

KARAKTERISTIK FISIKO-KIMIA SENYAWA BERTANDA ^{99m}Tc-KUERSETIN

Eva Maria Widyasari, Maula Eka Sriyani, Isti Daruwati, Iim Halimah, Witri Nuraeni

Pusat Sains dan Teknologi Nuklir Terapan, Jl. Tamansari No 71, Bandung, 40132
Email : evamaria@batan.go.id

Diterima : 15-02-2018
Diterima dalam bentuk revisi: 19-05-2018
Disetujui: 31-01-2019

ABSTRAK

KARAKTERISTIK FISIKO-KIMIA SENYAWA BERTANDA ^{99m}Tc-KUERSETIN.

Berkembangnya ilmu pengetahuan dan informasi di bidang kesehatan membuat masyarakat meyakini bahwa mengkonsumsi makanan yang kaya antioksidan penting untuk mencegah berbagai penyakit degeneratif seperti penyakit jantung dan kanker. Kuersetin merupakan senyawa *flavonoid* yang banyak ditemukan pada buah dan sayur yang memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat. Banyak penelitian yang telah membuktikan efektivitas kuersetin sebagai senyawa antikanker secara *in-vitro*, namun data pengujiannya secara *in-vivo* masih terbatas. ^{99m}Tc-kuersetin diharapkan dapat dijadikan *radiotracer* untuk mengetahui efektivitas senyawa kuersetin sebagai senyawa antikanker pada pengujian *in-vivo* menggunakan hewan percobaan. Namun sebelum dilakukan pengujian *in-vivo* untuk menjamin aplikasinya perlu dilakukan pengujian karakteristik fisiko-kimia sediaan ^{99m}Tc-kuersetin. Oleh karena itu tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui karakteristik fisiko-kimia dari senyawa ^{99m}Tc-kuersetin. Hasil penelitian karakteristik fisiko-kimia ^{99m}Tc-kuersetin menunjukkan bahwa kemurnian radiokimia sediaan ^{99m}Tc-kuersetin adalah $98,94 \pm 0,30\%$. Sediaan ^{99m}Tc-Kuersetin ini bermuatan netral, memiliki nilai lipofilisitas dengan $\log (P) = 0,62 \pm 0,05$ dan dapat berikatan kuat dengan plasma darah dengan persentase sebesar $95,06 \pm 1,34\%$. Berdasarkan nilai lipofilisitas sebesar $0,62 \pm 0,05$ diharapkan senyawa ini akan mudah terdistribusi kedalam jaringan organ sehingga diharapkan akan efektif sebagai senyawa bertanda penyidik kanker.

Kata kunci : ^{99m}Tc-kuersetin, karakteristik fisiko-kimia, antioksidan, antikanker, flavonoid

ABSTRACT

PHYSICO-CHEMICAL CHARACTERISTIC OF LABELED COMPOUND ^{99m}Tc-QUERCETIN.

The science and information development in the field of health makes people believe that consumption foods with rich in antioxidants is importance to prevent various degenerative diseases such as heart disease and cancer. Quercetin is a flavonoid compound found in many fruits and vegetables that have very strong antioxidant activity. Many *in-vitro* studies have proven the effectiveness of quercetin as an anticancer compound, but the data from *in-vivo* study is still limited. ^{99m}Tc-quercetin is expected to be used as a radiotracer to determine the effectiveness of quercetin compounds as anticancer agent on *in-vivo* study using animal model. However, before doing *in-vivo* study to assure its application, it is necessary to determine the physico-chemical characteristics of ^{99m}Tc-quercetin. Therefore, the purpose of this study was to determine the physicochemical characteristics of the ^{99m}Tc-quercetin. The results of the physicochemical characteristics of ^{99m}Tc-quercetin showed that the radiochemical purity of ^{99m}Tc-quercetin preparation was $98.94 \pm 0.30\%$. The ^{99m}Tc-quercetin is neutral charge, has a lipophilic value with $\log (P) = 0.62 \pm 0.05$ and can strongly bind with blood plasma with a percentage of $95.06 \pm 1.34\%$. Based on the lipophilicity result of 0.62 ± 0.05 , this compound will be easily distributed into tissues and hope it will be effective as a labelled compound for cancer diagnostic.

