



PREPARASI DAN KARAKTERISASI POLIMORFISME OBAT ANTI MALARIA ARTESUNATE

Timbul Partogi H., Sundani N. Soewandhi, Jessie S. Pamudji dan Wikarsa Saleh

Sekolah Farmasi - Institut Teknologi Bandung

Jl. Ganेशha 10, Bandung

e-mail: tphsimorangkirsimon@gmail.com

Diterima: 29 Mei 2013

Diperbaiki: 27 September 2013

Disetujui: 22 November 2013

ABSTRAK

PREPARASIDAN KARAKTERISASI POLIMORFISME OBAT ANTIMALARIA ARTESUNATE. Artesunate (AS) adalah derivat semisintetis dari Artemisinin, suatu obat anti malaria dari tumbuhan *Artemisia annua* yang terdiri atas struktur seskuiterpen endoperoksida. AS merupakan derivat artemisinin yang paling banyak digunakan sebagai obat antimalaria untuk menggantikan banyak obat malaria lain yang telah resisten terhadap malaria falsiparum. Khusus untuk AS, belum banyak studi yang dilakukan maupun literatur yang tersedia untuk mempelajari keadaan padatan (*solid state*) dan khususnya keberadaan polimorfisme dari AS. Polimorfisme dari suatu padatan memiliki fasa kristalin yang berbeda dalam susunan kisi kristal internalnya. Perbedaan kisi kristal (polimorfisme maupun pseudopolimorfisme) ini dalam bidang farmasi akan memberikan pengaruh terhadap ketersediaan hayati obat dan khasiat penggunaan obat secara klinis. Tujuan penelitian ini adalah untuk memperoleh dan mengamati perbedaan polimorfisme AS serta mengkarakterisasinya dengan analisis *PXRD*, *IR* dan *DTA*. Untuk lebih memperkuat hasil analisis, dilakukan juga cara mikroskopik baik dengan *Hot Stage Microscopy (HSM)* maupun dengan *Scanning Electron Microscope (SEM)*. Hasil penelitian menunjukkan keberadaan dua bentuk polimorf yang berbeda dari obat antimalaria AS. Bentuk I merupakan bentuk komersial dari AS yang biasa digunakan sebagai bahan baku obat dan bentuk II diperoleh dari perlakuan bentuk I yang mengalami proses *freeze drying*.

Kata kunci: Artesunate, Polimorfisme, Anti Malaria, Padatan, *Freeze Drying*

ABSTRACT

PREPARATION AND CHARACTERIZATION OF ARTESUNATE (ANTI MALARIAL DRUG) POLYMORPHISM. Artesunate (AS) is a semisynthetic derivative of Artemisinin, an antimalarial drug from the plant *Artemisia annua* which consist of endoperoxide in the sesquiterpene structure. AS is the most widely used as an antimalarial drug to replace many other antimalarials which resistant to falciparum malaria. Especially for the AS, not many studies and literatures available conducted to study the solid state and the presence of polymorphisms of the AS. Polymorphism of the solids have different crystalline phases in the internal crystal lattice arrangement. Crystal lattice differences (polymorphisms or pseudopolimorfisme) in the field of pharmacy would give effect to the drug bioavailability and clinical efficacy of drug. The purpose of this study was to obtain and observe the differences of AS and characterize the polymorphism with *PXRD*, *IR* and *DTA* analysis. To further strengthen analysis, the microscopic *Hot Stage Microscopy (HSM)* and the *Scanning Electron Microscopic (SEM)* have carried out. The results showed the existence of two different polymorph forms of AS. Form I is a commercial form of AS which is used as raw material for medicine and form II is obtained from the first form of treatment which is undergoing a process of *freeze drying*.

