

PENGARUH PENGGILINGAN TERHADAP KARAKTERISTIK PADATAN DIDANOSIN

Fikri Alatas¹, Sundani Nurono Soewandhi² dan Lucy D. N. Sasongko²

¹Jurusan Farmasi, FMIPA - Universitas Jenderal Achmad Yani
Cimahi, Bandung

²Sekolah Farmasi - ITB
Jl. Ganesha No. 10, Bandung
e-mail: fikrifaza@yahoo.co.id

ABSTRAK

PENGARUH PENGGILINGAN TERHADAP KARAKTERISTIK PADATAN DIDANOSIN.

Pemberian energi mekanik pada suatu padatan kristal dapat menyebabkan kerusakan kristal sehingga akan mempengaruhi sifat fisikokimia padatan tersebut. Tujuan penelitian ini adalah untuk mempelajari pengaruh penggilingan terhadap karakteristik padatan didanosin (2',3'-dideoxyinosine atau DDI). Penggilingan padatan DDI dilakukan dengan menggunakan alat *Retsch RM 100 mortar grinder* selama 15 menit dan 30 menit. Karakterisasi padatan hasil penggilingan dilakukan dengan menggunakan difraksi sinar-X serbuk, *Differential Scanning Calorimeter (DSC)*, *Scanning Electron Microscope (SEM)* dan *Fourier Transform-Infra Red (FT-IR)*. Indeks kristalinitas relatif DDI hasil penggilingan ditentukan dengan metode difraksi sinar-X serbuk. Uji kelarutan dilakukan dalam pelarut air untuk melihat perubahan sifat fisikokimia akibat penggilingan. Difraktogram DDI memiliki beberapa puncak utama dengan intensitas tertinggi ditunjukkan pada sudut $2\theta = 6,0^\circ$, untuk menghitung indeks kristalinitas relatif. Penggilingan terhadap DDI tidak mengubah letak sudut 2θ , namun menurunkan intensitas puncak dengan indeks kristalinitas relatif 40,8 % dan 30,4 %. Termogram DSC DDI menunjukkan ada 2 puncak endotermik yaitu pada suhu 179,5 °C yang merupakan titik lebur DDI dan 285,0 °C serta satu puncak eksotermik pada suhu 183 °C. Titik lebur DDI mengalami sedikit pergeseran menjadi 180,2 °C setelah digiling selama 15 menit dan 176,9 °C setelah digiling 30 menit. Fotomikrograf SEM menunjukkan terjadi pengecilan ukuran DDI setelah mengalami penggilingan. Spektrum FT-IR menunjukkan tidak adanya pergeseran bilangan gelombang dari gugus-gugus pada DDI setelah mengalami penggilingan. Kelarutan DDI meningkat setelah mengalami penggilingan selama 15 menit dan 30 menit yaitu dari $24,83 \pm 0,73$ menjadi $30,25 \pm 0,18$ mg/mL dan $33,76 \pm 0,33$ mg/mL. Penggilingan ini disamping meningkatkan luas permukaan, juga menyebabkan sebagian kristal berubah menjadi amorf, sehingga kelarutan DDI dalam air meningkat.

Kata kunci : Didanosin, Penggilingan, Difraksi sinar-x serbuk, Indeks kristalinitas relatif, Kelarutan

ABSTRACT

THE EFFECTS OF MILLING ON THE CHARACTERISTICS OF SOLID DIDANOSIN.

