

**MODIFIKASI SIFAT FISIKOKIMIA Fisetin
MELALUI TEKNIK KRISTAL SFER****MODIFICATION OF PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES Fisetin
THROUGH SPHERICAL CRYSTAL TECHNIQUES****Muhammad Dzakwan^{*}, Widodo Priyanto**

Departemen Teknologi Farmasi dan Biofarmasetika Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

Email: mdzakwan9@setiabudi.ac.id

Received: 09 March 2019; Revised: March 2019; Accepted: April 2019; Available online: May 2019

ABSTRACT

Fisetin is a natural antioxidant that has shown to possess antioxidant and anti-inflammatory. However, the poor solubility leads to poor bioavailability and limits its development. Fisetin spherical agglomerates were prepared with ethanol, water, chloroform and polyvinylpyrrolidone (PVP) as solvent, anti-solvent, bridging liquid and polymer, respectively. The main objective of this research to overcome the low fisetin solubility, micromeritic properties and in vitro dissolution. It was prepared using spherical agglomeration method, organic solvent and polymer. Characterization is carried out on morphology particle, drug loading efficiency, solubility and in vitro dissolution. XRD studies showed a decrease in crystallinity in agglomerates. The crystals exhibited significantly improved micromeritic properties compared to pure drug. The loading efficiency was in the range of 98.25 ± 1.20 %. The aqueous solubility and dissolution rate of the drug from crystals was significantly increased, $4.45 \text{ mg/ml} \pm 0.31$ and 98.75% , respectively. The SEM studies showed that the crystal possesses a good spherical shape with smooth and regular surface. Conclusion, fisetin was successfully prepared by spherical agglomeration method, with the polyvinylpyrrolidone 5% as polymer, ethanol as good solvent, water as antisolvent and chloroform as bridging solvent. Fisetin increased its solubility and in vitro dissolution significantly after spherical agglomeration

Keywords: fisetin, spherical crystallization, solubility, in vitro dissolution, micromeritic properties.

ABSTRAK

Fisetin merupakan senyawa flavonoid yang memiliki kelarutan, ketersediaan hayati dan sifat mikromeretik yang rendah sehingga terbatas penggunaannya sebagai sediaan oral atau topikal. Penelitian ini bertujuan mengembangkan fisetin menjadi kristal sferis untuk memperbaiki kelarutan dan sifat mikromeretik. Pembentukan kristal sferis menggunakan metode aglomerasi sferis dengan pelarut terpilih hasil skrining, polimer PVP dan *bridging solvent*. Kristal sferis yang dihasilkan dikarakterisasi morfologi partikel, efisiensi muatan, kelarutan, sifat kristanilitas dan pelepasan *in vitro*. Hasil penelitian menunjukkan fisetin berhasil dikembangkan menjadi kristal sferis menggunakan metode aglomerasi, etanol sebagai pelarut terpilih, air sebagai antisolvent, kloroform sebagai *bridging liquid* dan PVP dengan konsentrasi 5% sebagai polimer. Kristal sferis fisetin berbentuk bulat, permukaan yang halus dan teratur, dengan ukuran $50 \mu\text{m}$. Pola difraksi sinar-X fisetin murni dan kristal sferis menunjukkan pola struktur kristal yang identik dan fisetin terjadi penurunan kristanilitas setelah dibuat menjadi kristal sferis. Efisiensi muatan obat, kelarutan dan pelepasan *in vitro*, berturut-turut sebesar $98,25 \pm 1,20\%$; $4,45 \text{ mg/ml} \pm 0,31$ dan $98,75\%$, terjadi peningkatan setelah dibuat kristal sferis. Kesimpulan fisetin berhasil dikembangkan menjadi kristal sferis dengan metode aglomerasi, menggunakan pelarut etanol (*good solvent*), air (*antisolvent*), kloroform (*bridging solvent*) dan PVP sebagai polimer. Fisetin setelah dibuat kristal sferis meningkat kelarutan dan pelepasan *in vitro*.

Kata kunci: Fisetin, aglomerasi, kristal sferis, kelarutan, pelepasan *in vitro*, efisiensi muatan obat.