Keywords: Artesunate, Polymorphism, Anti Malarial, Solid State, *Freeze Drying*

PENDAHULUAN

Polimorfisme adalah kristalisasi dari senyawa yang sama di lebih dari satu arsitektur kristal yang berbeda dan berhubungan dengan pengaturan kemasan kristal yang berbeda, fenomena ini sangat umum di bidang farmasi. Karena memiliki struktur kristal yang berbeda, maka polimorf memiliki sifat fisikokimia, titik leleh reaktivitas kimia, laju

pelarutan dan bioavailabilitas yang berbeda. Polimorfisme obat dapat memiliki pengaruh yang signifikan terhadap khasiat terapeutik terutama ketika laju disolusi adalah tahap penentu laju penyerapan dalam saluran pencernaan. Setiap variasi dalam kelarutan, disolusi, kerapatan, sifat alir dan bentuk kristal dapat mempengaruhi penyerapan dan pada akhirnya bioavailabilitas obat. Beberapa metode yang dapat dipergunakan untuk pembentukan polimorf

suatu padatan obat adalah dengan menggunakan teknik kristalisasi dengan pelarut, desolvasi, kontak dengan uap pelarut, beku kering (*freeze drying*), peleburan (*melting*), pemanasan (*heating*), sublimasi, penggilingan (*milling*), pengendapan (*precipitation*), pendinginan cepat (*quenching cooling*), *slurry*, granulasi basah (*wet granulation*), *spray drying*, *solid dispersion* [1].

Artemisinin adalah obat antimalaria yang diisolasi dari tanaman *Artemisia annua*, merupakan golongan seskuiterpen lakton yang memiliki jembatan endoperoksida dan saat ini direkomendasikan untuk pengobatan akut malaria yang disebabkan oleh *Plasmodium falciparum artemisinin* sebelumnya telah dilaporkan tidak larut dalam air dan minyak, tetapi larut dalam pelarut organik yang paling sesuai [2,3]. Konfigurasi absolut *artemisinin* ditentukan oleh para ilmuwan Cina dengan menggunakan analisis difraksi sinar-X pada kristal hasil rekristalisasi dengan 50% etanol berair dan menghasilkan kristal dengan bentuk orthorhombik [2]. Sampai sekarang, belum ditemukan bentukkristal artemisinin lainnya meskipun dilakukan rekristalisasi dengan berbagai pelarut [2,3].

Artesunate (AS) merupakan derivat semisintetis dari Artemisinin dalam bentuk ester hemisuksinat dengan metabolit aktifnya adalah DHA (dihydroartemisinin). AS memiliki kelarutan dalam air yang lebih baik dibandingkan dengan derivat Artemisinin yang lain sehingga paling banyak tersedia dan banyak digunakan Obat ini telah menjadi komponen penting dari pengobatan malaria yang disebabkan oleh *Plasmodium falciparum*, dimana banyak obat malaria lain telah menjadi resisten. AS digunakan secara luas di Asia Tenggara dimana ditemukan resistensi terhadap banyak antimalaria standar [4,5].

Beberapa metode yang dapat digunakan untuk mengkarakterisasi adanya polimorfisme adalah dengan metode kristalografi *Powder X Ray Diffraction (PXR)*, analisis termal (*Differential Thermal Analysis (DTA)*, *Differential Scanning Calorimetry (DSC)*), metode spektroskopi (*IR*, *NMR*, *Raman*) dan metode mikroskopik *Hot Stage Microscope (HSM)*, *Scanning Electron Microscopy (SEM)*. Analisis difraksi sinar-X sangat bermanfaat untuk menentukan adanya fasa amorf, perubahan polimorf dan modifikasi habit kristal. X-Ray kristal tunggal (*X-ray single crystal*) memberikan bukti struktur terbaik untuk menentukan adanya polimorfisme, namun persyaratan sampel yang ketat dapat membatasi aplikasinya. Alternatif lain yang lebih mudah dilakukan adalah dengan menggunakan teknik *PXR*. Difraksi sinar-X serbuk merupakan metode yang handal untuk mengkarakterisasi zat padat dalam menentukan terbentuknya polimorf. Jika terbentuk fasa kristalin baru, maka akan teramati secara nyata dari difraktogram sinar-X yang berbeda. Analisa termal mempelajari aspek-