Application of mechanical energy in a solid crystalline can cause damage to the crystal and will affect the physicochemical properties of these solids. The purpose of this study is to investigate the effect of milling on the characteristics of solids didanosin (2',3'-dideoxyinosine or DDI). The milling of DDI was performed using Retsch mortar grinder RM 100 for 15 and 30 minutes. Characterization was carried out using X-Ray Powder Diffraction, Differential Scanning Calorimeter (DSC), Scanning Electron Microscope (SEM), and Fourier Transform-Infra Red (FT-IR) methods. The relative crystallinity index was determined by X-ray powder diffraction method. Solvent solubility test was performed in water to observe the effects of mechanical milling on the physicochemical properties. Diffractogram of DDI shows several major peaks and the maximum intensity is observed at the 2θ angle of 6.0° and was used to calculate the relative crystallinity index. Milling of the DDI does not change the positions of the 2θ reflection angles, but has reduced the peak intensity at those particular angles by a factor of up to 40.8% and 30.4%, respectively. DSC thermogram of DDI shows the appearance of two endothermic peaks at 179.5 °C, which is the melting point of the DDI, and at 285.0 °C, as well as the appearance of one exothermic peak at -183 °C. The melting point of the DDI is slightly shifted to 180.2 °C and 176.9 °C after milling for 15 minutes and 30 minutes respectively. SEM photomicrographs shows that the size of DDI decreases with milling time. FTIR spectrum shows no shift in wave number of the clusters in DDI after milling. The solubility of the DDI increases after 15 and 30 minutes of milling, from 24.83 ± 0.73 to 30.25 ± 0.18 and 33.76 ± 0.33 mg/mL, respectively. Therefore milling, in addition to causing an increase in the surface area, has also caused some crystals to become amorphous, thus increases the DDI's solubility in water.

Key words : Didanosin, Milling, X-ray diffraction, Relative crystallinity index, Solubility

PENDAHULUAN

Didanosin (*2',3'-dideoxyinosine* atau *DDI*) adalah dideoksi analog sintetis dari inosin nukleosida purin yang telah dilaporkan dapat menghambat replikasi dari human immunodeficiency virus (HIV). Struktur *DDI* dapat dilihat pada Gambar 1. *DDI* bertindak sebagai kompetitif inhibitor *reverse transcriptase*. Obat ini disetujui oleh *US Food and Drug Administration* untuk pengobatan dewasa dan anak dengan usia di atas 6 bulan [8]. Berdasarkan ISO Indonesia tahun 2010, hingga saat ini belum satupun industri farmasi di Indonesia yang telah mengeluarkan sediaan farmasi yang mengandung *DDI*. Formulasi sediaan farmasi yang mengandung *DDI* masih dalam pengembangan oleh salah satu industri farmasi dalam negeri.

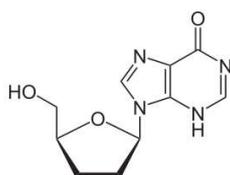
Sifat padatan bahan aktif farmasi (BAF) sangat penting dalam pengembangan bentuk sediaan farmasi, karena dapat memberikan dampak yang signifikan secara klinis dan ekonomis. Perbedaan sifat-sifat fisik suatu padatan dan variasi dalam derajat kristalinitasnya memiliki pengaruh yang penting dalam pengolahan BAF menjadi produk obat, sedangkan perbedaan dalam kelarutan memiliki pengaruh pada penyerapan obat dari bentuk sediaan dengan mempengaruhi laju disolusinya [2,3,6,10].

Pemberian energi mekanik pada suatu padatan kristal dapat menyebabkan kerusakan kristal, sehingga akan mempengaruhi sifat fisikokimia padatan tersebut. Pemberian energi mekanik dengan penggilingan merupakan salah satu proses yang dilakukan dalam pembuatan sediaan farmasi dapat menyebabkan perubahan fisikokimia suatu bahan aktif farmasi termasuk transisi polimorfik dan transisi dari kristal menjadi amorf [5,7,9]. Perbedaan derajat kristalinitas BAF berhubungan dengan sifat fisiko kimia yang dapat mempengaruhi proses pembuatan dan kelarutannya. Sejauh ini, hanya ada dua literatur yang membahas mengenai sifat padatan *DDI*, meskipun penggunaannya sebagai BAF pada sediaan farmasi dimulai sejak tahun 1991 [1,4]. Tujuan penelitian ini adalah untuk mempelajari pengaruh penggilingan terhadap karakteristik padatan *DDI*.

METODE PERCOBAAN

Bahan

Bahan baku *DDI* dengan kemurnian > 99% diperoleh dari PT. Kimia Farma, Tbk dan air suling.



Gambar 1. Struktur kimia *DDI*

Cara Kerja

Penyiapan Sampel

Masing-masing sebanyak 2 g *DDI* ditempatkan ke dalam mortar. Kemudian digiling dengan alat *Retsch RM 100 mortar grinder* selama 15 menit dan 30 menit dengan kecepatan putaran 100 rpm. Sampel yang diperoleh dikarakterisasi dengan difraktometer Sinar-X serbuk, *Differential Scanning Calorimetri (DSC)*, *Fourier Transform-Infra Red (FT-IR)* dan *Scanning Electron Microscope (SEM)*.

