrogen dan 5 akseptor ikatan hidrogen. Asam karboksilat dan amida memiliki donor ikatan hidrogen yang mudah untuk berpartisipasi dalam ikatan hidrogen.



Gambar 1. Struktur kimia (a) DDI, (b) NKT, dan (c) ARG

Nikotinamid (NKT) telah banyak digunakan sebagai CCF untuk pembentukan ko-kristal dengan celecoxib [21], teofilin (13), ibuprofen [22], CBZ [23,24], dan lamotrigin [25]. Adanya gugus amida pada nikotinamid dapat membuka peluang terbentuknya ikatan hidrogen. NKT dan ARG adalah bahan yang aman untuk dikonsumsi manusia. Berdasarkan struktur kimianya, DDI (Gambar 1(a)) memiliki peluang besar untuk membentuk ko-kristal dengan NKT (Gambar 1(b)) dan ARG (Gambar 1(c)).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pembentukan kompleks antara DDI dengan NKT atau ARG terhadap kelarutan dan stabilitas kimianya.

METODE PERCOBAAN

Bahan dan Alat

DDI (Hetero Drugs Limited, India) pemberian PT. Kimia Farma, Tbk, Indonesia, nikotinamid (Merck), l-arginin (Merck), hipoksantin (Sigma Aldrich, Malaysia), etanol (Brataco), air suling, kalium dihidrogen fosfat, natrium hidroksida, asam hidroklorida, kalium klorida, dan asetonitril.

Difraktometer sinar-X serbuk (PANalytical X'per Pro), mikroskop polarisasi (Olympus BX-500 dilengkapi dengan kamera digital (Olympus SC30), Shimadzu HPLC System 10ADvp dengan kolom Inertsil ODS-3 250 mm, *orbital shaker*, Spektrofotometer UV (Shimadzu 1600PC), oven, dan penangas es.

Cara Kerja

Uji Kelarutan Fasa DDI dalam Larutan NKT

Sejumlah tertentu DDI dimasukkan ke dalam vial yang berisi masing-masing 2 mL larutan NKT 0,1- 8 M dalam pelarut air dan 0,5 - 5,5 M dalam pelarut campuran etanol:air (7:3). Kemudian dikocok pada *orbital shaker*. Setelah 24 jam disaring dan filtrat diencerkan dan dianalisis secara spektrofotometri UV derivatif pertama. Kurva kelarutan fasa dibuat dengan memplot konsentrasi DDI terlarut terhadap konsentrasi larutan NKT.

Uji Kelarutan Fasa DDI dalam Larutan ARG

Sejumlah tertentu DDI dimasukkan ke dalam vial yang berisi masing-masing 2 mL larutan ARG 0,1-1,1 M dalam pelarut air dan 0,05 - 0,2 M dalam pelarut campuran etanol:air (7:3). Kemudian dikocok pada *orbital shaker*. Setelah 24 jam disaring dan filtrat diencerkan dan dianalisis secara spektrofotometri UV pada panjang gelombang 250 nm. Kurva kelarutan fasa dibuat dengan memplot konsentrasi DDI terlarut terhadap konsentrasi larutan L-arginin.

Pembuatan Kompleks DDI dan NKT dengan Metode *Slurry*

Sebanyak 122 mg (1,0 mmol) nikotinamid dilarutkan dalam 2 mL campuran etanol-air (7:3) dalam vial 10 mL. Kemudian sebanyak 236 mg DDI (1,0 mmol) didispersikan ke dalam larutan nikotinamid tersebut dan diultrasonik selama 15 menit. Dispersi tersebut kemudian dikocok pada *orbital shaker* selama 24 jam. Kompleks yang terbentuk di saring dan dikarakterisasi dengan difraksi sinar-X serbuk dan mikroskop polarisasi.

Pembuatan Kompleks DDI dan ARG dengan Metode Penguapan Pelarut

Campuran ekimolar DDI (118 mg) dan l-arginin (91 mg) dilarutkan dalam 2 mL campuran etanol-air (7:3). Kemudian campuran dibiarkan menguap pada suhu ruang hingga diperoleh padatan kompleks. Kompleks yang terbentuk disaring dan dikarakterisasi dengan difraksi sinar-X serbuk dan mikroskop polarisasi

Uji Kelarutan Dalam Air

DDI dan kompleks yang terbentuk setara dengan 1000 mg dimasukkan ke dalam vial yang berisi 5 mL air suling, kemudian diputar menggunakan alat *orbital shaker* pada kecepatan 150 rpm selama 24 jam pada suhu ruang. Kemudian disaring dan filtrat dianalisis kadarnya secara kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT).

Uji Stabilitas Kimia dalam Medium Larutan Dapar pH 1,2, pH 4,5 dan pH 6,8

Sebanyak 100,0 mg DDI dan kompleks DDI-NKT dan DDI-ARG setara dengan 100,0 mg DDI masing-masing ditimbang dan dilarutkan dalam masing-masing dalam 10,0 mL larutan dapar HCl pH 1,2, larutan dapar asetat pH 4,5, dan larutan dapar fosfat pH 6,8. Kemudian dimasukkan masing-masing sebanyak 1 mL ke dalam 6 buah vial 10 mL dan ditutup rapat. Kemudian dipanaskan di oven bersuhu 37 °C.