Keywords: ^{99m}Tc-quercetin, physicochemical characteristic, antioxidant, anticancer, flavonoid

PENDAHULUAN

Pengobatan kanker pada umumnya adalah menggunakan cara medis seperti operasi, radiasi, kemoterapi, obat-obatan oral untuk menanggulangi rasa sakit dan kombinasi dari semuanya. Kelemahan dari cara medis ini diantaranya membutuhkan biaya yang tidak sedikit, rasa sakit yang harus dirasakan *pasca* operasi dan efek samping obat-obatan yang dikonsumsi seperti mual-mual, muntah, rambut rontok, dan rasa tidak nyaman lainnya pada tubuh (1). Hal ini mengakibatkan masyarakat mencoba untuk mencari alternatif pengobatan berbasis "*back to nature*" atau pengobatan dengan menggunakan bahan-bahan alam. Tingginya minat masyarakat pada penggunaan bahan-bahan alam untuk pengobatan menjadikan banyaknya penelitian yang mendukung penemuan dan pengembangan obat kanker berbasis bahan alam (2–4). Sangat disayangkan, masih sedikit bukti-bukti ilmiah yang menunjukkan jaminan keamanan dan efikasi obat-obat berbasis bahan alam dalam pengobatan penyakit.

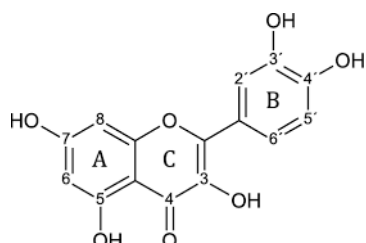
Saat ini senyawa antioksidan diyakini dapat mencegah penyakit kanker karena dapat menangkal partikel radikal bebas. BHA (*butylated hidroxy aniline*) dan BHT (*butylated hidroxy toluen*) merupakan antioksidan sintetik yang telah banyak digunakan pada berbagai produk makanan, namun karena diketahui memiliki efek samping salah satunya menyebabkan kerusakan di organ hati maka masyarakat lebih memilih mengkonsumsi antioksidan dari bahan alam seperti flavonoid, vitamin C dan beta karoten (5). Oleh karena itu

banyak penelitian yang dilakukan untuk mengeksplorasi bahan alam yang kaya akan antioksidan (6–10). Dengan diketahuinya berbagai sumber bahan alam yang kaya akan antioksidan dan didukung oleh pembuktian efikasinya maka sangat berpotensi untuk dikembangkan sebagai bahan baku obat.

Flavonoid merupakan senyawa fenolik alam yang memiliki potensi sebagai antioksidan. Aktivitas sebagai antioksidan dimiliki oleh sebagian besar flavonoid disebabkan struktur molekulnya mengandung gugus hidroksi fenolik. Ketika senyawa flavonoid bereaksi dengan radikal bebas, maka senyawa ini membentuk radikal baru yang distabilisasi oleh efek resonansi inti aromatik (anti radikal scavenging). Efektivitas senyawa dalam menangkap radikal bebas meningkat dengan adanya sistem orto-dihidroksi pada cincin B, ikatan rangkap pada C2 dan C3 yang terkonjugasi dengan gugus karbonil pada cincin C dan gugus hidroksi pada C3 dan C5 pada cincin A (11).

Kuersetin (Gambar 1) merupakan senyawa flavonoid yang banyak ditemukan pada sayuran dan buah-buahan. Selain memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat (12–14), kuersetin juga memiliki aktivitas biologi lainnya seperti antivirus (15,16), antibakteri (17,18), antiinflamasi (19,20), dan antikanker (21,22). Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa kuersetin memiliki aktivitas yang signifikan dalam menghambat beberapa sel kanker seperti kanker payudara, prostat, kolon dan paru-paru (21,23). Selain itu kuersetin juga memiliki kemampuan membentuk kompleks

dengan logam (*Chelator agent*) (11,24). Kemampuan sebagai khelator tersebut membuat kuersetin dapat ditandai dengan radioisotop teknesium-99m dengan kemurnian radiokimia yang tinggi (>90 %) (25). Uji biodistribusi ^{99m}Tc-kuersetin terhadap mencit yang dilakukan oleh Hosseinimehr dkk menunjukkan bahwa senyawa ^{99m}Tc-kuersetin potensial untuk mendeteksi jaringan organ yang mengandung radiakal bebas yang tinggi (26). Berdasarkan hal tersebut maka tujuan akhir dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efektivitas senyawa kuersetin sebagai senyawa antikanker dengan memanfaatkan senyawa bertanda ^{99m}Tc-kuersetin sebagai radiotracer dalam uji *in-vivo* terhadap hewan model kanker.