Difraksi Sinar-X Serbuk

Pengumpulan data difraksi Sinar-X serbuk dilakukan menggunakan instrument Shimadzu XRD-7000 *X-Ray Powder Diffractometer* ($\text{CuK}\alpha$, tegangan 30 = kV, arus 15 = mA). Sampel dipindai pada rentang sudut 2θ sebesar 5° hingga 35° pada kecepatan $2^\circ/\text{menit}$. Kemudian dilanjutkan dengan penentuan indeks kristalinitas relatif *DDI* setelah penggilingan. Indeks kristalinitas relatif *DDI* dihitung dengan membandingkan luas di bawah puncak sampel *DDI* setelah penggilingan dengan luas di bawah puncak *DDI* sebelum penggilingan di sudut 2θ spesifik menggunakan perangkat lunak *Rigaku*.

Analisis Termal Dengan *Differential Scanning Calorimetri*

Analisis termal terhadap sampel dilakukan dengan Perkin Elmer *DSC-6*. 2 mg hingga 5 mg sampel ditempatkan pada piringan aluminium. Kemudian sampel dipanaskan pada rentang suhu 30°C hingga 350°C dengan kecepatan pemanasan $10^\circ\text{C}/\text{menit}$.

Fourier Transform-Infra Red

Pengumpulan data spectrum infra merah dilakukan menggunakan Perkin-Elmer *FT-IR* yang dilengkapi dengan detektor *Deuterium Triglycine Sulfate (DTGS)*. Spektrum diperoleh dalam mode transmisi pada pelet KBr pada rentang bilangan gelombang 4000cm^{-1} hingga 450cm^{-1} .

Scanning Electron Microscope

Fotomikrograf sampel hasil penggilingan dilakukan menggunakan *SEM* Merek *Carl Zeiss*, Jerman

Uji Kelarutan *2',3'-Dideoxyinosine*

Kelarutan *DDI* dan *DDI* hasil penggilingan dalam air ditentukan pada suhu ruang menggunakan *orbital shaker* dengan kecepatan 200 rpm. Sejumlah sampel *DDI* sebelum dan setelah penggilingan masing-masing dimasukkan ke dalam *vial* yang berisi 5 mL air. Kemudian

dikocok secara kontinyu selama 48 jam dan disaring. Filtrat diencerkan dan dianalisis kadarnya secara spektrofotometri *Ultra Violet* pada panjang gelombang serapan maksimum 249,1 nm. Persamaan kurva kalibrasi *DDI* ($y = 0,0538x - 0,0169$ linier pada rentang 0,2 $\mu\text{g/mL}$ hingga 16,0 $\mu\text{g/mL}$ ($r = 0,9999$). Pengujian masing-masing sampel dilakukan sebanyak 3 kali.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengecilan ukuran partikel dapat memberikan pengaruh signifikan dalam meningkatkan ketersediaan hayati obat [1,15]. Pengecilan ukuran partikel ini umumnya diperoleh dengan penggilingan. Penggilingan suatu padatan obat dapat menurunkan kristalinitasnya [9]. Untuk melihat pengaruh penggilingan terhadap perubahan kristalinitas suatu padatan dapat dilakukan dengan menghitung indeks kristalinitas relatif setelah penggilingan. Indeks kristalinitas relatif ini dihitung dengan membandingkan luas di bawah puncak setelah penggilingan dengan luas dibawah puncak sebelum penggilingan pada salah satu sudut 2θ yang diperoleh dari pola difraksi sinar-X serbuk. Pola difraksi sinar-X serbuk *DDI* sebelum dan sesudah penggilingan selama 15 menit dan 30 menit ditunjukkan pada Gambar 2(a), Gambar 2(b) dan Gambar 2(c). Pola difraksi sinar-X serbuk *DDI* sebelum penggilingan pada Gambar 2(a) menunjukkan, bahwa *DDI* memiliki banyak puncak dengan puncak utama terletak pada sudut 2θ 6,0°, 10,6°, 12,0°, 14,9° dan 20,2°. Intensitas tertinggi ($I/I_0=100$) ditunjukkan pada sudut 2θ 6,0° yang digunakan untuk menghitung indeks kristalinitas relatif seperti ditunjukkan oleh anak panah. Difraksi sinar-X serbuk merupakan metode yang sangat berguna untuk menentukan adanya sifat amorf, polimorfisme atau modifikasi habit kristal pada padatan obat.