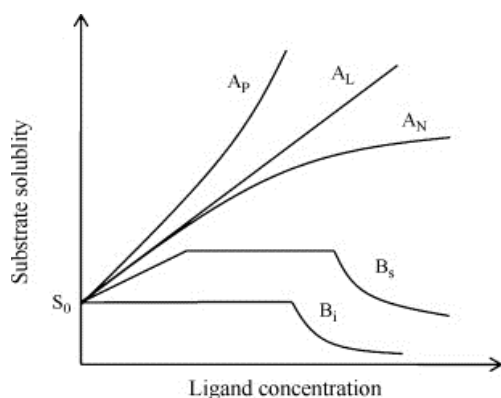
Pengambilan sampel dilakukan sebelum dan 0,5 menit, 1 menit, 2 menit, 5 menit, dan 8 menit (pH 1,2); 1 jam, 2 jam, 5 jam, 10 jam dan 24 jam (pH 4,5); dan 4 hari, 8 hari, 15 hari, 22 hari dan 32 hari (pH 6,8) setelah pemanasan. Sebanyak 0,1 mL sampel yang diambil segera diencerkan dengan larutan dapar fosfat pH 7,0 hingga 10,0 mL. Sampel yang telah diencerkan disimpan pada penangas es hingga dilakukan penetapan kadar DDI tersisa. Kadar DDI pada tiap waktu pengambilan dianalisis secara kromatografi cair kinerja tinggi. Pengujian dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan.

Penetapan Kadar DDI Secara KCKT

Penetapan kadar DDI hasil pengujian kelarutan dan stabilitas kimia dilakukan secara KCKT menggunakan kolom Inertsil ODS-3 250 mm dengan ukuran partikel isi 5 μm , laju alir 1 mL/menit, detektor spektrofotometer UV panjang gelombang 250 nm, dan volume injeksi 20 μL . Pemisahan optimal antara DDI dan hasil penguraian utamanya hipoksantin di peroleh pada komposisi fase gerak campuran larutan dapar fosfat pH 7,0 dan asetonitril (98:2). Larutan kurva kalibrasi DDI dibuat dengan rentang konsentrasi 1-200 $\mu\text{g/mL}$.

HASIL DAN PEMBAHASAN

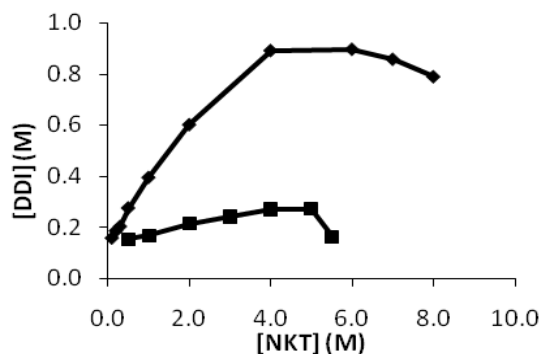
Pembentukan senyawa kompleks molekular dalam larutan telah menjadi fokus penelitian dari Higuchi dan kawan-kawan di tahun 1950an [26,27,28] Istilah molekul kompleks, solid-state kompleks, dan senyawa molekular telah digunakan dalam literatur farmasi sejak tahun 1950, sedangkan istilah ko-kristal baru digunakan pada tahun 2000an. Pembentukan kompleks molekular atau ko-kristal dapat dievaluasi melalui studi kelarutan BAF dalam larutan ligan CCF. Kurva kelarutan fase adalah kurva kelarutan yang menggambarkan konsentrasi suatu zat terlarut di dalam variasi konsentrasi suatu larutan zat lain. Tipe kelarutan fase menurut Higuchi and Connors meliputi tipe A_L , A_p , A_N , B_s , dan B_i seperti pada Gambar 2. Pada penelitian ini dilakukan terlebih dahulu uji kelarutan fase berguna untuk mengetahui tipe kurva kelarutan dari DDI pada variasi konsentrasi NKT dan ARG, sehingga bisa dijadikan salah satu indikasi terjadinya pembentukan ko-kristal.



Gambar 2. Tipe kurva kelarutan fase [29]

Kurva kelarutan DDI dalam variasi konsentrasi ligan NKT dalam pelarut air dan campuran etanol-air (7:3) memperlihatkan tipe kelarutan B_s . Gambar 3 menunjukkan, bahwa kelarutan DDI meningkat tajam pada konsentrasi NKT 0,5-4 M dalam air. Pada rentang konsentrasi NKT tersebut terjadi pembentukan kompleks yang memiliki kelarutan tinggi dalam air. Pada konsentrasi NKT 4,0-6,0 M mulai terjadi penurunan kelarutan kompleks yang terbentuk. Peningkatan konsentrasi

NKT berikutnya 6,0 M hingga 8,0 M menyebabkan semakin banyaknya kompleks DDI-NKT yang terbentuk. Hal yang sama juga terjadi pada variasi konsentrasi NKT dalam pelarut campuran etanol-air (7:3), yaitu mengikuti tipe kelarutan fase B_s . Sehingga untuk membuat kompleks DDI-NKT ini dapat digunakan metode *slurry*. Pada metode *slurry* ini, bahan NKT dilarutkan jenuh atau mendekati jenuh dalam pelarut yang digunakan dan sejumlah ekimolar bahan obat didispersikan dalam larutan CCF. Kompleks akan terbentuk setelah diultrasonikasi dan dikocok beberapa waktu. Setelah terbentuk kompleks, kemudian disaring dan dikeringkan. Mekanisme pembentukan kompleks dengan teknik *slurry* berdasarkan jenuhnya pelarut oleh kedua komponen dalam pelarut yang ditandai dengan menurunnya kelarutan DDI dengan bertambahnya konsentrasi ligan NKT dalam larutan. Semakin banyak NKT yang ditambahkan maka akan semakin banyak padatan kompleks yang terbentuk.

