

Radioiodinasi andrografolid dan biodistribusinya dalam mencit untuk perunut inflamasi

Radioiodination of andrographolide and its biodistribution in mice for inflammatory tracer

Jutti Levita^{1,2*}, Cahya Nova A³, As'ari Nawawi², Abdul Mutalib³ dan Slamet Ibrahim²

¹ Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran, Bandung

² Sekolah Farmasi, Institut Teknologi Bandung

³ Pusat Radioisotop dan Radiofarmaka, BATAN, Serpong

Abstrak

Andrografolid adalah senyawa aktif dari *Andrographis paniculata* (Burm.F) Nees dan merupakan konstituen utama yang berbentuk lakton diterpenoid bisiklik. Senyawa ini telah diteliti memiliki aktivitas anti-inflamasi secara *in vitro* yang terjadi melalui berbagai jalur, yaitu melalui inhibisi ekspresi protein *inducible nitric oxide synthase* (iNOS), inhibisi produksi radikal oksigen, dan inhibisi aktivasi NF-kappaB. Untuk mengetahui apakah senyawa obat telah menempati targetnya dan di lokasi mana target kerja obat tersebut, diperlukan senyawa *tracer* (perunut), yaitu senyawa obat yang ditandai dengan radionuklida. Berdasarkan hal tersebut, maka dilakukan penelitian tentang radioiodinasi andrografolid dengan ¹³¹I dan uji biodistribusinya dalam mencit dengan tujuan untuk mengetahui lokasi target kerja andrografolid *in vivo*. Radioiodinasi dilakukan secara tidak langsung, menggunakan brom cair sebagai *leaving group*, dilanjutkan dengan iodinasi secara cepat pada suhu 40 °C, menghasilkan andrografolid-¹³¹I dengan rendemen penandaan 72,6 %. Iodinasi terjadi melalui substitusi proton pada C-12. Uji biodistribusi pada mencit yang diinduksi lipopolisakarida memperlihatkan bahwa senyawa ini terdistribusi di semua organ, dan akumulasi tertinggi terjadi di lambung sebesar 16,9%/gram organ. Data ini menunjukkan bahwa induksi dengan lipopolisakarida menyebabkan terjadinya inflamasi di lambung dan menyebabkan terjadi peningkatan produksi prostaglandin, sehingga radioligan andrografolid-¹³¹I terakumulasi di dalam organ tersebut.

Kata kunci: andrografolid, radioiodinasi, anti-inflamasi, biodistribusi

Abstract

Andrographolide, a bioactive component of *Andrographis paniculata* (Burm.F) Nees, is the major lactone diterpenoidal bicyclic constituent in this plant which has proven to exert anti-inflammatory activity *in vitro* which was occurred *via* several mechanism, e.g inhibition of inducible nitric oxide synthase (iNOS), inhibition of radical oxygen species, and inhibition of NF-kappaB activation. The labeling with radionuclide is often used for therapy, detection and quantification of metabolites in the body. Even though the metabolites are very low in concentration they can be detected by the energy they emitted. Radionuclide can be used as radiotracer to detect whether drug really interacts with its target. The objective of this research is to synthesize ¹³¹I-labelled andrographolide and to study its biodistribution in mice to understand the location of its organ target. Indirect radioiodination of andrographolide was carried out by using bromine as the leaving group and followed by fast iodination at 40 °C, yielded 72.6 % purity of the labeled compound. Iodination was occurred through proton substitution at C-12. Then the andrographolide-¹³¹I was injected into lateral vein of mice's tail to study its biodistribution. The compound was distributed in all organs with the highest accumulation occurred

in the stomach (16.87 %/gram organ). The result showed that inducing the animals with LPS caused inflammation in the stomach and increased the production of prostaglandin as proven by the distribution of the radioligand in that organ.

Key words: andrographolide, radioiodination, anti-inflammatory, biodistribution

Pendahuluan

Inflamasi merupakan respon tubuh karena adanya luka mekanik, terbakar, infeksi mikroba, dan stimulus lainnya yang mencederai tubuh. Proses ini dapat meliputi perubahan pada aliran darah, kerusakan jaringan, serta pembentukan mediator inflamasi, yaitu prostaglandin, leukotrien, dan *platelet-activating factor* yang dikatalisis oleh fosfolipase A2 (PLA₂), siklooksigenase, dan lipooksigenase (Wiart, 2006). Salah satu jalur mekanisme terjadinya inflamasi adalah karena terjadinya ekspresi enzim siklooksigenase. Enzim siklooksigenase berperan dalam biosintesis prostaglandin. COX-2 terekspresi setelah terjadi induksi oleh sitokin, kemokin, stress oksidatif, dan karsinogen. Pada inflamasi kronik level COX-2 meningkat sebanding dengan adanya produksi prostaglandin berlebih dalam sel dan jaringan (Fabiola, *et al.*, 2001).