PENDAHULUAN

Bentuk dan ukuran partikel padat zat aktif farmasi memiliki pengaruh terhadap sifat fisikokimia dan menentukan pengembangan bentuk sediaan, stabilitas, dan kinerja obat secara *in vivo*. Banyak zat aktif farmasi baik yang diperoleh melalui sintesis atau semi sintesis memiliki masalah sifat fisikokimia terutama kelarutan dalam air yang rendah, sifat mikromiretik dan ketersediaan hayati. Sifat mikromeritik partikel obat, seperti bentuk dan ukuran, sangat penting untuk formulasi dan pengembangan bentuk sediaan (Garg *et al*, 2012, Chourasia *et al*, 2004). Ukuran partikel obat berkorelasi dengan kelarutan, obat yang kurang larut selalu menjadi masalah karena dapat menurunkan laju dan sifat disolusi. Partikel obat dengan ukuran mikron (lebih kecil dari 10 mm) memiliki luas permukaan spesifik yang besar dan dapat meningkatkan kelarutan dan laju disolusi (Paradkar *et al*, 1998). Input energi yang tinggi selama proses mikronisasi menimbulkan peningkatan energi permukaan bebas, memperbesar gaya elektrostatis, flowabilitas buruk sehingga mengakibatkan kompresibilitas dan densitas serbuk menurun (Kawakami, 2012., Pawar *et al*, 1998).

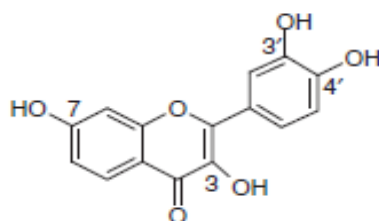
Sifat mikromiretik serbuk obat yang tidak bagus membuat sulit digunakan dalam formulasi dan proses pembuatan sediaan oral padat, seperti pembuatan tablet dengan kempa atau cetak langsung dan proses pengisian kapsul (Sevukarajan *et al*, 2012). Berbagai metode telah dikembangkan untuk memperbaiki sifat mikromiretik obat diantaranya dengan cara granulasi baik granulasi basah maupun granulasi kering. Metode ini memiliki banyak kelemahan diantaranya produksi granul yang memerlukan energi cukup besar dapat mengganggu stabilitas obat yang sensitif terhadap kelembaban atau panas dan dapat menyebabkan transformasi bentuk fisik obat (Kovacic *et al*, 2012).

Penggunaan rute oral adalah yang paling menguntungkan secara fisiologis dan mudah diterima oleh pasien. Oleh karena itu, penting untuk mengembangkan kelarutan obat dengan rute oral untuk meningkatkan bioavailabilitas dan juga memperoleh efek terapi yang diinginkan. *Spherical cristalisation agglomerasi* (SA) adalah salah satu pendekatan yang paling menarik untuk meningkatkan kelarutan, disolusi dan penyerapan oral untuk obat yang kelarutan dalam airnya buruk (Ronak *et al*, 2013). Kristal sferis adalah teknik aglomerasi baru yang dapat mengubah secara langsung kristal halus yang dihasilkan dalam proses kristalisasi menjadi bentuk bulat. Metode ini adalah teknik rekayasa partikel dimana kristalisasi dan aglomerasi dapat dilakukan secara bersamaan dalam satu langkah untuk mengubah kristal langsung menjadi bentuk bulat yang dipadatkan dan yang telah berhasil digunakan untuk meningkatkan kelarutan dan disolusi (Parmar *et al* 2016).

Kawashima *et al* (1986) pertama kali mengembangkan teknik *spherical cristallization* untuk meningkatkan ukuran obat. Teknik ini menguntungkan karena memformulasikan partikel mikro dengan karakteristik yang diinginkan, dapat digunakan sebagai bahan yang dapat dikompresi secara langsung (Gupta *et al*, 2010). Kristal sferis mampu dimodifikasi dengan cara mengoptimalkan parameter pengolahan seperti tingkat pengadukan, pemilihan solvent, pengaturan pH, dan suhu yang dapat mempengaruhi sifat fisika-kimia (kelarutan, laju disolusi, ketersediaan hayati, stabilitas) dan sifat mikrometer (kerapatan, sifat alir) (Thakur *et al*, 2016). Sejumlah obat seperti asam salisilat, naproksen, celoxcib, ibuprofen, asam mefenamat, dan nabumeton telah berhasil dikembangkan menggunakan teknik kristal sferis (Magshoodi, 2015).