aspek struktur, dinamika dan energi dalam keadaan padat. Analisa termal membedakan polimorf melalui sifat termodinamika dan memberikan stabilitas hubungan antara polimorf tetapi tidak dengan sendirinya memberikan bukti yang cukup adanya polimorfisme sehingga penting menerapkan teknik lain untuk menganalisis fenomena polimorfisme ini dengan benar Analisis spektrofotometer *FT-inframerah* bermanfaat untuk mengkarakterisasi terjadinya kompleks antara dua senyawa dalam keadaan padat yang dihubungkan melalui ikatan hidrogen. Mikroskop baik cahaya dan elektron dapat membedakan polimorf melalui sifat kristal optik dan morfologinya [6-11].

Tujuan penelitian ini adalah untuk memperoleh dan mengamati perbedaan polimorfisme AS serta mengkarakterisasinya dengan analisa *PXR*, *IR* dan *DTA*. Untuk lebih memperkuat hasil analisa, dilakukan juga cara mikroskopik baik dengan *Hot Stage Microscopy (HSM)* maupun dengan *Scanning Electron Microscopy (SEM)*.

METODE PERCOBAAN

Bahan

Artesunate dibeli dari Haryana, India dengan nomor bets AS/M-001/07-08. Pelarut methanol dan Chloroform dengan tingkat kemurnian *pro analysis* berasal dari Merck tanpa ada perlakuan pemurnian lagi.

Persiapan Sampel

Sampel AS (100 mg) dilarutkan dalam pelarut 1 mL metanol dan 1 mL CHCl_3 , kemudian masing-masing diuapkan pada suhu kamar. Kristal hasil penguapan diambil dan disimpan dalam desikator. Teknik beku kering (*freeze drying*) dilakukan terhadap 1 gram sampel AS yang disuspensikan dalam 50 mL air, kemudian disaring dan filtratnya dibekukeringkan dengan alat *Freeze Dryer*.

Analisis Difraksi Sinar-X Serbuk

Analisis difraksi sinar-X serbuk terhadap sampel dilakukan pada temperatur ruang dengan menggunakan difraktometer Rigaku Rint-2500. Kondisi pengukuran sebagai berikut : target logam Cu, filter $K\alpha$, voltase 40 kV, arus 40 mA, analisis dilakukan pada rentang 2 theta 5 - 35°. Sampel diletakkan pada sampel *holder* (kaca) dan diratakan untuk mencegah orientasi partikel selama penyiapan sampel.

Analisis *Differential Thermal Analysis*

Analisis termal terhadap terhadap AS dan AS yang direkristalisasi dilakukan pada suhu 50 - 250 °C dengan kecepatan pemanasan 10 °C/menit dengan menggunakan alat *DTA Mettler Toledo FP 85*.

Analisis Spektrofotometer FT-IR

Karakterisasi dengan menggunakan spektrofotometer *Fourier Transform Infra Red (FT-IR)* Jasco 4200, dilakukan terhadap AS dan AS yang direkrystalisasi dengan menggunakan metode pelet KBr. Spektra absorban *FT-IR* diukur pada bilangan gelombang 4000 - 450 cm^{-1} .

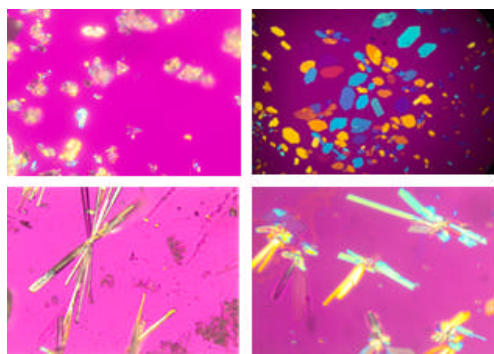
Analisis Scanning Electron Microscopy

Sampel serbuk diletakkan pada *sample holder* aluminium dan dilapisi dengan emas dengan ketebalan 10 nm. Sampel kemudian diamati pada berbagai perbesaran alat *SEM* (Jeol JSM-6360 LA, Japan) Voltase diatur pada 20 kV dan arus 12 mA.