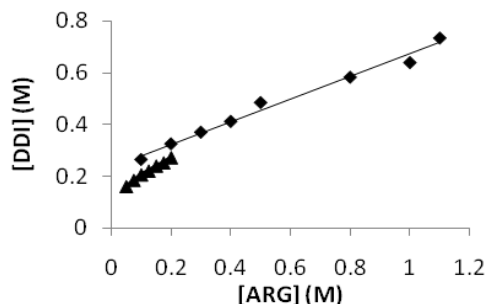


Gambar 3. Kurva kelarutan fase DDI dalam larutan NKT pada (-◆-) pelarut air dan (-■-) campuran etanol-air (7:3)

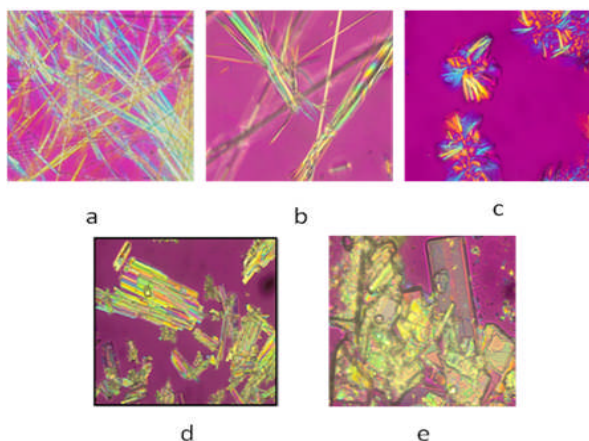
Tipe kelarutan fase yang berbeda ditunjukkan pada kurva kelarutan DDI dalam variasi konsentrasi ligan ARG baik dalam pelarut air, maupun campuran etanol-air (7:3) pada Gambar 4. Tipe fase kelarutan DDI dalam variasi konsentrasi ARG menunjukkan tipe A_L . Pada tipe ini, kelarutan DDI meningkat linier dengan bertambahnya konsentrasi ARG. Persamaan linier peningkatan kelarutan DDI dalam variasi konsentrasi ARG dalam pelarut air dan campuran etanol-air (7:3) berturut-turut adalah $y=0,4356x+0,2362$ dan $y=0,7157x+0,1291$. Kompleks yang terbentuk memiliki kelarutan yang lebih besar daripada kelarutan DDI murni dalam pelarut air dan campuran etanol-air (7:3). Sehingga untuk membuat kompleks DDI-ARG dapat dilakukan dengan metode penguapan pelarut. Pada metode ini, larutan bahan obat dan bahan pembentuk kompleks pada komposisi ekimolar dilarutkan dalam pelarut tertentu, kemudian diuapkan sehingga diperoleh padatan kompleks. Kompleks yang terbentuk disaring dan dikeringkan.

Kompleks DDI-NKT dibuat dengan metode *slurry* dengan pelarut campuran etanol-air (7:3),

sedangkan kompleks DDI-ARG dibuat dengan metode kristalisasi larutan dengan pelarut yang sama. Hasil pembentukan kompleks DDI-NKT dan DDI-ARG dikarakterisasi dengan mikroskop polarisasi, difraksi sinar-X serbuk, dan uji kelarutan. Foto mikroskop polarisasi kompleks DDI-NKT pada Gambar 5 menunjukkan kompleks DDI-NKT dan DDI-ARG memiliki habit yang berbeda dengan habit DDI, NKT, dan ARG. Perbedaan habit ini menjadi salah satu indikasi telah terbentuknya kompleks antara dua komponen pembentuknya.



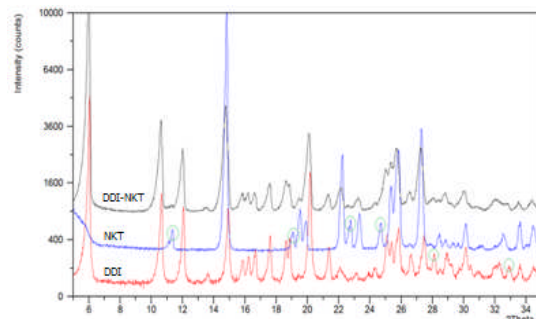
Gambar 4. Kurva kelarutan fase DDI dalam larutan ARG pada (-♦-) pelarut air dan (-2%-) campuran etanol-air (7:3)



Gambar 5. Foto mikroskop polarisasi (a) DDI, (b) NKT, (c) ARG, (d) kompleks DDI-NKT, dan (e) kompleks DDI-ARG

Gambar 6 memperlihatkan pola difraksi sinar-X serbuk dari DDI, NKT dan kompleks DDI-NKT dalam campuran etanol dan air (7:3). Gambar 6 memperlihatkan pola difraksi sinar-X serbuk dari DDI, NKT dan hasil *slurry* DDI-NKT. Pola difraksi sinar-X serbuk menunjukkan hilangnya puncak NKT pada sudut 2θ 11,34°, 19,13°, 22,77°, dan 24,71°. Hilangnya puncak juga terjadi pada 2 puncak DDI, yaitu pada sudut 2θ 28,11° dan 32,97°. Hal yang sama juga ditunjukkan pada pola difraksi sinar-X serbuk kompleks DDI-ARG. Pada Gambar 7 beberapa puncak ARG menghilang pada hasil penguapan pelarut DDI-ARG, yaitu pada 10,93°, 16,83°, 18,25°, dan 19,09°. Puncak DDI juga menghilang pada sudut 2θ 16,25°, 26,65°, dan 30,32°. Munculnya puncak-

puncak baru yang tidak terdapat pada DDI dan ARG pada hasil penguapan pelarut terlihat pada sudut 2θ 18,51°, 25,41°, dan 27,95°. Perubahan pola difraksi sinar-X serbuk ini diduga akibat terbentuknya kompleks DDI-NKT dan DDI-ARG