Fisetin adalah senyawa flavonoid dengan beragam aktifitas yaitu sebagai antioksidan alami, antiinflamasi, antialergi, antikanker, kardioprotektif (Prozhazcova *et al*, 2011). Sebagai antiaterosklerosis, antiaging dan menurunkan kadar LDL dalam plasma (Hu Jun *et al*, 2013). Fisetin dikenal sebagai senyawa turunan flavonoid dengan sifat mikromiretik yang kurang bagus, terutama sifat alir dan kompresibilitas. Fisetin memiliki bioavailabilitas yang sangat rendah sekitar 10% hal ini karena kelarutan dalam air yang kecil (0,002 mg/ml) dan absorpsi yang rendah sehingga pemberian fisetin dalam bentuk sediaan oral dan dermal menjadi terbatas (Hong *et al*, 2014., Al Shal *et al*, 2011).

Beberapa cara telah dilakukan untuk meningkatkan kelarutan dan bioavailabilitas fisetin seperti kokristal (Sowa *et al*, 2014), liposom (Seguin *et al*, 2012), nanokelat (Bothiraja *et al* 2014) dan kompleks inklusi β -siklodektrin (Guzzo *et al*, 2006). Namun belum banyak penelitian yang dilakukan untuk meningkatkan sifat alir dan kompresibilitas fisetin. Salah satu pendekatan untuk meningkatkan sifat mikromiretik adalah teknik kristal sferis. Tujuan penelitian ini adalah mengembangkan fisetin menjadi kristal sferis melalui teknik aglomerasi dengan varisasi beberapa pelarut. Karakterisasi fisetin kristal sferis meliputi morfologi partikel, efisiensi muatan obat, kelarutan, sifat kristalinitas dan pelepasan obat secara *in vitro*.



Gambar 1. Struktur kimia fisetin (Bothiraja et al, 2014)

METODE PENELITIAN

Material

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah fisetin 98% (Shaanxi Dideu Medichem Co. Ltd, Xi'an, China). PVA (BASF, Jerman). Etanol, kloroform, DMSO dan aseton (Fluka, Amerika). Aquabidest (PT. Bratachem, Indonesia). Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah pengaduk magnetik (Thermo Scientific, Cina), PXR, *shaking thermostatic water bath* (Julabo GmbH, Eisenbahnstr, Jerman), spektrofotometri Uv-Vis (1800 Shimadzu, Amerika). Alat gelas dan non gelas sesuai spesifikasinya.

Rancangan Penelitian

1. Pengujian kelarutan fisetin murni

Fisetin sebanyak 0,1 gram dilarutkan dalam 10 ml pelarut air, etanol, DMSO, aseton dan kloroform (Tabel 1), diaduk dengan *shaking thermostatic water bath* pada suhu 37°C kecepatan 50 rpm sampai fisetin larut sempurna. Fisetin yang terlarut diukur kadarnya dengan spektrofotometri UV-Vis, panjang gelombang 248 nm.

Tabel 1. Komposisi pelarut dan jumlah fisetin

No	Pelarut	Volume (ml)	Fisetin (gram)
1.	Air	10	0,1
2.	Etanol	10	0,1
3.	DMSO	10	0,1
3.	Aseton	10	0,1
4.	Kloroform	10	0,1

2. Pembuatan kristal sferis

Fisetin sebanyak 2 gram dilarutkan dalam 20 ml pelarut terpilih, ditambahkan ke dalam 100 ml larutan PVP 5%. Campuran diaduk menggunakan pengaduk magnetik dengan kecepatan 500 rpm sampai terbentuk kristal sferis. Ditambahkan tetes demi tetes 10 ml pelarut kloroform sebagai *bridging solvent* sampai kristal mengendap sempurna. Kristal disaring menggunakan kertas Whatman No 1, dikeringkan dengan cara dibiarkan pada suhu ruang selama 24 jam.