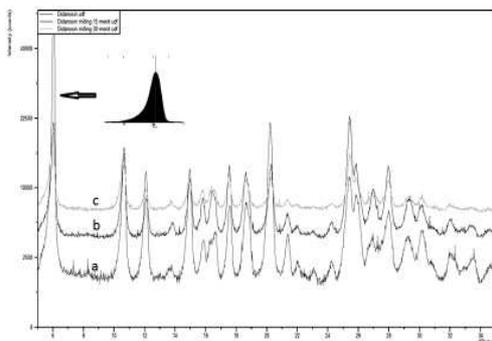
Umumnya untuk dua bentuk kristal, ketika pola difraksinya identik, maka keduanya memiliki struktur internal yang sama. Tetap bila pola difraksinya berbeda, maka kristal tersebut memiliki struktur internal kristal yang berbeda atau memiliki sifat polimorfisme [5]. Pada Gambar 2(b) dan Gambar 2(c) tidak terlihat adanya perubahan letak puncak-puncak *DDI* setelah mengalami

penggilingan selama 15 menit dan 30 menit. Tidak berubahnya letak puncak-puncak *DDI* tersebut menunjukkan tidak terjadi transformasi polimorfik dari *DDI* akibat penggilingan selama 15 menit dan 30 menit. Pemberian energi mekanik berupa penggilingan selama 15 dan 30 menit tidak mampu merubah struktur internal kristal *DDI*.

Dengan demikian dalam proses pembuatan sediaan farmasi melibatkan proses penggilingan *DDI* cukup stabil secara fisik. Namun adanya pemberian energi mekanik yang cukup berupa penggilingan ini menyebabkan terjadinya perubahan kristal *DDI* menjadi lebih amorf. Hal ini ditunjukkan dengan menurunnya intensitas puncak-puncak *DDI* setelah penggilingan 15 menit dan 30 menit. Intensitas puncak-puncak pada *DDI* yang digiling selama 30 menit lebih rendah daripada yang digiling selama 15 menit. Indeks kristalinitas relatif *DDI* setelah penggilingan selama 15 menit dan 30 menit berturut-turut adalah 40,8 % dan 30,4 %. Hal ini menunjukkan penggilingan selama 30 menit membuat *DDI* lebih amorf daripada penggilingan selama 15 menit.

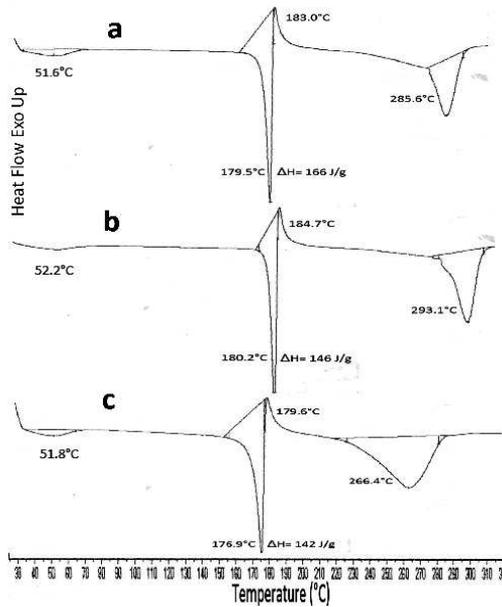
Selama proses peleburan, dibutuhkan energi tambahan untuk meleburkan suatu padatan kristal, sehingga menyebabkan peningkatan panas peleburan. Peningkatan panas peleburan ini ditandai dengan adanya transisi endotermik pada termogram *DSC*. Semakin kristalin suatu padatan, maka semakin besar energi yang dibutuhkan untuk meleburkan padatan tersebut. Termogram *DSC* *DDI* sebelum penggilingan pada Gambar 2(a) menunjukkan ada 2 puncak endotermik, yaitu pada suhu 179,5 °C yang merupakan titik lebur *DDI* dan suhu 285,6 °C. Satu puncak eksotermik muncul pada suhu 183 °C. Puncak eksotermik pada suhu 183 °C bukan disebabkan oleh terjadinya transformasi polimorfik *DDI*, tetapi disebabkan terurainya *DDI* menjadi kristal hipoksantin yang merupakan hasil degradasi utamanya. Hal ini ditunjukkan dengan adanya puncak endotermik kedua pada suhu 285,6 °C yang sesuai dengan titik lebur dari hipoksantin yaitu pada suhu di atas 250 °C [4]. Pada Gambar 2(b) dan Gambar 2(c), titik lebur *DDI* mengalami sedikit pergeseran menjadi 180,2 °C setelah digiling selama 15 menit dan menjadi 176,9 °C setelah digiling selama 30 menit. Walaupun terjadi perubahan titik lebur *DDI* setelah penggilingan, namun tidak menunjukkan adanya transformasi polimorfik *DDI*.