Gambar 1. Struktur kimia kuersetin (27)

Sebelum uji *in-vivo* dilakukan, harus diketahui karakteristik fisiko-kimia dari senyawa bertanda tersebut untuk menjamin aplikasinya pada saat pengujian. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui karakteristik fisiko-kimia dari senyawa bertanda ^{99m}Tc-kuersetin yang meliputi pH, mutan listrik, ikatan dengan protein plasma, lipofilisitas, pengaruh penambahan volume Na^{99m}TcO₄ dan stabilitas senyawa bertanda ^{99m}Tc-kuersetin.

TATAKERJA

Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi: kuersetin hidrat (Sigma Aldrich), tin(II) chloride/SnCl₂ (Wako), etanol (merck), aseton (Merck), natrium chloride fisiologis (IPHA), natrium hidroksida (Merck), asam klorida (Merck), aquabidest steril (IPHA), pH indicator universal (Merck), oktanol (Merck), TCA (Merck), serum darah manusia (PMI), generator ⁹⁹Mo/^{99m}Tc (Polatom), TLC-SG F₂₅₄ (Merck).

Sedangkan peralatan yang digunakan meliputi: dose calibrator (Victoreen), *vortex mixer*, single channel analyzer (Ortec), inkubator (Mermert), seperangkat alat kromatografi, seperangkat alat elektroforesis dan peralatan gelas.

Metode

Pembuatan senyawa bertanda ^{99m}Tc-kuersetin

Larutan kuersetin disiapkan dengan melarutkan kuersetin ke dalam etanol, sedangkan larutan SnCl₂ · 2H₂O dilarutkan ke dalam HCl 0,1 N. Kedua larutan ini selalu dibuat dalam keadaan segar dan dialiri dengan gas N₂ selama 10 menit.

Penandaan dilakukan dengan menambahkan 30 µl larutan SnCl₂ (1 mg/ 1 mL) ke dalam vial yang berisi 320 µl larutan kuersetin (0,5 mg/320 µl) dan 200 µl larutan dapar fosfat (0,2 M, pH 7,5). Kemudian pH campuran diatur menjadi 7,5 dengan penambahan NaOH 0,1 N dan volume campuran dibuat menjadi 600 µl dengan penambahan akuabidest. Setelah itu ditambahkan 400 µl (± 0,5 mCi) ^{99m}Tc-

perteknetat lalu dihomogenkan dan diinkubasi 5 menit pada temperatur ruang dan kemurnian radiokimianya ditentukan dengan metode kromatografi lapis tipis.

Penentuan kemurnian radiokimia ^{99m}Tc -kuersetin

Penentuan kemurnian radiokimia dilakukan dengan kromatografi lapis tipis menaik menggunakan plat TLC-SG F₂₅₄ (10 x 1 cm) sebagai fase diam dan NaCl sebagai fase gerak yang dapat memisahkan pengotor dalam bentuk ^{99m}Tc -perteknetat ($^{99m}\text{TcO}_4^-$) pada Rf = 1,0 (25), sedangkan untuk pengotor dalam bentuk ^{99m}Tc -tereduksi ($^{99m}\text{TcO}_2$) dipisahkan dengan menggunakan fase diam TLC-SG F₂₅₄ (10 x 1 cm) dengan fase gerak aseton pada Rf= 0,0. Kromatogram dikeringkan, dipotong-potong sepanjang 1 cm kemudian dicacah dengan alat *Single Channel Analyzer*.