3. Morfologi kristal

Sampel diletakkan di atas *sample holder* lalu dilapisi *gold-palladium* dengan *auto fine coater*. Sampel yang telah terlapis *gold-palladium* kemudian diletakkan pada *specimen chamber* instrumen SEM dan diamati pada komputer untuk difoto pada perbesaran yang sesuai.

4. Efisiensi muatan obat

Efisiensi muatan kristal fisetin ditentukan dengan melarutkan 100 mg kristal fisetin dalam 100 mL etanol, mengukur absorbansi larutan encer yang sesuai secara spektrofotometri UV-Vis, pada panjang gelombang 248 nm.

5. Uji kelarutan

Kristal sferis dan fisetin murni sebanyak 100 mg ditambahkan ke dalam 10 mL aquabidest, diaduk dengan *shaking thermostatic water bath* pada suhu 37°C, kecepatan 50 rpm selama 24 jam. Larutan disaring dengan filter membran 0,45 mm. Kadar zat terlarut ditetapkan dengan menggunakan spektrofotometri UV-VIS pada panjang gelombang 248 nm.

6. Uji disolusi *in vitro*

Uji disolusi kristal sferis dan fisetin murni menggunakan alat tipe 2 (tipe dayung) dengan kecepatan 50 rpm. Medium disolusi yang digunakan adalah larutan HCl 0,1 N volume 900 ml pada suhu 37 ± 0,5°C. Uji disolusi dilakukan selama 120 menit. Penetapan kadar fisetin dilakukan menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang 248 nm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Pengujian kelarutan fisetin murni

Hasil pengujian kelarutan menunjukkan fisetin memiliki kelarutan terbesar dalam DMSO dan etanol, masing-masing sebesar 3,25 mg/ml; 2,95 mg/ml. Dalam pelarut air, kloroform dan aseton kelarutan fisetin sangat rendah, masing-masing sebesar 0,11 mg/ml; 0,24 mg/ml dan 0,92 mg/ml, data kelarutan fisetin terdapat pada **tabel 2**. Tujuan pengujian kelarutan fisetin adalah untuk mendapatkan pelarut yang baik (*good solvent*), anti-solvent (*poor solvent*) dan pelarut penghubung (*bridging solvent*). Ketiga jenis pelarut tersebut akan digunakan untuk membuat kristal sferis. Dari hasil pengujian kelarutan, dipilih etanol sebagai *good solvent* yang digunakan untuk melarutkan fisetin, air sebagai anti-solvent yang digunakan untuk melarutkan polimer dan kloroform sebagai cairan penghubung (*bridging solvent*). Etanol dipilih sebagai *good solvent* karena fisetin memiliki kelarutan yang besar dalam etanol. Menurut ICH dan FDA, etanol termasuk dalam kelas pelarut yang lebih aman dan tidak toksik bagi kesehatan manusia. Sedangkan DMSO meskipun mampu melarutkan fisetin dalam jumlah yang paling besar tapi relatif kurang aman.

Tabel 2. Hasil pengujian kelarutan fisetin murni dalam berbagai pelarut

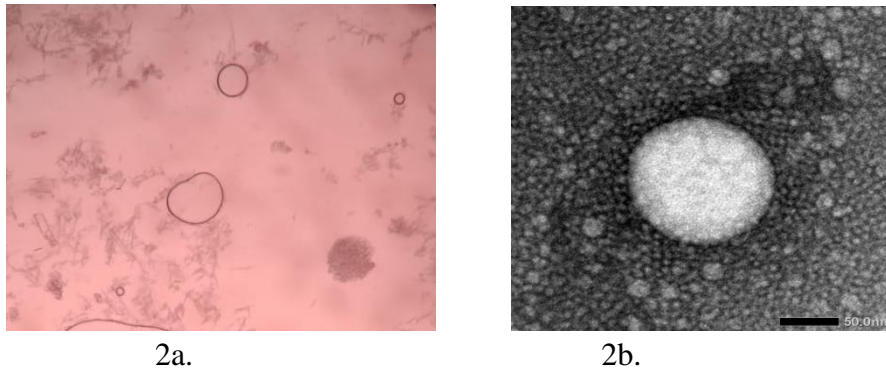
No	Pelarut	Volume (ml)	Fisetin (gram)	Kelarutan (mg/ml)
1.	Air	10	0,1	0,11 ± 0,27
2.	Etanol	10	0,1	2,95 ± 0,20
3.	DMSO	10	0,1	3,25 ± 0,22
3.	Aseton	10	0,1	0,92 ± 0,31
4.	Kloroform	10	0,1	0,24 ± 0,38