Untuk mengetahui apakah senyawa obat telah menempati targetnya dan di lokasi mana target kerja obat tersebut, diperlukan senyawa perunut, yaitu senyawa obat yang ditandai dengan radionuklida dengan memperhatikan beberapa karakteristik yaitu jenis dan rentang energi emisi, waktu-paruh, dan sifat kimia radionuklida tersebut (Eary, 2007).

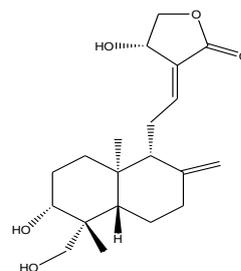
Iodium adalah radionuklida yang secara luas digunakan untuk menandai molekul, yaitu ¹²³I, ¹²⁵I, dan ¹³¹I. Radionuklida ¹³¹I (waktu-paruh 8,04 hari, energi beta maksimum 606 keV dan emisi gamma 364 keV) dipilih sebagai senyawa penanda di dalam penelitian ini, karena dua sifatnya, yaitu waktu-paruhnya tidak terlalu lama sehingga senyawa bertanda cepat tereliminasi dari dalam tubuh, dan tidak terlalu pendek sehingga tersedia cukup waktu untuk dilakukannya tahapan percobaan dan pengukuran, serta energi gamma yang diemisikan cukup besar sehingga mudah dideteksi dan dikuantifikasi. Radionuklida ¹³¹I banyak digunakan dalam terapi kanker tiroid dan hipertiroidisme (Coenen, *et al.*, 2006). Radionuklida ini juga dapat digunakan untuk diagnosis fungsi organ, misalnya pada

penggunaan furosemid-¹³¹I-hippuran untuk diagnosis hipertensi pada pembuluh darah ginjal pada pasien penderita *renovascular hypertension* (RVH) di *Jackson Memorial Medical Center* (Erbsloh-Moller, *et al.*, 1991).

Andrografolid (Gambar 1) adalah senyawa aktif dan konstituen utama yang diisolasi dari tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm.F) Nees), yang berbentuk lakton diterpenoid bisiklik. Andrografolid berpotensi untuk dijadikan senyawa penuntun. Kriteria senyawa penuntun adalah aktif secara *in vivo*, strukturnya telah diketahui, memiliki kemurnian tinggi, memiliki spesifisitas terhadap target, serta memiliki afinitas tertentu terhadap target (Wermuth, 2008).

Penelitian tentang aktivitas andrografolid secara *in vitro* membuktikan bahwa mekanisme anti-inflamasi andrografolid terjadi melalui berbagai jalur, yaitu melalui inhibisi ekspresi protein *inducible nitric oxide synthase* (iNOS) pada sel RAW 264.7 (Chiou, *et al.*, 2000), inhibisi produksi radikal oksigen pada sel *neutrophil* manusia (Shen, *et al.*, 2002), inhibisi aktivasi NF-kappaB pada sel *embryonic kidney* 293; CRL-1573, sel promyeloid HL-60; CCL-240, dan sel *fibroblast* mencit NIH3T3; CRL-1658 (Xia, *et al.*, 2004), pada sel HL-60 manusia (Hidalgo, *et al.*, 2005), dan inhibisi ekspresi siklooksigenase pada sel *fibroblast* manusia (Levita, *et al.*, 2010).

Berdasarkan penelitian tentang aktivitas anti-inflamasi andrografolid secara *in vitro* yang telah dilakukan sebelumnya, maka pada penelitian ini dibuktikan bahwa andrografolid bekerja di lokasi terjadinya inflamasi dalam mencit yang terinduksi lipopolisakarida.