Analisis Mikroskop polarisasi

Sejumlah sampel ditempatkan pada kaca obyek dan diamati dengan mikroskop polarisasi Olympus BX-50 yang dilengkapi dengan meja pemanas (*Hot Stage Microscope*) pada perbesaran tertentu.

HASIL DAN PEMBAHASAN

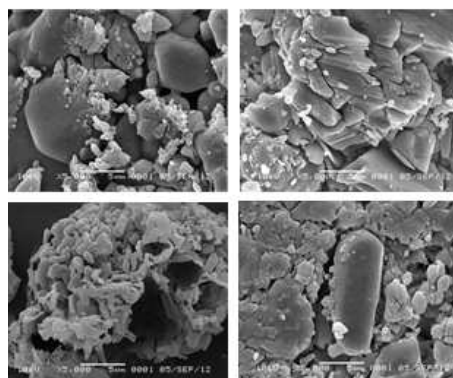


Gambar 1. Foto mikroskop polarisasi (perbesaran: 200 x), A) AS komersial, B) kristal AS dalam pelarut metanol, C) kristal AS hasil *Freeze Drying*, dan D) kristal AS dalam pelarut CHCl_3

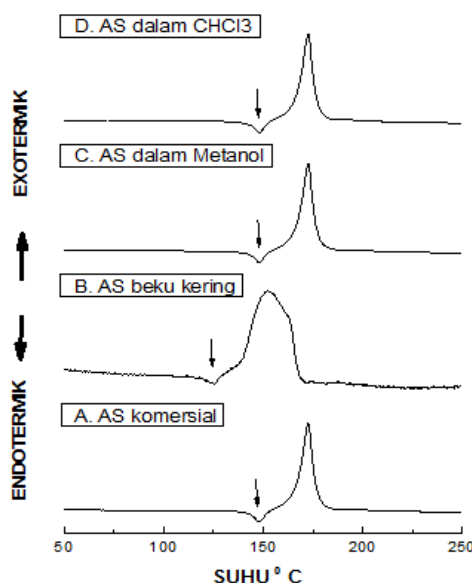
Gambar 1 menunjukkan hasil foto dengan mikroskop polarisasi yang menunjukkan perbedaan morfologi dari AS pada masing masing pelarut. Perbedaan morfologi ini belum bisa memastikan terjadinya perbedaan sifat polimorfisme, yang didefinisikan sebagai kemampuan suatu materi padat berada dalam dua atau lebih fasa kristalin, yang berbeda susunan dan konformasi molekul di dalam kisi kristal padatan. Oleh karena itu untuk dapat memastikan terjadinya polimorfisme, maka dilakukan analisa pendukung dengan *SEM*, *DTA*, *FTIR* dan *PXRD*.

Gambar 2 menunjukkan foto mikroskopik *SEM* dari AS dalam berbagai pelarut. Profil foto *SEM* AS yang dikrystalisasi dingin dengan air (beku kering) menunjukkan habit kristal yang berbeda dengan AS komersial. AS setelah perlakuan beku kering menunjukkan pola jarum, sedangkan AS komersial menunjukkan pola heksagonal. Foto *SEM* pada AS

yang direkrystalisasi dengan pelarut metanol dan CHCl_3 menunjukkan habit kristal yang sama dengan AS komersial (pola heksagonal).