2. Pembuatan kristal sferis

Kristal sferis fisetin dibuat melalui metode aglomerasi sederhana dengan menggunakan sistem tiga pelarut yaitu etanol sebagai pelarut yang baik, air sebagai antisolven dan kloroform sebagai cairan penghubung. Pemilihan pelarut ini tergantung pada kemampuan pelarut untuk melarutkan fisetin dan stabilitas obat dalam pelarut. Ketiga jenis pelarut tersebut telah berhasil digunakan dalam pembuatan kristal sferis seperti celexcobic, karbamazepin, aminifilin, asam salisilat dan asam benzoate (Chauhan et al, 2012). Kloroform, meskipun saat ini tidak banyak digunakan, telah menunjukkan aplikasi tinggi dalam pembentukan kristal bola (El-Yafi dan El- Zein, 2015). Kristal aglomerat terbentuk melalui proses pengadukan suspensi cairan obat. Penambahan larutan polimer PVP selama proses pengadukan membantu terjadinya pengikatan permukaan kristal aglomerat. Penambahan cairan penghubung seperti kloroform bertujuan untuk meningkatkan sifat pembasahan dan mempercepat proses pembentukan kristal aglomerat. Umumnya dengan semakin besar jumlah cairan penghubung yang ditambahkan akan meningkatkan aglomerasi partikel. Bahan hidrofilik, seperti polivinil alkohol (PVA), polivinil pirolidon (PVP), hidroksipropil metilselulosa (HPMC) dan hidroksipropil selulosa (HPC) digunakan untuk membentuk ikatan antar partikel dan sferonisasi selama proses pembentukn kristal (Javadzadeh et al, 2015). Dalam studi ini, PVP, relatif lebih hidrofilik, digunakan untuk meningkatkan kelarutan obat dan sifat mikromeritik,

3. Morfologi kristal

Hasil pembuatan kristal sferis fisetin terlihat bentuk kristal bulat dengan ukuran sekitar 50 μm , morfologi kristal fisetin pada saat tahap kristalisasi, koalsen dan setelah terbentuk kristal sferis terdapat pada gambar 2 berikut ini.



Gambar 2. Morfologi kristalisasi fisetin, diamatai dibawah mikroskop cahaya, perbesaran 100 kali (2a), morfologi kristal sferis fisetin, diamati dengan SEM erbesaran 500 kali (2b).

Pada tahap awal kristalisasi dan koalesen terlihat fisetin berbentuk kristal jarum dan ukuran partikelnya cukup kecil dengan ukuran rata-rata hanya 5 μm (gambar.2a). Kristal fisetin bentuk jarum memanjang tidak menguntungkan karena memiliki sifat alir dan kompresibilitas yang tidak baik. Setelah sferonisasi menunjukkan bahwa kristal aglomerat berbentuk bulat dengan permukaan yang halus dan teratur, dengan ukuran 50 μm yang memungkinkan mengalir dengan sangat mudah (gambar 2b).

4. Efisiensi obat termuat dan uji kelarutan

Hasil efisiensi obat termuat dan kelarutan dalam air ditunjukkan pada tabel 3. Obat termuat dalam bentuk kristal sferis sebesar $98,25 \pm 1,20\%$, mendekati jumlah fisetin murni yang termuat sebesar $99,85 \% \pm 0,00$. Hal ini menunjukkan bahwa kehilangan obat selama proses kristalisasi dan sferonisasi sangat rendah dan dapat diabaikan. Hasil studi kelarutan menunjukkan bahwa fisetin murni memiliki kelarutan yang sangat rendah dalam air sebesar $0,15 \pm 0,36 \text{ mg/ml}$. Kelarutan kristal sferis meningkat secara signifikan sebesar $4,45 \pm 0,31 \text{ mg/ml}$, meningkat hampir 30 kali jika dibandingkan fisetin murni. Hal ini mungkin disebabkan karena pengaruh penambahan polimer PVP yang meningkatkan proses pembasahan dan penggabungan kristal sehingga dapat meningkatkan kelarutan obat. Perubahan energi internal molekul memainkan peran penting dalam meningkatkan kelarutan obat. Kelarutan kristal sferis dapat disebabkan oleh perubahan bentuk kristal, kebiasaan dan struktur kristal.