Pengujian pH senyawa bertanda ^{99m}Tc -kuersetin

Diambil sedikit larutan senyawa bertanda ^{99m}Tc -kuersetin yang telah disiapkan dengan menggunakan syring kemudian diteteskan pada pH indikator universal, warna yang muncul dicocokkan dengan standar warna pada box pH lalu catat nilai pH.

Pengujian muatan listrik senyawa bertanda ^{99m}Tc -kuersetin

Muatan listrik dari senyawa bertanda ^{99m}Tc -kuersetin ditentukan dengan metode elektroforesis kertas dengan larutan dapar fosfat (0,2 M, pH 7,5) sebagai larutan elektrolit. Diambil sedikit larutan senyawa

bertanda ^{99m}Tc -kuersetin yang telah disiapkan dengan menggunakan syring kemudian diteteskan pada kertas whatman 1 (1 x 37 cm) diposisi 0 dimana kertas telah ditandai setiap 1 cm mulai dari -18 s.d. +18 (dibuat duplo). Sebagai kontrol dibuat juga untuk larutan ^{99m}Tc -perteknetat pada kertas whatman 1 yang lainnya. Kemudian, semua kertas whatman 1 yang telah ditetesi sampel atau kontrol dimasukkan ke dalam chamber elektroforesis dengan titik 0 pada posisi tengah. Pastikan ujung kertas angka negatif berada pada posisi katoda sedangkan ujung kertas angka positif berada pada posisi anoda. Kedua ujung kertas harus tercelup dalam larutan elektrolit, seluruh permukaan kertas dibasahi dengan larutan buffer lalu alat elektroforesis ditutup. Kemudian alat elektroforesis dinyalakan pada tegangan 350 volt selama 2 jam. Setelah selesai alat dimatikan dan seluruh kertas whatman 1 di angkat dan dikeringkan kemudian dipotong-potong sepanjang satu cm dan dicacah menggunakan alat SCA.

Pengujian lipofilisitas senyawa bertanda ^{99m}Tc -kuersetin

Metode ini didasarkan kepada koefisien partisi (P) senyawa kompleks tersebut dalam fase organik (n-oktanol) dan fase air (NaCl). Lipofilisitas dihitung sebagai log P yaitu perbandingan cacahan dalam fase oktanol dan fase air.

Pada tabung reaksi 5 ml yang telah berisi 1 mL larutan NaCl fisiologis (fraksi NaCl) dan 1 mL n-oktanol (fraksi oktanol), dimasukkan larutan senyawa bertanda ^{99m}Tc -kuersetin sebanyak 50 μL . Lalu, campuran dikocok dengan menggunakan

vortex mixer selama 1 menit dan disentrifugasi selama 15 menit. Setelah fraksi n-oktanol dan NaCl terpisah sempurna, masing-masing fraksi diambil sebanyak 5 μL dan diteteskan pada kertas kromatografi (1x1 cm), kemudian dicacah dengan alat pencacah saluran tunggal. Besarnya lipofilisitas dihitung dengan menggunakan rumus seperti Pers 1:

$$\log P = \log \frac{\text{cacahan fraksi oktanol}}{\text{cacahan fraksi NaCl}} \quad (1)$$

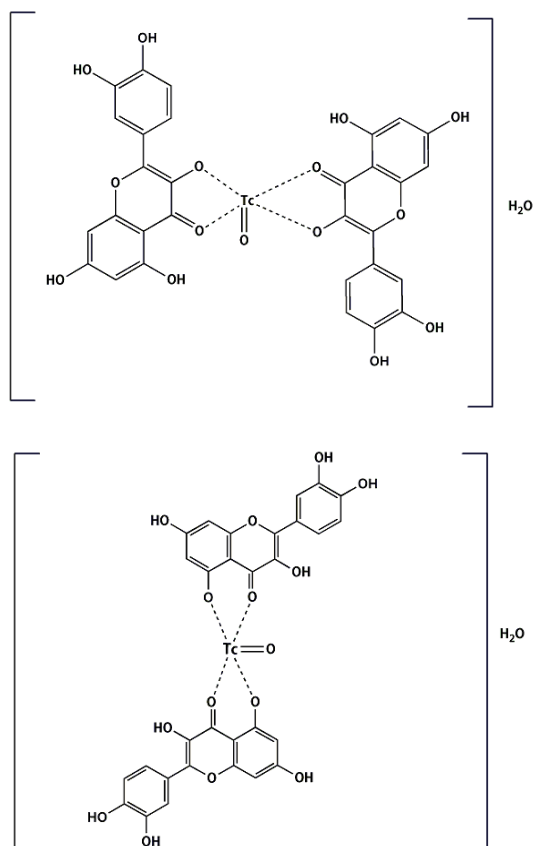
Pengujian ikatan protein plasma senyawa bertanda ^{99m}Tc -kuersetin