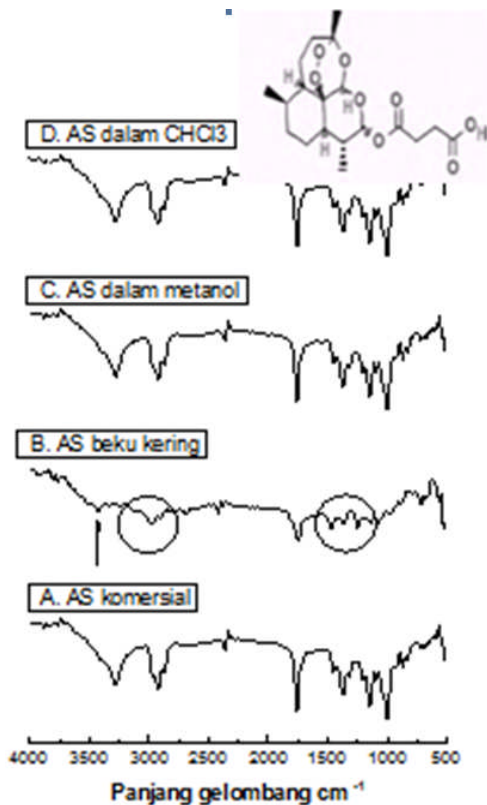
Gambar 2. Mikrofotograf *SEM* (perbesaran 5000 x) A) AS komersial, B) kristal AS dalam pelarut metanol C) kristal AS hasil *Freeze Drying* D) kristal AS dalam pelarut CHCl_3



Gambar 3. Termogram *DTA* A) AS komersial B) AS *Freeze Drying* C) kristal AS dalam metanol D) kristal AS dalam CHCl_3

Gambar 3 menunjukkan data termogram *DTA* dari AS dalam berbagai pelarut. Dari hasil karakterisasi dengan *DTA* menunjukkan bahwa puncak endotermik yang merupakan titik lebur dari kristal AS hasil beku kering memiliki titik lebur (TL) yang jauh lebih rendah (TL= 120,9 °C dan entalpi 21,6 J/g) dibandingkan dengan AS komersial (TL = 142,2 °C entalpi 69,7 J/g) maupun TL hasil rekrystalisasi AS dalam pelarut Metanol (141,2°C entalpi 58,8 J/g)) dan dalam CHCl_3 (142 °C entalpi 60,1 J/g). Puncak eksotermik pada AS komersial, hasil rekrystalisasi AS dalam metanol dan CHCl_3 pada suhu ± 170 °C menunjukkan adanya proses rekrystalisasi yang mirip, sedangkan kristal AS hasil beku kering menunjukkan puncak eksotermik pada

suhu $\pm 150^\circ\text{C}$. Secara termodinamika ini menunjukkan adanya perbedaan energi antara AS hasil kering beku dengan AS komersial maupun hasil rekristalisasi dalam metanol maupun CHCl_3 . Perbedaan secara termodinamika ini menunjukkan perbedaan sifat padatan dari kedua zat yang dikenal dengan sebutan polimorfisme. Senyawa AS komersial, hasil rekristalisasi AS dalam Metanol dan CHCl_3 merupakan polimorf bentuk I, sedangkan senyawa AS hasil beku kering merupakan polimorf bentuk II.

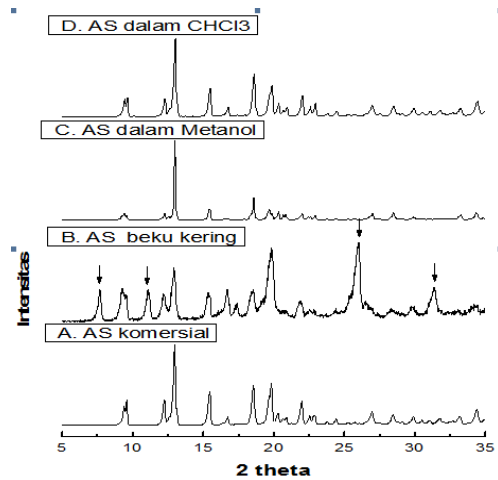


Gambar 4. Spektra FTIR A) AS komersial B) kristal AS beku kering C) kristal AS dalam CHCl_3 D) kristal AS dalam metanol.