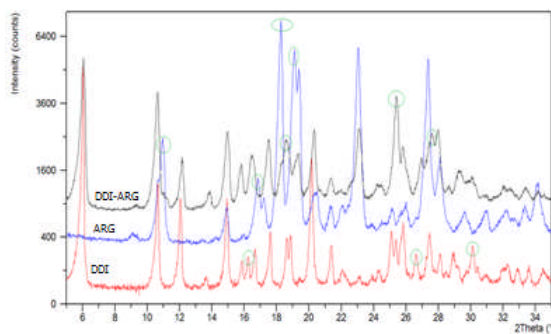


Gambar 6. Pola difraksi sinar-X serbuk dari DDI, NKT dan kompleks DDI-NKT

NKT dan ARG dikenal sebagai bahan penghidrotropi. Istilah hidrotropi pertama kali dikenalkan oleh Neuberg sebagai proses solubilisasi nonstoikiometrik suatu zat terlarut dengan adanya konsentrasi tinggi senyawa aromatik anionik di dalam larutan [30]. Menurut Saleh dan El-Khordagui, hidrotropi adalah suatu fenomena molekular dimana peningkatan kelarutan di dalam air suatu zat tidak hanya disebabkan penambahan bahan penghidrotropi aromatik anionik, tetapi juga aromatik kationik dan nonionik [31]. NKT dikenal memiliki kemampuan untuk meningkatkan kelarutan berbagai BAF [32]. NKT mampu meningkatkan kelarutan berbagai BAF melalui pembentukan *stacking complex* [33]. Pembentukan *stacking complex* antara NKT dan BAF umumnya berkaitan dengan interaksi antara donor π dan akseptor π elektron. Kompleks terbentuk antara bagian datar hidrofobik (aromatik) bahan pengkompleks dan BAF. Susunan bertumpuk-tumpuk mirip *sandwich* melindungi bagian hidrofobik BAF dari air [34]. Aromatik (sistem- π) cincin piridin NKT diduga membentuk *stacking complex* dengan cincin pirimidin DDI sehingga terjadi peningkatan kelarutan DDI. ARG juga memiliki kemampuan meningkatkan kelarutan sejumlah BAF, antara lain kumarin [35] dan turunan-turunan alkil galat yang dikenal dengan istilah *arginine-assisted solubilization system* (AASS) [36]. Mekanisme peningkatan kelarutan BAF akibat penambahan ARG dilaporkan akibat interaksi antara gugus guanidium ARG dan cincin aromatik BAF [37]. Pembentukan kompleks akibat interaksi antara cincin pirimidin DDI dan gugus guanidin ARG diduga menyebabkan terjadinya peningkatan kelarutan DDI di dalam media air.

Pembentukan kompleks dapat meningkatkan kelarutan obat dalam air. NKT dan ARG memiliki kelarutan yang tinggi dalam air. NKT dan ARG banyak digunakan untuk meningkatkan kelarutan beberapa obat [38,39]. Pengujian kelarutan dilakukan

terhadap kompleks DDI-NKT dan DDI-ARG yang sudah dibuat. Sampel uji kelarutan dianalisis secara kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) dengan sistem kolom Inersil CLC-ODS panjang 250 mm, fase gerak campuran asetonitril-dapar fosfat pH 7,0 (8:92), laju alir 1 mL/menit dan deteksi UV 250 nm. Persamaan kurva kalibrasi DDI $y = 58779x - 3466$ dengan koefisien korelasi $(r)=0,9999$, batas deteksi (BD)= 0,45 $\mu\text{g/mL}$, dan batas kuantisasi (BK)= 1,5 $\mu\text{g/mL}$. Hasil pengujian menunjukkan kelarutan kompleks DDI-NKT dan DDI-ARG dalam air berturut-turut 1,86 dan 4,54 kali lipat dari kelarutan DDI murni. Kelarutan kompleks DDI-ARG lebih besar daripada DDI-NKT. Kelarutan DDI, kompleks DDI-NKT, dan DDI-ARG berturut-turut adalah $26,42 \pm 0,41$, $49,13 \pm 0,36$, dan $119,85 \pm 1,53$ mg/mL.