0,5 mL plasma darah manusia yang didapatkan dari PMI sesuai dengan prosedur yang berlaku, dimasukkan ke dalam tabung reaksi 5 mL, kemudian ditambahkan 50 μL senyawa bertanda ^{99m}Tc -kuersetin dan dikocok dengan *vortex mixer* selama 1 menit. Campuran diinkubasi pada inkubator 37 °C selama 15 menit. 1 mL TCA 5% ditambahkan ke dalam campuran, diaduk dengan *vortex mixer*, disentrifugasi selama 15 menit, selanjutnya endapan dan supernatant dipisahkan. Selanjutnya, ke dalam supernatant ditambahkan 1 mL larutan TCA 5% dan proses pengendapan serta pemisahan diulangi kembali seperti percobaan sebelumnya. Setelah itu fraksi endapan dicuci dengan 1 mL larutan NaCl fisiologis dengan mengocoknya dengan *vortex mixer*, disentrifugasi dan endapan dipisahkan dengan supernatant. Masing-masing fraksi dicacah dengan alat pencacah saluran tunggal. Besarnya ikatan protein plasma (%PB) dihitung seperti Pers 2:

$$\%PB = \frac{c. \text{endapan}}{c. (\text{endapan} + \text{supernatan})} \times 100\% \quad (2)$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Senyawa bertanda ^{99m}Tc -kuersetin (Gambar 2) telah berhasil dibuat dengan kemurnian radiokimia yang tinggi yaitu sebesar $98,94 \pm 0,30\%$. Secara visual sediaan ^{99m}Tc -kuersetin berwarna kuning, jernih, dan tidak mengandung bahan atau partikulat yang tidak larut atau melayang. Penentuan kemurnian radiokimia dilakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, senyawa kompleks ^{99m}Tc -kuersetin tidak bergerak dengan eluen NaCl fisiologis ($R_f=0,0$), sedangkan dengan eluen aseton senyawa kompleks akan bergerak keatas ($R_f=1,0$) (26). Hal ini terjadi atas dasar sifat kepolaran dari senyawa bertanda ^{99m}Tc -kuersetin. Senyawa kuersetin tidak larut dalam air sehingga ketika di elusi dengan eluen NaCl fisiologis maka senyawa ^{99m}Tc -kuersetin akan tetap berada di titik penotolan ($R_f=0$), sedangkan dengan eluen aseton senyawa ^{99m}Tc -kuersetin akan terbawa dan berada di $R_f=1$. Selain itu dilakukan pembuktian lain dengan melihat pendar senyawa di bawah lampu UV. Setelah kondisi sediaan ^{99m}Tc -kuersetin dipastikan secara visual tidak keruh dan kemurnian radiokimianya tinggi (>95 %) maka pengujian dilanjutkan untuk mengetahui karakter fisiko-kimia dari senyawa ^{99m}Tc -kuersetin.

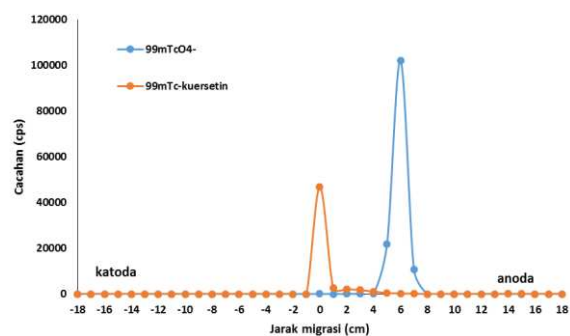


Gambar 2. Prediksi struktur kompleks ^{99m}Tc -kuersetin (24)

Derajat keasaman atau pH reaksi merupakan parameter penting yang perlu diperhatikan karena sangat berpengaruh terhadap kestabilan dan kelarutan senyawa tersebut (28). pH sediaan ^{99m}Tc -kuersetin ditentukan dengan menggunakan pH Indikator dan hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa pH sediaan adalah 7,5. pH 7,5 merupakan pH yang cukup ideal karena range pH yang dapat diterima untuk sediaan-sediaan yang akan diberikan secara intravena adalah 3 - 10,5 sedangkan untuk sediaan yang diberikan tidak secara intravena range pHnya adalah 4-9 (28).