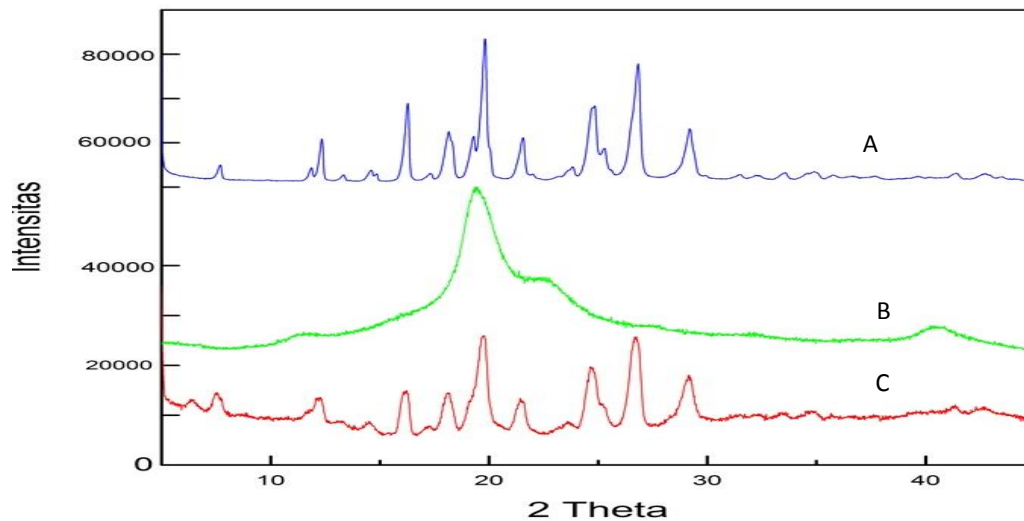
Tabel 3. Hasil pengujian efisiensi obat termuat dan kelarutan

No	Obat	Obat termuat (%)	Kelarutan (mg/ml)
1.	Kristal sferis	$98,25 \pm 1,20$	$4,45 \pm 0,31$
2.	Fisetin murni	$99,85 \pm 0,00$	$0,15 \pm 0,36$

5. Uji kristanilitas fisetin murni dan kristal sferis

Hasil pola difraksi sinar-X fisetin murni dan kristal sferis menunjukkan pola struktur kristal yang identik, ditunjukkan pada gambar 3. Fisetin murni menunjukkan puncak yang panjang dan intens, sedangkan kristal aglomerat menunjukkan pola halo dengan puncak yang kurang kuat, yang menunjukkan cukup banyak penurunan kristanilitas obat dalam bentuk kristal sferis. Hasil ini

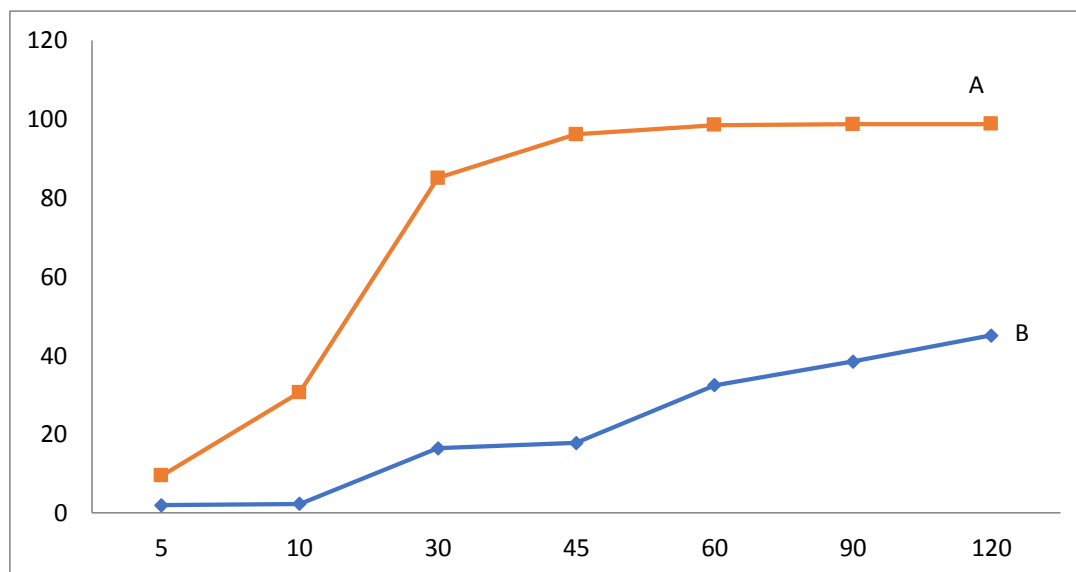
mengindikasikan bahwa perubahan polimorfik tidak terdeteksi setelah rekristalisasi, karena semua puncak XRD kristal sferis konsisten dengan pola kristal fisetin murni asli.