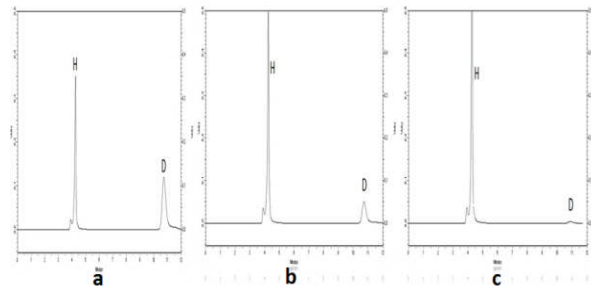


Gambar 7. Pola difraksi sinar-x serbuk dari DDI, ARG dan kompleks DDI-ARG

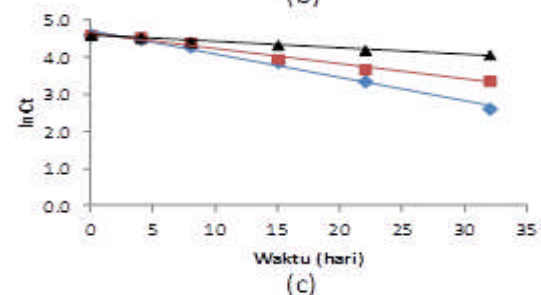
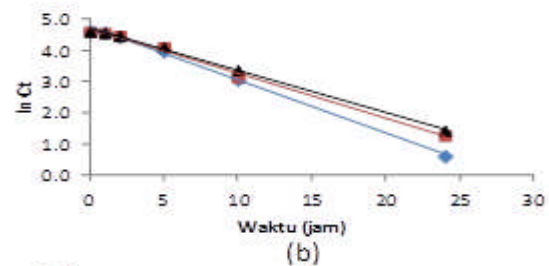
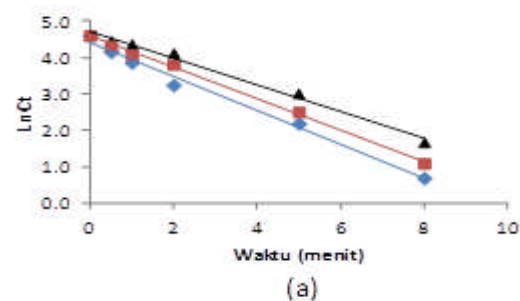
Pembentukan kompleks dapat memperbaiki stabilitas kimia BAF. Pembentukan kompleks molekular atau ko-kristal dapat menghambat laju degradasi obat dalam larutan [33,34]. DDI mudah terdegradasi dalam suasana asam dan stabil dalam suasana alkalis. Dalam larutan DDI mengalami hidrolisis menjadi hipoksantin dan 2,3-dideoksiribosa. Pengujian stabilitas dilakukan terhadap DDI dan kompleks DDI-NKT dan DDI-ARG dalam bentuk larutan pada pH 1,2, pH 4,5 dan pH 6,8 suhu 37 °C. Variasi pH ini merupakan pH cairan yang terdapat pada segmen saluran cerna. Penetapan kadar DDI yang terpisah dari hipoksantin sebagai degradasinya dilakukan secara KCKT fase terbalik dengan fase gerak optimal diperoleh pada campuran asetonitril:dapar fosfat pH 7,0 (8:92). Pada perbandingan fase gerak ini DDI terpisah sempurna dari hipoksantin dan nikotinamid dengan waktu retensi (t_r) DDI = 10,6 menit, t_r hipoksantin = 3,9 menit, dan t_r nikotinamid = 6,6 menit, sedangkan L-arginin tidak terdeteksi.

Degradasi DDI menjadi hipoksantin berlangsung sangat cepat pH 1,2. Gambar 8 menunjukkan kromatogram degradasi DDI menjadi hipoksantin, dimana penurunan luas puncak DDI diikuti dengan kenaikan luas puncak dari hipoksantin. Degradasi DDI dalam larutan baik DDI murni maupun kompleks DDI-NKT dan DDI-ARG mengikuti reaksi

penguraian orde pertama, yaitu $\ln C_t = \ln C_0 - kt$, dimana C_t adalah konsentrasi DDI tersisa, C_0 adalah konsentrasi awal DDI, k adalah tetapan laju degradasi, dan t adalah waktu penyimpanan.



Gambar 8. Kromatogram degradasi larutan DDI menjadi hipoksantin (H) pada pH 1,2 suhu 37°C (a) setelah 0,5 menit, (b) setelah 2 menit dan (c) setelah 8 menit



Gambar 9. Kurva laju degradasi orde pertama DDI murni (—♦—), kompleks DDI-NKT (—■—), DDI-ARG (—□—) pada (a) pH 1,2, (b) 4,5, dan (c) 6,8 di suhu 37°C

Gambar 9(a) menunjukkan laju degradasi kompleks DDI-ARG dan DDI-NKT lebih lambat daripada DDI murni. Kompleks DDI-NKT dan DDI-ARG memiliki stabilitas yang lebih baik daripada DDI murni. Hal ini dapat dilihat dari waktu paruh kedua kompleks yang lebih panjang dan tetapan

laju degradasinya yang lebih rendah daripada DDI murni. DDI murni menurun kadarnya hingga tersisa 8,9% setelah disimpan selama 5 menit pada pH 1,2 dan suhu 37°C. Sedangkan bila dibuat kompleks DDI-ARG dan DDI-NKT masih tersisa berturut-turut 20,0% dan 12,2% dalam waktu penyimpanan yang sama. Tetapan laju degradasi DDI, kompleks DDI-NKT, dan DDI-ARG pada pH 1,2 dan suhu 37°C berturut-turut adalah 27,8 jam⁻¹, 25,8 jam⁻¹ dan 21,8 jam⁻¹.

Degradasi DDI murni, kompleks DDI-NKT, dan DDI-ARG pada pH 4,5 suhu 37°C berlangsung lebih lambat daripada pada pH 1,2 suhu yang sama. Seperti halnya pada pH 1,2, pada pH 4,5 laju degradasi kompleks DDI-ARG dan DDI-NKT juga lebih lambat daripada DDI murni (Gambar 9b). Kompleks DDI-NKT dan DDI-ARG memiliki stabilitas yang lebih baik daripada DDI murni. Seperti halnya stabilitas pada pH 1,2, waktu paruh kedua kompleks pada pH 4,5 juga lebih panjang dan tetapan laju degradasinya lebih rendah daripada DDI murni. DDI murni menurun kadarnya hingga tersisa 21,5% setelah disimpan selama 10 jam pada pH 4,5 dan suhu 37°C. Sedangkan bila dibuat kompleks DDI-ARG dan DDI-NKT masih tersisa berturut-turut 29,3% dan 23,1% dalam waktu penyimpanan yang sama. Laju degradasi DDI, kompleks DDI-NKT, dan DDI-ARG pada pH 4,5 dan suhu 37°C berturut-turut adalah 0,1700 jam⁻¹; 0,1432 jam⁻¹ dan 0,1347 jam⁻¹.