Gambar 1. Struktur andrografolid

Metodologi

Bahan dan Pereaksi

Andrographolide CAS 5508-58-7 diperoleh dari Sigma Aldrich, larutan radioisotop ^{131}I dalam bentuk $\text{Na-}^{131}\text{I}$ (produksi PT. BATAN Teknologi), natrium hidroksida *pellet* derajat analitik (E. Merck), kloroform derajat analitik (E. Merck), metanol derajat analitik dan derajat HPLC (E. Merck), kertas Whatman-1, kloramin-T derajat analitik (E. Merck), natrium metabisulfit derajat analitik (E. Merck), air suling ganda steril bebas pirogen (PT. Ikapharmindo Putramas Pharmaceutical Laboratories), brom cair (E. Merck), karbon tetra klorida derajat analitik (E. Merck), larutan salin (natrium klorida 0,9 %), paladium trifenil fosfin/tetrakis (Sigma Aldrich), resin AG50W-X8 (H^+) 100-200 *mesh* (Bio-Rad Laboratories, Inc.).

Analisis Sifat ^{131}I dengan Kromatografi Kertas

Larutan radionuklida ^{131}I dalam bentuk $\text{Na-}^{131}\text{I}$ yang diterima dari Laboratorium Kendali Kualitas PT. BATAN Teknologi diukur aktivitasnya dengan alat *dose calibrator* (AtomLabTM 300). Analisis sifat ^{131}I dilakukan dengan mengelusi larutan radioisotop iodium tersebut pada kertas Whatman-1 dengan fase gerak kloroform-metanol (80:20 v/v). Hasil kromatografi dikeringkan, lalu diukur dengan alat pencacah gamma (Genesys GENiiTM *serial number* 11080209) pada dial energi gamma ^{131}I yang dilengkapi dengan analisator saluran tunggal (Veenstra Instruments VPA-101).

Penandaan Andrografolid dengan ^{131}I

Penandaan dilakukan secara tidak langsung melalui substitusi elektrofilik dengan katalis paladium trifenil fosfin/tetrakis menggunakan brom cair dalam medium non polar kloroform sebagai *leaving group* sebagai berikut:

Sejumlah 35 mg andrografolid (0,1 mmol) yang ditimbang seksama, ditambah dengan 0,15 mL campuran brom cair dalam CHCl_3 (1:1), dikocok dengan *vortex mixer* (Maximix plus-Thermolyne) selama 5 menit. Ditambahkan 0,3 mL larutan tetrakis dalam salin (1 μmol), dan dikocok lagi dengan *vortex mixer* selama 1 menit. Ditambahkan 20 μL larutan Na^{131}I (aktivitas ± 50 mCi) dan 0,25 mL larutan kloramin-T (1 mg/mL air suling ganda steril), larutan dicampur menggunakan *vortex mixer*, lalu dihangatkan dalam penangas air selama 5 menit pada suhu 40 °C. Oksidasi dihentikan dengan

penambahan 0,25 mL larutan natrium metabisulfit (1 mg/mL air suling ganda steril).

Analisis Kemurnian dan Pemisahan Senyawa Bertanda

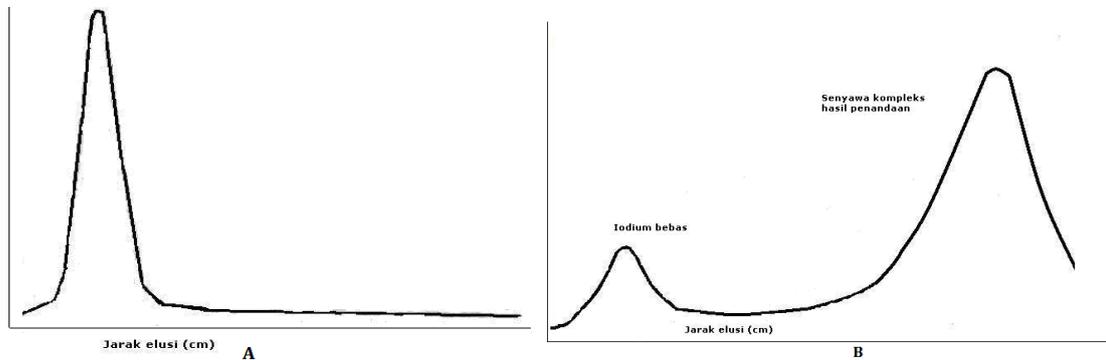
Kemurnian radiokimia senyawa dianalisis dengan kromatografi kertas dengan fase gerak kloroform-metanol (80:20 v/v). Hasil kromatografi dikeringkan, lalu diukur dengan alat pencacah gamma (Genesys GENiiTM *serial number* 11080209) pada dial energi gamma ^{131}I yang dilengkapi dengan analisator saluran tunggal (Veenstra Instruments VPA-101).