Puncak endotermik melebar pada ketiga Termogram *DSC* disekitar 51,6 °C hingga 52,2 °C disebabkan lepas molekul air dari *DDI*. Pada penelitian sebelumnya juga ditemukan kandungan air pada bahan baku *DDI* yang dijual di pasaran [8]. Panas peleburan (ΔH_f) *DDI* menurun dari 166 J/g menjadi 146 J/g dan 142 J/g setelah mengalami penggilingan selama 15 menit dan 30 menit. Panas peleburan yang menurun ini menunjukkan berkurangnya kristalinitas akibat penggilingan, sehingga energi panas yang dibutuhkan untuk meleburkan *DDI* menjadi lebih rendah. Hal ini dapat mengindikasikan adanya cacat kristal selama penggilingan [7].



Gambar 2. Difraktogram (a). didanosin sebelum penggilingan, (b). setelah penggilingan 15 menit dan (c). setelah penggilingan 30 menit

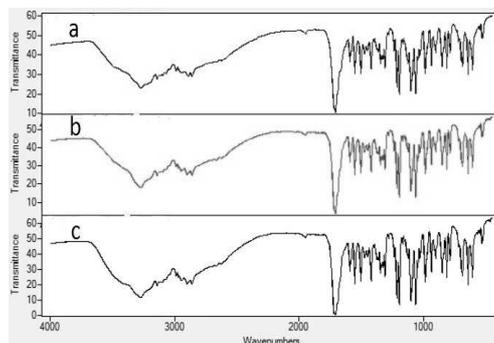
Pengaruh Penggilingan Terhadap Karakteristik Padatan Didanosin (Fikri Alatas)



Gambar 3. Termogram DSC (a). didanosin sebelum penggilingan, (b). setelah penggilingan selama 15 menit dan (c). setelah penggilingan selama 30 menit

Teknik yang umum juga digunakan untuk mengkarakterisasi perubahan polimorfik obat-obatan dan bahan tambahan adalah *FT-IR*. Teknik ini dapat mendeteksi perubahan struktur dengan melihat pergeseran bilangan gelombang spektrum pada gugus tertentu. Gambar 4 menunjukkan spektrum *FT-IR* DDI sebelum dan sesudah penggilingan selama 15 menit dan 30 menit. Tidak ada pergeseran gugus O-H pada 3000 cm^{-1} hingga 3500 cm^{-1} dan gugus lainnya akibat penggilingan. Hal ini sesuai dengan hasil difraksi sinar-X serbuk, yaitu tidak terjadinya perubahan struktur internal kristal atau transformasi polimorfik akibat penggilingan.

SEM dapat menunjukkan secara morfologi adanya cacat kristal akibat penggilingan. Penggilingan padatan kristal mungkin dapat menurunkan kristalinitas dan membentuk bagian yang tidak beraturan pada permukaan. Bagian tidak beraturan yang terdapat di permukaan partikel ini memiliki karakteristik amorf [17].