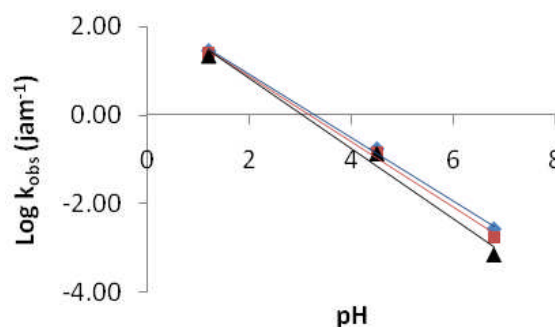
Degradasi DDI murni, kompleks DDI-NKT, dan DDI-ARG pada pH 6,8 suhu 37°C berlangsung lebih lambat daripada pada pH 4,5 suhu yang sama. Seperti halnya pada pH 1,2 dan pH 4,5 pada pH 6,8 laju degradasi kompleks DDI-ARG dan DDI-NKT juga lebih lambat daripada DDI murni (Gambar 9(c)). Waktu paruh kedua kompleks lebih panjang dan tetapan laju degradasinya lebih rendah daripada DDI murni. Kompleks DDI-NKT dan DDI-ARG memiliki stabilitas yang lebih baik daripada DDI murni. DDI murni menurun kadarnya hingga tersisa 13,7% setelah disimpan selama 32 hari pada pH 6,8 dan suhu 37°C. Sedangkan bila dibuat kompleks DDI-ARG dan DDI-NKT masih tersisa berturut-turut 39,6% dan 66,7% dalam waktu penyimpanan yang sama. Laju degradasi DDI, kompleks DDI-NKT, dan DDI-ARG pada pH 6,8 dan suhu 37°C berturut-turut adalah 2,65x10⁻³jam⁻¹, 1,74x10⁻³jam⁻¹ dan 6,92x10⁻²jam⁻¹. Parameter stabilitas DDI, kompleks DDI-NKT, dan DDI-ARG pada pH 1,2, pH 4,5 dan pH 6,8 di suhu 37°C, seperti nilai tetapan laju degradasi (k), koefisien korelasi (r), waktu paruh (t_{1/2}), dan t₉₀ ditampilkan pada Tabel 1.

Ion hidrogen (H⁺) dan ion hidroksil (OH⁻) sering dikaitkan dengan degradasi suatu bahan obat dalam larutan. Dalam beberapa kasus degradasi obat, adanya ion H⁺ atau ion OH⁻ dapat mempercepat laju degradasi obat yang dinamakan katalisis asam-basa spesifik [40]. Pada Gambar 10, hubungan antara tetapan laju degradasi DDI murni maupun DDI pada kompleks DDI-NKT dan DDI-ARG pada pH 1,2, 4,5 dan

6,8 menunjukkan degradasi DDI dipengaruhi oleh katalisis asam spesifik. Degradasi DDI hanya dipengaruhi oleh konsentrasi ion hidrogen (H⁺) dengan kinetika *pseudo first-order* dan tidak dipengaruhi oleh keberadaan komponen dapar seperti ion klorida, asetat dan fosfat yang digunakan sebagai komponen dapar. Logaritma tetapan laju degradasi (log k_{obs}) DDI pada DDI murni maupun pada kompleks DDI-NKT dan DDI-ARG pada pH 1,2, 4,5 dan 6,8 menurun linier dengan meningkatnya pH. Peningkatan stabilitas diduga akibat adanya pembentukan *stacking complex* seperti *sandwich* antara DDI dan NKT atau ARG, sehingga menghalangi masuknya air dan ion hidronium dan menghambat putusannya ikatan N-glikosidik antara inti purin dengan gula dideoksiribosa pada DDI.

Tabel 1. Parameter Degradasi Larutan DDI, kompleks DDI-NKT, dan DDI-ARG pada pH 1,2, 4,5, dan 6,8 di suhu 37°C

Bahan	Parameter		
	k (jam ⁻¹)	r	t _{1/2} (jam)
pH 1,2			
DDI murni	2,78 x 10 ¹	0,9947	2,49 x 10 ⁻²
DDI-NKT	2,58 x 10 ¹	0,9988	2,69 x 10 ⁻²
DDI-ARG	2,18 x 10 ¹	0,9988	3,18 x 10 ⁻²
pH 4,5			
DDI	1,70 x 10 ⁻¹	0,9987	4,08
DDI-NKT	1,43 x 10 ⁻¹	0,9976	4,84
DDI-ARG	1,35 x 10 ⁻¹	0,9989	5,15
pH 6,8			
DDI	2,65 x 10 ⁻³	0,9935	2,62 x 10 ²
DDI-NKT	1,74 x 10 ⁻³	0,9920	3,99 x 10 ²
DDI-ARG	6,92 x 10 ⁻⁴	0,9937	1,00 x 10 ³



Gambar 10. Profil pH-laju degradasi DDI (-♦-), kompleks DDI-NKT (-■-), DDI-ARG (-▲-) pada suhu 37 °C

KESIMPULAN

DDI membentuk kompleks dengan NKT dan ARG. Pembentukan kompleks DDI-NKT dan DDI-ARG dapat meningkatkan kelarutan DDI dalam air dan stabilitas kimia DDI pada pH 1,2; pH 4,5 dan pH 6,8 di suhu 37°C.