Gambar 4 menunjukkan spektrum FTIR dari AS komersial dan rekristalisasi AS dalam berbagai pelarut. Secara umum, tidak terjadi perubahan pada posisi *finger print* $1000 - 1500\text{ cm}^{-1}$ baik pada AS komersial maupun AS setelah direkristalisasi dengan pelarut metanol, CHCl_3 maupun beku kering. AS komersial menunjukkan *finger print* yang sama dengan AS setelah rekristalisasi di 1006 (s) cm^{-1} (gugus OH), 1149 (s) cm^{-1} (gugus CO alifatis) dan 1376 (m) cm^{-1} (cincin eter). Spektrum FT-IR kristal AS dalam pelarut metanol dan CHCl_3 tidak menunjukkan adanya puncak maupun pergeseran spektrum yang baru. Hasil FT-IR kristal AS setelah beku kering menunjukkan karakteristik spektrum serapan pada area $3600 - 3300\text{ cm}^{-1}$ (OH fenolik). Hal ini mengindikasikan kehadiran molekul air dalam proses beku kering sehingga menyebabkan penurunan titik lebur AS secara bermakna. Hilangnya puncak pada $2900-2800\text{ cm}^{-1}$ (aldehid) dan adanya

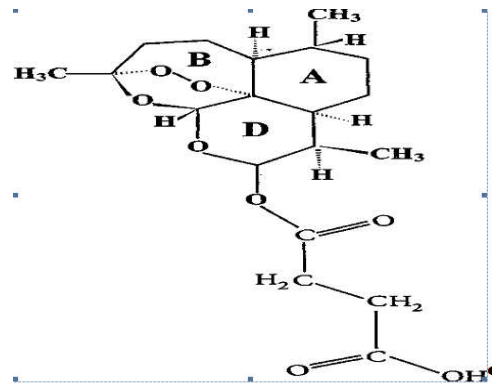
pergeseran kearah bilangan gelombang lebih besar pada $1600-1300\text{ cm}^{-1}$ (karboksilat), diakibatkan oleh vibrasi regangan dan tekukan (*stretching* dan *bending*) yang mengindikasikan terjadinya perubahan struktur kristal yang salah satunya dikenal dengan polimorfisme

Difraksi sinar-X serbuk merupakan metode yang sangat berguna untuk menentukan adanya sifat amorf, polimorfisme atau modifikasi habit kristal pada padatan obat [8,9].



Gambar 5. Pola difraksi sinar-X serbuk A) AS komersial, B) kristal AS beku kering, C) Kristal AS dalam metanol, dan D) kristal AS dalam CHCl_3

Gambar 5 menunjukkan difraktogram sinar-X AS komersial dan rekristalisasi AS dalam berbagai pelarut. Hasil karakterisasi kristal AS dengan *PXRD* menunjukkan adanya pergeseran profil difraksi sinar-X yang bermakna untuk kristalisasi dingin dalam pelarut air (teknik beku kering). Puncak utama AS komersial adalah pada 2θ : $9,51^\circ$; $12,74^\circ$; $15,57^\circ$; $18,59^\circ$ dan $19,89^\circ$. Munculnya puncak yang berbeda pada 2θ : $7,69^\circ$; $11,11^\circ$; $26,01^\circ$ dan $31,38^\circ$ mengindikasikan adanya perbedaan struktur kristal dari AS komersial dengan AS setelah mendapat perlakuan beku kering. Umumnya untuk dua bentuk kristal, ketika pola difraksinya identik, maka keduanya memiliki struktur internal yang sama. Tetapi bila pola difraksinya berbeda, maka kristal tersebut memiliki struktur internal kristal yang berbeda atau memiliki sifat polimorfisme [8,9,11].