Muatan listrik dari suatu senyawa akan berpengaruh pada distribusi senyawa tersebut dalam tubuh. Senyawa bermuatan

positif akan lebih mudah terakumulasi pada sel dibandingkan senyawa bermuatan negatif atau netral (29). Oleh karena itu, senyawa bermuatan positif akan banyak terakumulasi pada plasma darah dan proses ekskresinya juga cepat [22, 23]. Pengujian muatan listrik senyawa ^{99m}Tc -kuersetin ditentukan dengan menggunakan elektroferesis kertas terhadap dua sampel yaitu $^{99m}\text{TcO}_4^-$ (kontrol) dan ^{99m}Tc -kuersetin (Gambar 3). Dari gambar dua terlihat bahwa $^{99m}\text{TcO}_4^-$ bergerak ke anoda, hal ini sesuai karena senyawa $^{99m}\text{TcO}_4^-$ bermuatan negatif. Sedangkan senyawa ^{99m}Tc -kuersetin bermuatan netral karena tidak mengalami pergerakan dari tempat penotolan (titik 0). Sayangnya belum ada penelitian lain yang melakukan pengukuran muatan listrik dari senyawa bertanda ^{99m}Tc -kuersetin sebagai pembandingan.



Gambar 3. Grafik hasil elektroferesis kertas senyawa ^{99m}Tc -kuersetin

Karakter fisikokimia yang diuji berikutnya adalah lipofilisitas yang ditentukan dengan cara mengukur nilai koefisien partisinya (P). Penentuan nilai koefisien partisi suatu senyawa obat sangatlah penting untuk mengetahui cara kerja serta akumulasi obat tersebut ketika masuk ke dalam tubuh. Semakin tinggi nilai

koefisien partisi maka senyawa tersebut semakin mudah larut dalam lemak (lipofil) dan akan mudah menembus *membran* lipid. Namun jika semakin rendah nilai koefisien partisi maka senyawa tersebut semakin larut dalam air (hidrofil) dan akan mudah diekskresikan melalui ginjal. Standar yang digunakan untuk senyawa obat salah satunya adalah “aturan lima” yang diidentifikasi oleh Lipinski (30). Aturan itu salah satunya menyatakan bahwa untuk senyawa obat sebaiknya memiliki nilai lipofilisitas di bawah 5. Dari beberapa kali pengujian diketahui bahwa nilai log P dari senyawa ^{99m}Tc -kuersetin adalah $0,62 \pm 0,05$, nilai ini sedikit berbeda dengan nilai lipofilisitas yang dilakukan oleh Sayed et al yaitu $0,2 \pm 0,01$ (26). Walaupun berbeda namun keduanya menunjukkan bahwa senyawa ^{99m}Tc -kuersetin lebih banyak terdistribusi pada pelarut organik (oktanol) dibandingkan dalam pelarut air. Perbedaan terjadi dimungkinkan karena pengaruh temperatur lingkungan ketika dilakukan pengujian karena temperatur merupakan faktor yang sangat berpengaruh dalam kelarutan suatu senyawa (30).

Karakter berikutnya yang diuji adalah ikatan senyawa dengan protein plasma, hal ini dilakukan untuk sediaan yang akan diberikan secara intra-vena untuk mengetahui berapa banyak sediaan yang terikat dengan protein di dalam darah. Ikatan senyawa obat dengan plasma darah sangat berpengaruh pada distribusi senyawa tersebut pada jaringan serta waktu eliminasi senyawa dari jaringan. Hasil pengujian menunjukkan bahwa ikatan

senyawa bertanda ^{99m}Tc -kuersetin dengan protein plasma adalah $93,94 \pm 2,58\%$. Hal ini menunjukkan bahwa ^{99m}Tc -kuersetin memiliki daya ikat yang kuat dengan protein plasma sehingga waktu pembersihan senyawa tersebut dari darah (*blood clearance*) akan membutuhkan waktu yang relatif lama.