Pemisahan senyawa bertanda dilakukan dengan KCKT (HPLC Shimadzu GT154) yang dilengkapi dengan detektor radioaktif dan detektor ultraviolet (SPD 10A) pada λ_{225} nm. Kolom yang digunakan adalah C-18 (dimensi 250 mm x 4,60 mm) 201TPB Vydac, fase gerak metanol-air (65:35 v/v), dengan laju alir 1 mL/menit dan volume penyuntikan 50 μL . Pada pemisahan senyawa bertanda ini hanya diambil sebagian (sejumlah 50 μL) produk. Hasil kromatografi ditampung sebanyak 1 mL setiap menit di dalam Biorad *fraction collector*. Tabung 5-12 dengan radioaktivitas tertinggi dimurnikan dengan kromatografi kolom menggunakan fase diam resin AG50W-X8 (H^+) 100-200 *mesh* (Bio-Rad Laboratories, Inc.). Tahap ini dilakukan untuk mempertinggi kemurnian radiokimia andrografolid- ^{131}I sebelum senyawa perunut tersebut digunakan untuk uji biodistribusi.

Uji Biodistribusi Senyawa Andrografolid- ^{131}I

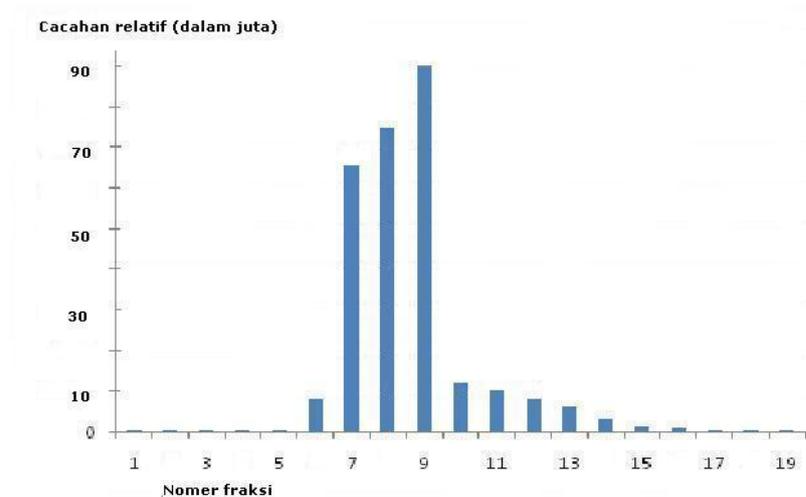
Pada tahap ini dilakukan penyuntikan *intra vena* senyawa andrografolid- ^{131}I melalui pada pembuluh lateral ekor mencit untuk mengetahui distribusi dan akumulasi andrografolid di dalam tubuh mencit. Uji ini dilakukan pada kelompok mencit yang diinduksi lipopolisakarida untuk mengetahui lokasi reseptor inflamasi, dengan prosedur sebagai berikut:

Mencit (*Mus musculus*) sehat jantan dan betina galur Swiss dengan berat rata-rata 40-60 gram diinduksi dengan 200 μL lipopolisakarida (45 mg dalam 50 mL dapar fosfat 0,5 M pH 7,4) melalui penyuntikan *intra muscular* pada paha kanannya. Satu jam kemudian, mencit disuntik dengan 200 μL senyawa bertanda (0,15 mg) melalui pembuluh lateral ekor. Uji biodistribusi dilakukan pada waktu 1 jam dan 2 jam setelah penyuntikan senyawa bertanda.



Gambar 2. Kromatogram KK (A) ¹³¹I dalam NaOH 0,05N (B) Senyawa bertanda.