Gambar 6. Rumus struktur Artesunate

Dari pustaka diperoleh data bahwa struktur kristal dan molekul AS adalah orthorombik $P212121$; $a = 9,8371(12) \text{ \AA}$; $b = 10,517(2) \text{ \AA}$; $c = 18,7594(5) \text{ \AA}$, $Z = 4$; $\rho_c = 1,316 \text{ mg/mL}$. Molekulnya tersusun atas cincin 6 atom karbon dengan jembatan Oksigen dan jembatan peroksi [12]. Sejauh ini belum diperoleh data *CSD (Cambridge Structural Database)* mengenai polimorf dari AS. Hanya dikenal satu bentuk kristal AS di pasaran, yaitu AS dengan struktur orthorombik.

Dari hasil difraktrogram *PXRD*, perbedaan difraktrogram antara AS dengan AS hasil beku kering (munculnya puncak baru pada 2θ : $7,69^\circ$; $11,11^\circ$; $26,01^\circ$ dan $31,38^\circ$ dapat mengindikasikan terbentuknya polimorf baru dari AS hasil beku kering. Gambaran foto mikroskop polarisasi dan foto *SEM* menunjukkan morfologi kristal yang berbeda antara AS dengan AS hasil beku kering. Untuk memastikan struktur kristal dari AS hasil beku kering, diperlukan alat sinar-X kristal tunggal yang keberadaan alatnya belum tersedia di Indonesia. Dari data analisis difraksi sinar-X kristal tunggal, dapat diperoleh bidang-bidang kristal struktur tiga dimensi materi padatan, sehingga jenis struktur kristalnya dapat dinyatakan dengan jelas.

Data termogram *DTA* menunjukkan perbedaan nilai entalpi dari AS ($TL = 142,2^\circ\text{C}$ entalpi $69,7 \text{ J/g}$) dengan AS hasil beku kering ($TL = 120,9^\circ\text{C}$ dan entalpi $21,6 \text{ J/g}$). Perbedaan titik lebur dan nilai entalpi ini menunjukkan perbedaan tingkat energi bebas masing-masing keadaan padat (*solid states*) yang mengindikasikan adanya polimorfisme dari *Artesunate*. Penurunan titik lebur ini mengindikasikan energi ikatan pada AS hasil beku kering lebih rendah dari AS, sehingga kelarutan AS hasil beku kering ($0,4001 \text{ mg/mL}$) lebih besar daripada AS ($0,2903 \text{ mg/mL}$). Nilai entalpi AS yang lebih besar menunjukkan tingkat energi bebasnya yang lebih rendah, sehingga AS merupakan polimorf yang lebih stabil dibandingkan dengan polimorf AS hasil beku kering. Proses terbentuknya konfigurasi polimorfisme AS ini secara teori melibatkan peristiwa dislokasi, rotasi maupun distorsi dari atom atom penyusunnya. Spektrogram IR menunjukkan hilangnya puncak pada $2900\text{-}2800 \text{ cm}^{-1}$ (aldehid) dan adanya pergeseran ke arah bilangan gelombang lebih besar pada $1600\text{-}1300 \text{ cm}^{-1}$ (karboksilat), diakibatkan oleh vibrasi regangan dan tekukan (*stretching* dan *bending*) yang mengindikasikan terjadinya perubahan struktur kristal yang salah satunya dikenal dengan polimorfisme. Metode *PXRD* yang didukung dengan beberapa metode analisa lainnya dapat dipergunakan untuk mengidentifikasi adanya polimorf dari AS hasil beku kering.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil analisa difraktrogram *PXRD* dan diperkuat dengan analisa termal (*DTA*), spektroskopi (*FT-IR*) dan foto *SEM* maupun mikroskop polarisasi, dapat disimpulkan bahwa senyawa

Artesunate (AS) mempunyai polimorf yang diperoleh dengan cara beku kering (*Freeze Drying*). Polimorf AS ini memiliki karakteristik bentuk jarum yang berbeda dengan AS komersial (bentuk heksagonal) dan memiliki TL yang lebih rendah dari AS komersial.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada laboratorium Teknologi Farmasi ITB, Laboratorium Kimia Analisa Farmasi ITB, pusat penelitian dan pengembangan ITS dan Pusat Penelitian dan Pengembangan Geologi Bandung.