KESIMPULAN

Sediaan senyawa bertanda ^{99m}Tc -kuersetin berwarna kuning jernih dan memiliki kemurnian radiokimia sebesar $98,94 \pm 0,30\%$. pH sediaan mendekati pH darah yaitu 7, bermuatan netral, dan memiliki nilai lipofilisitas dengan $\log (P) = 0,62 \pm 0,05$. Senyawa bertanda ^{99m}Tc -kuersetin berikatan kuat dengan plasma darah dengan nilai persentase sebesar $95,06 \pm 1,34\%$. Dari penelitian ini diperoleh data fisiko-kimia yang dapat dijadikan acuan dalam penelitian in-vivo senyawa ^{99m}Tc -kuersetin berikutnya. Dari pengujian in-vivo nanti akan didapatkan gambaran menyeluruh tentang bioaktivitas senyawa ^{99m}Tc -kuersetin sebagai senyawa bertanda penyidik kanker.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada PSTNT-BATAN yang telah memberikan dana sehingga penelitian ini dapat terlaksana. Selain itu ucapan terimakasih juga disampaikan untuk Bapak Epy Isabela yang telah banyak membantu pelaksanaan kegiatan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Demirci U, Benekli M, Büyükberber S. Late Side Effects of Cancer Therapy. *Uluslararası Hematol Derg.* 2010;4(20):250–61.
2. Priya ML, PriyaK B, Subbaiah Kotakadi V. Herbal and Medicinal Plants Molecules Towards Treatment of Cancer: A Mini Review. *Am J Ethnomedicine.* 2015;2(2). 136-42
3. Safarzadeh E, Shotorbani SS, Baradaran B. Herbal medicine as inducers of apoptosis in cancer treatment. *Adv Pharm Bull.* 2014;4(SUPPL.1):421–7.
4. Umadevi M, Kumar KPS, Bhowmik D, Duraivel S. Traditionally Used Anticancer Herbs In India. *J Med Plants Stud.* 2013;1(3):56–74.
5. Gupta VK, Sharma SK. Plants as natural antioxidants. *Indian J Nat Prod Resour.* 2014;5(4):326–34.
6. Rhimou B. Antioxidant activity of Rhodophyceae extracts from Atlantic and Mediterranean Coasts of Morocco. *African J Plant Sci.* 2013;7(March):110–7.
7. White PAS, Oliveira RCM, Oliveira AP, Serafini MR, Araújo AAS, Gelain DP, et al. Antioxidant activity and mechanisms of action of natural compounds isolated from lichens: A systematic review. *Molecules.* 2014;19(9):14496–527.
8. Banjarnahor SDS, Artanti N. Antioxidant properties of flavonoids. *Med J Indones.* 2014;23(4):239–44.
9. Ajileye OO, Obuotor EM, Akinkunmi EO, Aderogba MA. Isolation and characterization of antioxidant and antimicrobial compounds from *Anacardium occidentale* L. (*Anacardiaceae*) leaf extract. *J King Saud Univ - Sci.* 2015;27(3):244–52.
10. Sharma V, Janmeda P. Extraction, isolation and identification of flavonoid from *Euphorbia neriifolia* leaves. *Arab J Chem.* 2017;10(4):509–14.
11. Procházková D, Boušová I, Wilhelmová N. Antioxidant and prooxidant properties of flavonoids. *Fitoterapia.* 2011;82(4):513–23.
12. Tatraaljai D, Foldes E, Pukanszky B. Efficient melt stabilization of polyethylene with quercetin, a flavonoid type natural antioxidant. *Polym Degrad Stab.* 2014;102(1):41–8.
13. Coballase-urrutia E, Pedraza-chaverri J, Cárdenas-rodríguez N, Huerta-gertrudis B, García-cruz ME, Montesinos-correa H, et al. Acetonic and Methanolic Extracts of *Heterotheca inuloides*, and Quercetin, Decrease CCl₄-Oxidative Stress in Several Rat Tissues. *Evidence-Based Complement Altern Med.* 2013;2013:1-13.
14. Maciel RM, Costa MM, Martins DB, França RT, Schmatz R, Graça DL, et al. Antioxidant and anti-inflammatory effects of quercetin in functional and morphological alterations in streptozotocin-induced diabetic rats. *Res Vet Sci.* 2013;95(2):389–97.
15. Johari J, Kianmehr A, Mustafa MR, Abubakar S, Zandi K. Antiviral activity of baicalein and quercetin against the Japanese encephalitis virus. *Int J Mol Sci.* 2012;13(12):16020–45.
16. Bachmetov L, Gal-Tanamy M, Shapira