Keterangan: Sistem kromatografi yang digunakan pada (A) dan (B) adalah fase gerak kloroform-metanol (80:20 v/v) dan fase diam kertas Whatman-1



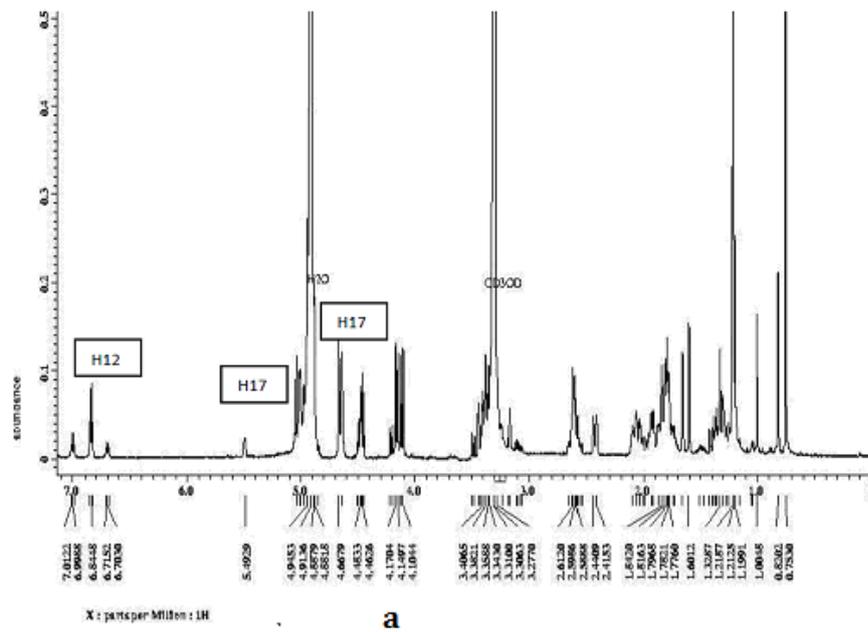
Gambar 3. Histogram fraksi KCKT andrografolid-¹³¹I

Keterangan: Histogram fraksi KCKT menunjukkan bahwa fraksi 6-13 adalah fraksi yang berisi andrografolid-¹³¹I, yang akan digunakan untuk uji biodistribusi

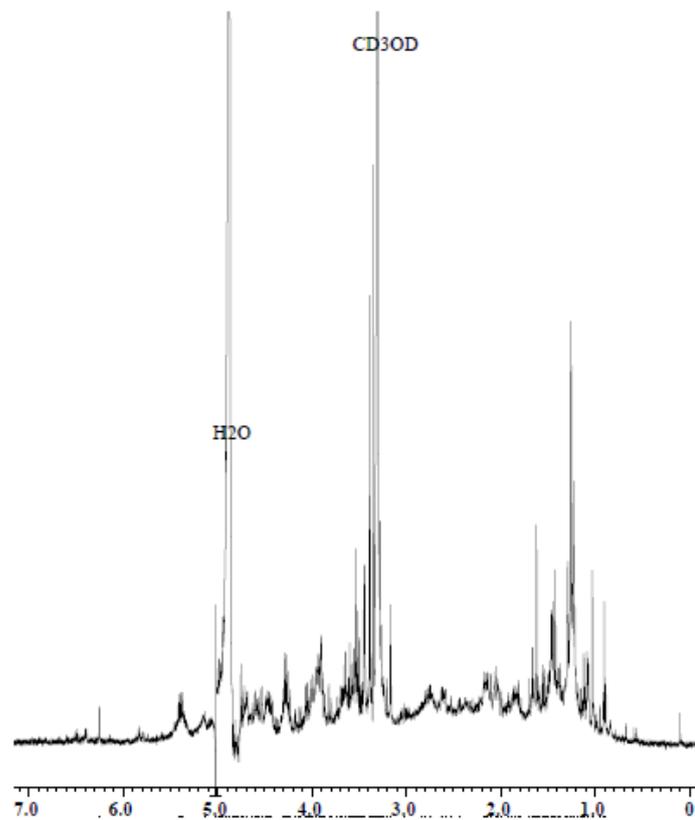
Hasil dan Pembahasan

Gambar 2a adalah kromatogram larutan Na¹³¹I pada kertas Whatman-1 dengan fase gerak kloroform-metanol (80:20 v/v) yang menjelaskan bahwa sediaan Na-¹³¹I mempunyai kemurnian radiokimia tinggi karena kromatogram hanya memberikan satu puncak, dan senyawa tersebut tidak bermigrasi (Rf = 0) karena fase gerak bersifat non-polar.