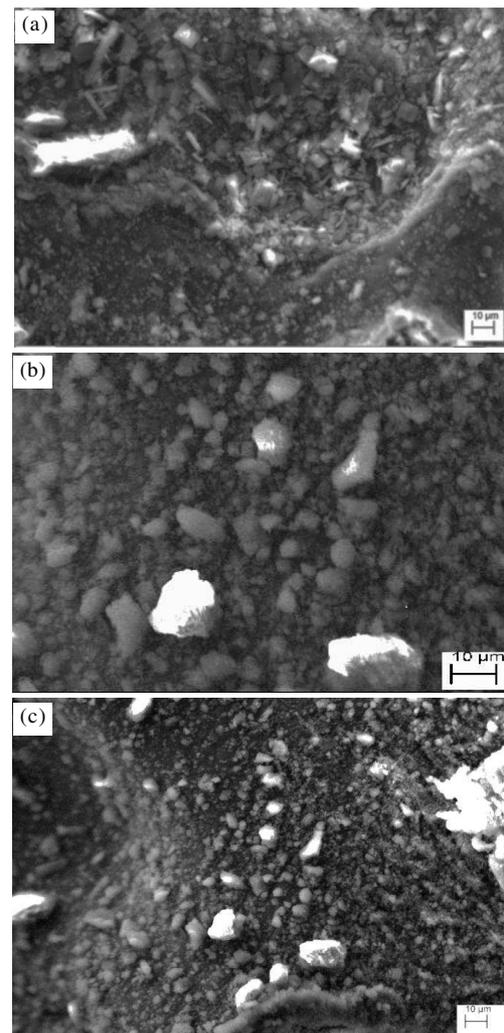


Gambar 4. Spektrum *FT-IR* (a). didanosin sebelum penggilingan, (b). penggilingan 15 menit dan (c). penggilingan 30 menit

Bila energi yang diberikan cukup untuk mengatasi energi penghalang terjadinya kristalisasi, maka hasil penggilingan akan menghasilkan sifat yang berbeda, seperti sifat aliran dan terjadi pembentukan agregat. Mikrograf *SEM* DDI sebelum dan sesudah penggilingan selama 15 menit dan 30 menit pada perbesaran 500x berturut turut ditunjukkan pada Gambar 5(a), Gambar 5(b) dan Gambar 5(c).

Gambar 5(a) menunjukkan DDI berbentuk kristal tabular seperti yang ditunjukkan anak panah. Penggilingan selama 15 menit (Gambar 5(b)) menunjukkan terjadinya cacat kristal DDI, dimana terjadinya perubahan bentuk kristal menjadi bentuk yang tidak beraturan seperti ditunjukkan anak panah. Partikel-partikel yang lebih besar menunjukkan adanya pembentukan agregat akibat banyaknya bagian amorf pada permukaan partikel.

Pada Gambar 5(c) hasil penggilingan selama 30 menit menunjukkan hal yang sama dengan penggilingan selama 15 menit. Pembentukan agregat yang besar akibat penggilingan selama 15 menit dan



Gambar 5. Fotomikrograf *SEM* (a). didanosin sebelum penggilingan, (b). penggilingan 15 menit dan (c). penggilingan 30 menit

Tabel 1. Kelarutan DDI dalam air

Bahan	Kelarutan (mg/mL)
DDI sebelum penggilingan	24,83±0,73
DDI setelah penggilingan selama 15 menit	30,25±0,18
DDI setelah penggilingan selama 30 menit	33,76±0,33

n= 3

30 menit ini disebabkan adanya air pada permukaan bahan baku DDI. Pada perbesaran 500x tidak dapat menunjukkan adanya perbedaan morfologi antara penggilingan selama 15 menit dan 30 menit.

Kristalinitas suatu padatan akan mempengaruhi kelarutannya dalam air. Bentuk amorf memiliki kelarutan yang lebih tinggi daripada bentuk kristalin. Untuk melihat perubahan sifat fisikokimia akibat penggilingan dilakukan pengujian kelarutan dalam pelarut air. Kadar DDI terlarut ditentukan secara spektrofotometri *Ultra Violet* pada panjang gelombang serapan maksimum 249,1 nm. Hasil pengujian menunjukkan terjadi peningkatan secara signifikan kelarutan DDI setelah dilakukan penggilingan. Peningkatan kelarutan DDI ini disebabkan adanya perubahan sebagian bentuk kristal menjadi amorf. DDI yang mengalami penggilingan selama 30 menit menunjukkan kelarutan lebih tinggi daripada yang mengalami penggilingan selama 15 menit. Hal ini disebabkan pada penggilingan selama 30 menit menurunkan kristalinitas DDI lebih besar daripada penggilingan selama 15 menit. Kelarutan DDI sebelum dan sesudah penggilingan selama 15 menit dan 30 menit selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 1.