UCAPAN TERIMAKASIH

Kami mengucapkan terima kasih kepada Bapak Agung Kisworo (Unit Riset dan Pengembangan

PT. Kimia Farma, Tbk) atas pemberian bahan baku anti-HIV didanosin.

DAFTARACUAN

- [1]. AHFS Drug Information®. "Didanosine." American Hospital Formulary Service, American Society of Hospital Pharmacist, Bethesda, 1995.
- [2]. B.D. Anderson, M.B. Wygant, T.X. Xiang, W.A. Waugh, V. Stella. "Preformulation solubility and kinetic studies of 2',3'-dideoxypurine nucleosides: potential anti-AIDS agents." *International Journal of Pharmaceutics*, vol. 45, pp. 27-37, 1988.
- [3]. M.N. Nassar, T. Chen, M.J. Reff, S.N. Agharkar. "Didanosine." in *Analytical Profiles Drug Substances and Excipients*, vol. 22, pp. 185-227, 1991.
- [4]. J.W. Russel, L.J. Klunk. Comparative Pharmacokinetics of New Anti-HIV Agents: 2',3'-Dideoxyadenosine and 2',3'-Dideoxyinosine." *Biochemical Pharmacology*, vol. 38, pp. 1385-88, 1990.
- [5]. A. Jayasankar A. Somwangthanaroj, J.Z. Shao, N. Rodríguez-Hornedo. "Cocrystal Formation during Cogrounding and Storage is Mediated by Amorphous Phase". *Pharmaceutical Research*, vol. 23, pp. 81-92, 2006.
- [6]. C.B. Aakeroy. "Crystal Engineering: Strategies and Architectures." *Acta Crystallographica B*, vol. 53, pp. 569-86, 1997.
- [7]. G.R. Desiraju, "Supramolecular Synthons in Crystal Engineering: A New Organic Synthesis." *Angewandte Chemie International Edition*, vol. 34, pp. 23-27, 1995.
- [8]. C.B. Aakeroy, D.J. Salmon. "Building Co- Crystals with Molecular Sense and Supramolecular Sensibility." *Crystal Engineering Community*, vol. 7, pp. 39-48, 2005.
- [9]. P. Vishweshar, J.A. McMahon, M. Oliveira, M. Peterson, M.J. Zaworotko. "The Predictably Elusive Form II of Aspirin". *Journal of American Chemical Society*, vol. 127, pp. 02-03, 2005.
- [10]. Y. Umeda, T. Fukami, T. Furuishi, T. Suzuki, M. Makimura, K. Tonomo. "Molecular Complex Consisting of Two Typical External Medicines: Intermolecular Interaction between Indomethacin and Lidocaine." *Chemical Pharmaceutical Bulletin*, vol. 55, pp. 832-36, 2007.
- [11]. A.V. Trask, W.D.S. Motherwell, W. Jones. "Physical Stability Enhancement of Theophylline via Cocrystallization". *International Journal Pharmaceutics*, vol. 320, pp. 14-23, 2006.
- [12]. M. Almarsson, M.J. Zaworotko. "Crystal Engineering of the Composition of Pharmaceutical Phases. Do Pharmaceutical Co- Crystals Represent a New Path to Improved Medicines." *Chemical Communications*, pp. 89-96, 2004.
- [13]. J. Lu, S. Rohani. "Preparation and Characterization of Theophylline-Nicotinamide Cocrystal." *Organic Process Research & Development*, vol. 13, pp. 69-75, 2000.
- [14]. B. Sarma, J. Chen J, H. Y., His, A.S. Myerson. "Solid forms of pharmaceuticals: Polymorphs, salts and cocrystals." *Korean Journal of Chemical Engineering*, vol. 28, pp. 15-22, 2011.
- [15]. N. Blagden, M. de Matas, P.T. Gavan, P. York. "Crystal Engineering of Active Pharmaceutical Ingredients to Improve Solubility and Dissolution Rates." *Advance Drug Delivery Review*, vol 59, pp. 17-30, 2007.
- [16]. M.K. Stanton, M.K. "Improved Pharmacokinetics of AMG 517 Through Co Crystallization Part 1: Comparison of Two Acids With Corresponding Amide Co-crystals." *Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol 99, pp. 69-78, 2010.
- [17]. D.R. Weyna, M.L. Cheney, N. Shan, M. Hanna, M.J. Zaworotko, V. Sava, S.Song, J.R. Sanchez-Ramos. "Improving Solubility and Pharmacokinetics of Meloxicam via Multiple-Component Crystal Formation." *Molecular Pharmaceutics*, vol. 9, pp. 94-102, 2012.
- [18]. J.F. Remenar, S.L. Morissette, M.L. Peterson, B. Moulton, J.M. MacPhee, H.R. Guzman, O. Almarsson. "Crystal Engineering of Novel Cocrystals of A Triazole Drug with 1,4- Dicarboxylic Acids." *Journal American Chemical Society*, vol. 125, pp. 8456, 2003.
- [19]. M.B. Hickey, M. Peterson, L.A. Scoppettuolo, S.L.Morissette, A. Vetter, H. Guzman, J.F. Remenar, Z. Zhang, M.D. Tawa, S. Haley, M.J. Zaworotko, O. Almarsson. "Performance Comparison of a Co-crystal of Carbamazepine with Marketed Product." *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, vol 67, 12-19, 2007.
- [20]. P. Sanphui, N.J. Babu, A. Nangia. "Temozolomide Cocrystals with Carboxamide Coformer." *Crystal Growth & Design*, vol. 13, pp. 08-19, 2013.
- [21]. J.F. Remenar, M.L. Peterson, P.W. Stephens, Z. Zhang, Y. Zimenkov, M.B. Hickey. "Celecoxib:Nicotinamide Dissociation: Using Excipients to Capture the Cocrystal's Potential." *Molecular Pharmaceutics*, 4, pp. 386-400, 2007.
- [22]. D.J. Berry DJ, C.C. Seaton, W. Clegg, R.W. Harrington, S.J. Coles, P.N. Horton, M.B. Hursthouse, R. Storey, W. Jones, T. Friscic, N. Blagden. "Applying Hot-stage Microscopy to Co-crystal Screening: A Study of icotinamide with Seven Active Pharmaceutical Ingredients." *Crystal. Growth Design*, vol. 8, pp. 697-712, 2008.
- [23]. N. Chieng, M. Hubert, D. Saville, T. Rades, J. Aaltonen. "Formation Kinetics and Stability of Carbamazepine-Nicotinamide Cocrystals Prepared by Mechanical Activation." *Crystal Growth Design*, vol. 9, pp. 77-86, 2009.