Tahap pemurnian senyawa bertanda juga dilakukan dengan KCKT (HPLC Shimadzu GT154) yang dilengkapi dengan detektor radioaktif dan detektor ultraviolet (SPD 10A) pada λ_{225} nm. Kolom yang digunakan adalah C-18 (dimensi 250 mm x 4,60 mm) 201TPB Vydac, fase gerak metanol-air (65:35 v/v), dengan laju alir 1 mL/menit dan volume penyuntikan 50 μ L.

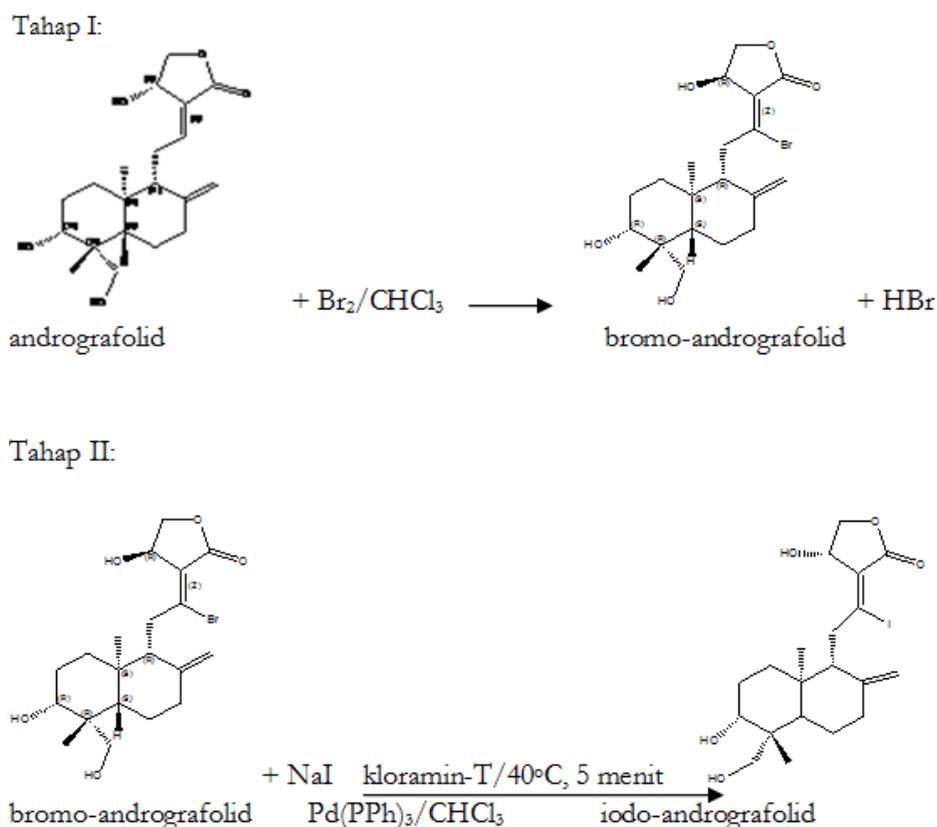


a



b

Gambar 4 Spektrum ¹H-NMR (a) andrografolid dalam CD₃OD, (b) iodo-andrografolid dalam CD₃OD



Gambar 5. Skema usulan reaksi iodinasi andrografolid.

Tabel I Biodistribusi andrografolid-¹³¹I dan ¹³¹I dalam mencit

Organ	Biodistribusi ¹³¹ I (% dosis/gram organ)		Biodistribusi andrografolid- ¹³¹ I (% dosis/gram organ)	
	60 menit	120 menit	60 menit	120 menit
Darah	2,3	1,7	2,6	2,5
Kandung kemih	29,9	16,3	4,8	6,9
Ginjal	3,7	1,1	1,8	1,9
Usus	2,3	0,5	2,9	1,5
Lambung	21,5	7,5	16,9	18,1
Hati	1,4	0,5	1,1	1,0
Jantung	1,6	0,6	1,0	1,2
Paru-paru	2,7	1,4	2,1	2,0
Limpa	2,7	0,9	1,6	1,3
Otak	0,4	0,1	0,2	0,2
Tiroid	44,2	12,0	12,6	19,6

Hasil kromatografi ditampung sebanyak 1 mL setiap menit di dalam Biorad *fraction collector* berisi 19 tabung. Tahap ini dilakukan untuk memisahkan senyawa andrografolid-¹³¹I dari produk sampingan reaksi.