KESIMPULAN

Penggilingan terhadap padatan didanosin selama 15 menit dan 30 menit tidak menyebabkan terjadinya perubahan polimorfik. Penggilingan selama 15 menit dan 30 menit menyebabkan sebagian kristal berubah menjadi amorf yang ditunjukkan dengan menurunnya Indeks kristalinitas relatif DDI. Indeks kristalinitas relatif DDI yang digiling selama 30 menit lebih rendah daripada yang digiling selama 15 menit. Menurunnya indeks kristalinitas relatif DDI ini menyebabkan kelarutan DDI dalam air lebih tinggi daripada sebelum digiling. DDI yang digiling selama 30 menit memiliki kelarutan lebih besar daripada yang digiling selama 15 menit. Dengan demikian dalam proses pembuatan sediaan farmasi melibatkan proses penggilingan DDI selama 30 menit dapat meningkatkan kelarutannya, tanpa menyebabkan perubahan polimorfik.

UCAPAN TERIMAKASIH

Kami mengucapkan terimakasih kepada Bapak Agung Kisworo (Unit Riset dan Pengembangan

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

DAFTAR ACUAN

- [1]. R. M. ATKINSON, C. BEDORD, K. J. CHILD, E. J. TOMICH, *Nature*, **193** (1962) 588-589
- [2]. BETTINI R, MENABENI R, TOZZI R, PRANZO MB, PASQUALI, CHEROTTIMR and GOBETTO R, PELLEGRINO L., *J. Pharm. Sci.*, **99** (2010) 1855-1870
- [3]. H. G. BRITAIN and E. F. FIESE, *Effects of Pharmaceutical Processing on Drug Polymorphs and Solvates*, In *Polymorphism in Pharmaceutical Solids*, Marcel Dekker, (1999) 331-361
- [4]. S. BUDAVARI, *The Merck Index: An Encyclopedia of Chemicals, Drugs and Biologicals 14th ed.*, Merck and Co, (2006) 4869
- [5]. S. R. BYRN, R. R. PFEIFFER and J. G. STOWELL, *Solid-State Chemistry of Drugs*, SSCI, Inc., West Lafayette, (1999)
- [6]. J. T. CARSTENSEN, *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **14** (1988) 1927-1969
- [7]. V. CHIKHALIA, R.T. FORBES, R. A. STOREY and M. TICEHURST, *Eur. J. Pharm. Sci.*, **27**(1) (2006) 19-26,
- [8]. FELIPE T. M., ALEXANDRE O. L., SARA B. H., ALEJANDRO P. A., ANTONIO C. D. and JAVIER E., *Cryst. Growth Des.*, **10** (2010) 1885-1891
- [9]. I. KRYCER and J. A. HERSEY, *Powder Technol.*, **27** (2), (1980) 137-141,
- [10]. T. MATSUMOTO, N. KANENIWA, S. HIGUCHI and M. OTSUKA, *J. Pharm. Pharmacol.*, **43** (1991) 74-78
- [11]. K. R. MORRIS, U. J. GRIESSER, C. J. ECKHARDT and J. G. STOWELL, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **48** (2001) 91-114
- [12]. P. Mura, M. Cirri, M. T. FAUCCI, J. M. GINE`S-DORADO and G. P. BETTINETTi, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **30** (2002) 227-237
- [13]. F. S. MURAKAMI, K. L. LANG, C. MENDES, A. P. CRUZ, M. A. S. C. FILHO and M. A. S. SILVA, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **49**(1) (2009) 72-80
- [14]. M. N. NASSAR, T. CHEN, M. J. REFF and S. N. AGHARKAR, *Didanosine, In Analytical Profiles Drug Substances and Excipients*, Elsevier, San Diego, **22** (1991) 185-227,
- [15]. L. F. PRESCOTT, R. F. STEEL and W. R. FERRIER, *Clin. Pharmacol. Ther.*, **11** (1970) 496-504
- [16]. S. N. SOEWANDHI, A. RULYAQIEN and R. ANDARDINI, *J. Sains Tek. Far.*, **12** (2007)
- [17]. G. H. WARD and R. K. SCHULTZ, *Pharm. Res.*, **12** (5) (1995) 773-779
- [18]. P. YORK, *Int. J. Pharm.*, **14** (1983) 1-28