- A, Vorobeychik M, Giterman-Galam T, Sathiyamoorthy P, et al. Suppression of hepatitis C virus by the flavonoid quercetin is mediated by inhibition of NS3 protease activity. *J Viral Hepat.* 2012;19(2):1–8.
17. Andrés S, Tejido ML, Bodas R, Morán L, Prieto N, Blanco C, et al. Quercetin dietary supplementation of fattening lambs at 0.2% rate reduces discolouration and microbial growth in meat during refrigerated storage. *Meat Sci.* 2013;93(2):207–12.
18. Božič M, Gorgieva S, Kokol V. Homogeneous and heterogeneous methods for laccase-mediated functionalization of chitosan by tannic acid and quercetin. *Carbohydr Polym.* 2012;89(3):854–64.
19. Anhê GF, Okamoto MM, Kinote A, Sollon C, Lellis-Santos C, Anhê FF, et al. Quercetin decreases inflammatory response and increases insulin action in skeletal muscle of ob/ob mice and in L6 myotubes. *Eur J Pharmacol.* 2012;689(1–3):285–93.
20. Lin CF, Leu YL, Al-Suwayeh SA, Ku MC, Hwang TL, Fang JY. Anti-inflammatory activity and percutaneous absorption of quercetin and its polymethoxylated compound and glycosides: The relationships to chemical structures. *Eur J Pharm Sci.* 2012;47(5):857–64.
21. Baghel SS, Shrivastava N, Baghel RS. A review of quercetin: Antioxidant and anticancer properties. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences.* 2016;1(1):146-60.
22. Dajas F. Life or death: Neuroprotective and anticancer effects of quercetin. *J Ethnopharmacol.* 2012;143(2):383–96.
23. Smith AJ, Oertle J, Warren D, Prato D. Quercetin: A Promising Flavonoid with a Dynamic Ability to Treat Various Diseases, Infections, and Cancers. *J Cancer Ther.* 2016;7(7):83–95.
24. Kautsar AM, Widyasari EM, Sriyani ME. Tinjauan struktur kimia kuersetin bertanda teknesium-99m sebagai radiofarmaka pencitra tumor. *Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi Nuklir 2015.* Bandung, 2015;
25. Kowalsky RJ.; Falen SW. *Radiopharmaceuticals in Nuclear Pharmacy and Nuclear Medicine*, 2 Ed. Washington DC: American Pharmacists Association; 2004.
26. Hosseinimehr SJ, Ahmadi A, Taghvai R. Preparation and biodistribution study of technetium-99m-labeled quercetin as a potential radical scavenging agent. *J Radioanal Nucl Chem.* 2010;284(3):563–6.
27. Furia E, Marino T, Russo N. Insight into the coordination mode of quercetin with the Al(III) ion from a combined experimental and theoretical study. *Dalt Trans.* 2014;43(19):7269-74
28. Lund W. *The Pharmaceutical Codex- Principle and practice of pharmaceuticals* 12th ed. London: The Pharmaceutical Press; 1994.
29. Alexis F, Pridgen E, Molnar LK, Farokhzad OC. Factors affecting the clearance and biodistribution of

- polymeric nanoparticles. *Mol Pharm.* 2008;5(4):505–15.
30. Lipinski CA, Lombardo F, Dominy BW, Feeney PJ. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv Drug Deliv Rev.* 2001;46(1–3):3–26.