Selanjutnya tabung 6-13 dengan radioaktivitas tertinggi dimurnikan dengan kromatografi kolom menggunakan fase diam resin AG50W-X8 (H⁺) 100-200 *mesh* (Bio-Rad Laboratories, Inc.). Tahap ini dilakukan untuk mempertinggi kemurnian radiokimia andrografolid-¹³¹I sebelum senyawa perunut tersebut digunakan untuk uji biodistribusi (Gambar 3).

Pemastian posisi iodinasi pada molekul andrografolid dibuktikan dengan melakukan reaksi iodinasi sistem non-radioaktif. Karakterisasi produk sintesis iodo-andrografolid dilakukan dengan spektroskopi ¹H-NMR dibandingkan dengan spektrum ¹H-NMR andrografolid murni sebagai berikut:

Dua ikatan olefin pada C-12 dan C-17 memberikan puncak geseran kimia proton pada rentang δ_H 4,5 - 7,0 ppm yang disebabkan oleh adanya kenaikan elektronegativitas karbon sp² dan anisotropi ikatan C=C, sehingga menyebabkan posisi proton pada karbon alkena terletak pada frekuensi lebih tinggi (medan magnet lebih rendah). Posisi proton pada kedua ikatan olefin ini sangat penting untuk mengidentifikasi iodinasi. Pada spektrum ¹H-NMR pada Gambar 4b tidak terlihat geseran kimia proton H-12 di daerah δ_H 6,85 ppm, sedangkan geseran kimia proton pada H-17 masih ada yaitu di daerah δ_H 5,05 ppm dan 4,67 ppm. Dari data ini diprediksi bahwa iodinasi andrografolid terjadi pada ikatan rangkap posisi C-12, dengan skema usulan reaksi sebagai berikut:

Tahap I:

Uji biodistribusi dilakukan dengan menelaah profil biodistribusi andrografolid-¹³¹I di dalam tubuh mencit, dibandingkan dengan biodistribusi ¹³¹I.

Pada uji biodistribusi ini hewan yang digunakan pada uji biodistribusi ¹³¹I adalah mencit sehat, berbeda dengan pada uji biodistribusi andrografolid-¹³¹I yang menggunakan mencit terinduksi lipopolisakarida. Biodistribusi ¹³¹I dilakukan pada mencit sehat karena dari studi pustaka

tidak pernah disebutkan bahwa ¹³¹I bersifat sebagai anti-inflamasi. Radionuklida ¹³¹I paling banyak digunakan dalam terapi kanker tiroid dan hipertiroidisme (Coenen, *et al.*, 2006).

Dari hasil uji biodistribusi (Tabel I) terlihat bahwa pada mencit sehat setelah satu jam ¹³¹I terdistribusi tertinggi pada **tiroid** yaitu 44,2 %/gram organ, dan setelah dua jam radioisotop ini cepat terekskresi hingga sisa 12,0 %/gram organ. Data ini menunjukkan sifat polaritas radioisotop iodium yang tinggi, dan organ target ¹³¹I adalah tiroid.

Biodistribusi andrografolid-¹³¹I memperlihatkan pola berbeda. Pada mencit terinduksi LPS, andrografolid-¹³¹I terdistribusi tertinggi di dalam lambung sebesar 16,9 %/gram organ, dan setelah dua jam senyawa perunut ini belum terekskresi, bahkan kadarnya di organ tersebut semakin meningkat menjadi 18,1 %/gram organ.

Dari hasil uji biodistribusi ini dapat diketahui bahwa:

Induksi LPS menyebabkan peningkatan produksi prostaglandin di lambung, sehingga radioligan andrografolid terakumulasi di organ tersebut. Prostaglandin yang diproduksi di lambung secara berlebih ini terjadi karena adanya inflamasi di lambung oleh induksi LPS, artinya bukan prostaglandin fisiologis, melainkan *inducible*. Hasil ini sesuai dengan penelitian Ward, *et al.*, (2010) yang meneliti efek ketamin pada tikus jantan yang diinduksi LPS. Induksi ketamin pada tikus menyebabkan perdarahan di lambung, dan pemberian ketamin mengurangi perdarahan tersebut (Ward, *et al.*, 2010).