DAFTAR ACUAN

- [1]. Harry G. Brittain, *Pharmaceutical Polymorphism in Solids second edition edited by Center for Pharmaceutical Physics Milford, New Jersey: USA Informa Healthcare USA, Inc. 52 Vanderbilt Avenue New York, NY 10017, 2009, pp.76 - 138.*
- [2]. Kit-lam chan, Kah-hay yuen et all, "Polymorphism of Artemisinin from *Artemisia annua*", *Phytochemistry*, vol. 46. No. 7, pp. 1209-1214, May 1997.
- [3]. P. Murambiwa, B. Masolab, T. Govender, S. Mukaratirwad, C.T. Musabayana "Antimalarial drug formulations and novel delivery systems: A review." *Acta Tropica*, vol. 118, pp. 71-79, Mar. 2011.
- [4]. Karen Gaudin, Marie-H'el'ene Langlois, Anne Barbauda, Chantal Boyer, Pascal Millet, Fawaz Fawaz, Jean-Pierre Dubost, "Stability of Artesunate in pharmaceutical solvents." *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, vol. 43, pp. 1019-1024, Nov. 2007.
- [5]. Richard K. Haynes Prof. Dr., "Artesunate and Dihydroartemisinin (DHA): Unusual Decomposition Products Formed under Mild Conditions and Comments on the Fitness of DHA as an Antimalarial Drug." *Chem. Med. Chem.*, vol. 2, pp. 1448-1463, Oct. 2007.
- [6]. Thekke Veetil Sreevidya and Badiadka Narayana "A Simple and Rapid Spectrophotometric Method for the Determination of Artesunate in Pharmaceuticals." *Eurasian Journal Analytical Chemistry*, vol. 4, pp. 119-126, Jan. 2009.
- [7]. Altonen J, Rantanen J, Siirä S, Karjalainen M, Jørgensen A, Laitinen N, Savolainen M, Seitavuopio P, Louhi-Kultanen M, Yliruusi J. "Polymorph screening using near-infrared spectroscopy." *Analytical Chemistry*, vol. 75, pp. 5267- 5273, Sept.2003.
- [8]. Manisha Tiwari, Garima Chawla, Arvind K. Bansal, "Quantification of olanzapine polymorphs using powder X-ray diffraction technique." *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, vol. 43, pp. 865-872, 2007.

- [9]. Neelima P. Vадnish, *et al*, "Identification of drugs in pharmaceutical dosage forms by X Ray Powder diffraction." *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, vol.15, pp. 929-943, April 1997.
- [10]. Bojidarka B. Koleva, "Polymorphs of Aspirin-Solid-state IR-LD spectroscopic and quantitative determination in solid mixtures." *Journal of Molecular Structure*, vol.800, pp. 23-27, Jan.2006.
- [11]. Mustapha Hajjou, Yanyan Qin1, Sanford Bradby, Daniel Bempong, Patrick Lukulay "Assessment of the performance of a handheld Raman device for potential use as a screening tool in evaluating medicines quality." *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, vol. 74, pp. 47-55, Oct. 2013.
- [12]. J.N. Lisgarten, B. Potter, R.A. Palmer, "Structure, absolute configuration, and conformation of the antimalarial drug Artesunate." *Journal of Chemical Crystallography*, vol. 32, pp. 43-48, Feb. 2002.