- [24]. W. Porter, S. Elie, A. Matzger. "Polymorphism in Carbamazepine Cocrystals". *Crystal Growth Design*, vol. 8, pp. 14-6, 2008.
- [25]. M.L. Cheney, N. Shan, E.R. Healey, M. Hanna, L. Wojtas, M.J. Zaworotko, V. Sava, S. Song, J.R. Sanches-Ramos. "Effects of crystal form on solubility and pharmacokinetics: a crystal engineering case study of amotrigine." *Crystal Growth Design*, vol. 10, pp. 394-405, 2010.
- [26]. T. Higuchi, D.A. Zuck. "Investigation of Some Complexes Formed in Solution by Caffeine. III. Interactions between Caffeine and Aspirin, PHydroxybenzoic Acid, M-Hydroxybenzoic Acid, Salicylic Acid, Salicylate Ion, and Butyl Paraben." *Journal of the American Pharmaceutical Association*, vol. 42, pp. 138-45, 1953.
- [27]. T. Higuchi, S. Bolton. "The Solubility and Complexing Properties of Oxytetracycline and Tetracycline III." *Journal of the American Pharmaceutical Association*, vol. 48, pp. 557-64, 1959.
- [28]. H.B. Kostenbauder, T. Higuchi, *Journal of the American Pharmaceutical Association*. Vol. 45, pp. 518-22, 1956.
- [29]. T.Higuchi, K.A. Connors. "Phase Solubility Techniques." *Advance in Analytical Chemistry and Instrumentation*, vol. 4, pp. 117, 1965.
- [30]. Neuberg, H. , "Hydrotropy." *Biochemistry*, vol. Z76, 107-76, 1916.
- [31]. A.M. Saleh dan L.K. El-Khordagui. "Hydrotropic Agents: A New Definition." *International Journal of Pharmaceutics*, vol. 24, pp. 231-38, 1985.
- [32]. L.Y. Lim dan M.L. Go. "Caffeine andNicotinamide Enhancesthe Aqueous Solubility of the Antimalarial Agent Halofantrine." *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 10, pp.17-28, 2000.
- [33]. M.P.Evstigneev, V.P. Evstigneev, A.A. Santiago, dan D.B. Davies." Effect of a Mixture of Caffeine and icotinamide on the Solubility of Vitamin (B2) in Aqueous Solution". *European Journal of Pharmaceutical Sciences*,vol. 28, pp. 59-66, 2006.
- [34]. N.I. Nakano dan S.J.Igarashi. "Molecular Interactions of Pyrimidines, Purines, and Some other Heteroaromatic Compounds in Aqueous Media." *Biochemistry*, vol. 9, pp. 577-83. 1970
- [35]. A. Hirano, T. Arakawa, dan K. Shiraki. "Arginine Increases the Solubility of Coumarin: Comparison with Salting-in and Salting-out Additives." *Journal of Biochemistry*, vol. 144, pp. 363-69. 2008
- [36]. A. Hirano, T. Kameda, T. Arakawa, dan K. Shiraki. "Arginine-Assisted Solubilization System for Drug Substances: Solubility Experiment and Simulation." *Journal of Physical Chemistry B, Journal Physical Chemistry B*, vol. 114, 13455-62. 2010.
- [37]. R. Ariki, A. Hirano, T. Arakawa, dan K. Shiraki."Arginine Increases the Solubility of Alkyl Gallates through Interaction with the Aromatic Ring." *Journal of Biochemistry*, vol. 149, pp. 89-94, 2011.
- [38]. P. Shanpui, N.R. Goud, U.B.R. Khandavilli, A. Nangia. "Fast Dissolving Curcumin Cocrystals." *Crystal Growth & Design*, vol. 11, pp. 4135-45, 2011.
- [39]. S. Nicoli, S. Bilzi, P. Santi, M. R. Caira, J. Li, R. Bettini. "Ethyl-Paraben and Nicotinamide Mixtures: Apparent Solubility, Thermal Behavior and X-Ray Structure of the 1:1 Co- Crystal." *Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 97, pp.4830-39, 2008.
- [40]. D. Zhou D, W.R. Porter, G.Z.Z. Zhang. "Drug Stability and Degradation Studies", in *Developing Solid Oral Dosage Forms, Part I: Theory and Techniques in the Characterization of Drug Substances and Excipients*, New York: Academic Press, 1991, pp.87-124.