Di organ tiroid terdeteksi adanya ¹³¹I, yang menunjukkan bahwa sebagian andrografolid-¹³¹I terdeiodinasi oleh enzim di dalam tubuh

Kesimpulan

Radioiodinasi andrografolid dengan radioisotop iodium telah berhasil dilakukan, walaupun rendemen penandaannya hanya 72,6 %. Iodinasi terjadi melalui substitusi proton pada C-12. Senyawa bertanda yang dihasilkan, yaitu andrografolid-¹³¹I, dapat dimurnikan dengan KCKT menggunakan fase diam kolom C-18 dan fase gerak metanol-air (65:35 v/v). Senyawa ini terbukti dapat digunakan sebagai

perunut inflamasi, dengan akumulasi tertinggi pada lambung.

Ucapan Terimakasih

Terimakasih tak terhingga kami haturkan kepada IM HERE ITB yang telah membiayai sebagian penelitian ini, juga kepada Dr. J.D.M Herscheid dan Dr. J.L.H Eersels dari *Radionuclide Centrum*, Vrije Universiteit,

Amsterdam untuk diskusinya yang sangat berharga baik secara lisan pada saat penulis mengikuti Program *Sandwich* Dikti (2008), maupun melalui *e-mail*, juga kepada Prof. Drs. Sunarhadijoso, M.Sc., dan semua staf di PRR BATAN Serpong untuk segala bantuannya pada pelaksanaan penelitian ini.

Daftar Pustaka

- Chiou, W-F., Chen, C-F., and Lin, J-J., 2000, Mechanisms of Suppression of Inducible Nitric Oxide Synthase (iNOS) Expression in RAW 264.7 Cells by Andrographolide, *British J. of Pharmacology*, **129**: 1553-1560
- Coenen, H. H., Mertens, J., and Maziere, B., 2006, *Radioiodination Reactions for Radiopharmaceuticals, Compendium for Effective Synthesis Strategies*, Springer, Dordrecht, The Netherlands. ISBN 1-4020-4561-1
- Eary, J. F., and Brenner, W., 2007, *Nuclear Medicine Therapy*, Informa Healthcare, NewYork, USA. ISBN 0-8247-2876-9
- Erbsloh-Moller, B., Dumas, A., Roth, B., Svakianakis, G. N., and Bourgoignie, J. J., 1991, Furosemide-131I-hippuran renography after angiotensin-converting enzyme inhibition for the diagnosis of renovascular hypertension, *Am. J. Med.*, **90**(1): 23-29
- Fabiola, G. F., Damodharan, L., Patabhi, V., and Nagarajan, K., 2001, Cyclooxygenase-2 – An Attractive Target for Fruitful Drug Design, *Current Science*, **80**(1): 26-34
- Hidalgo, M. A., Romero, A., Figueroa, J., Cortes, P., Concha, I. I., Hancke, J. L., and Burgos, R.A., 2005, Andrographolide Interferes with Binding of Nuclear Factor-kappaB to DNA in HL-60-derived Neutrophilic Cells, *British J. of Pharmacology*, **144**: 680-685
- Levita, J., Nawawi, A., Mutholib, A., and Ibrahim, S., 2010, Andrographolide Inhibits COX-2 Expression in Human Fibroblast Cells Due to Its Interaction with Arginine and Histidine in Cyclooxygenase Site, *J. Applied Sci.* 10(14): 1481-1484 ISSN 1812-5654
- Shen, Y. C., Chen, C. F., and Chiou, W. F., 2002, Andrographolide Prevents Oxygen Radical Production by Human Neutrophils: Possible Mechanism Involved in Its Antiinflammatory Effect, *British J. of Pharmacology*, **135**: 399-406
- Wiert, C., 2006, *Ethnopharmacology of Medicinal Plants, Asia and the Pacific*, Humana Press Inc., Totowa, New Jersey, USA. ISBN 1-58829-748-9
- Xia, Y-F., Ye, B-Q., Li, Y-D., Wang, J-G., He, X-J., Lin, X., Yao, X., Ma, D., Slungaard., A., Hebbel., R.P., Key, N.S., and Geng, J-G., 2004, Andrographolide Attenuates Inflammation by Inhibition of NF-kappaB Activation through Covalent Modification of Reduced Cysteine62 of p50, *The Jo. of Immunology*, 4207-4217

*)Korespondensi: Jutti Levita

Pharmacochemistry Division Faculty of Pharmacy, Universitas Padjadjaran

Jl. Raya Bandung-Sumedang Km.21 Jatinangor

E-mail: la_via63@yahoo.com