Gambar 3. Pola difraksi sinar X fisetin murni (A), PVP (B) dan kristal sferis (C)

6. Uji disolusi *in vitro*

Hasil uji disolusi serbuk fisetin murni dan kristal sferis ditunjukkan pada gambar 4, uji diolusi menggunakan metode suspensi dengan alat tipe 2 (tipe dayung) dengan kecepatan 50 rpm. Medium disolusi yang digunakan adalah larutan HCl 0,1 N volume 900 ml pada suhu $37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Uji disolusi dilakukan selama 120 menit. Fisetin murni menunjukkan sedikit pelepasan pada 120 menit dalam HCL 0,1 N ($45,02 \pm 0,25\%$), sebaliknya kristal sferis dapat meningkat laju disolusi dalam medium disolusi HCL 0,1 N (meningkat dari 9,43 menjadi 98,75% dibandingkan dengan obat murni). Peningkatan ini diduga disebabkan oleh peningkatan keterbasahan obat dengan adanya PVP, perubahan bentuk kristal dan struktur kristal yang terjadi selama aglomerasi mungkin telah meningkatkan pelepasan obat dari kristal pada periode waktu awal. Oleh karena itu, penelitian ini menunjukkan perlunya optimalisasi konsentrasi PVP yang digunakan. Mekanisme di balik efek peningkatan kelarutan dan laju disolusi fisetin dalam bentuk kristal mungkin menyerupai mekanisme dispersi padat meskipun ukuran partikel kristal relatif besar. Efek ini mungkin karena peningkatan keterbasahan permukaan kristal oleh adsorpsi PVP ke permukaan kristal. Hasil ini dengan jelas mengungkapkan bahwa laju disolusi fisetin meningkat dalam bentuk kristal sferis bila dibandingkan dengan bentuk murni. Selain itu PVP yang digunakan adalah jenis polimer yang cocok untuk membuat kristal sferis.



Gambar 4. Grafik uji disolusi *in vitro* kristal sferis fisetin (A) dan serbuk fisetin murni (B)

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan bahwa fisetin berhasil dibuat menjadi kristal sferis dengan metode aglomerasi sferis menggunakan pelarut etanol (*good solvent*), air (*antisolvent*), kloroform (*bridging solvent*) dan PVP sebagai polimer. Fisetin setelah dibuat kristal sferis meningkat kelarutan dan laju disolusi sebesar. Teknik ini dapat diterapkan untuk menghasilkan bentuk sediaan padat oral fisetin dengan peningkatan laju disolusi dan ketersediaan hayati oral.

UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini, peneliti ingin mengucapkan terima kasih kepada berbagai pihak yang telah membantu terwujudnya penelitian terutama kepada Universitas Setia Budi Surakarta dan Lembaga Penelitian dan Pengabdian Universitas Setia Budi Surakarta

DAFTAR PUSTAKA

- Al Shaal, L., Müller, R.H., Shegokar, R. 2010. SmartCrystal Combination Technology – Scale up from Lab to Pilot Scale and Long Term Stability, *Pharmazie*, 65: 877–88
- Bothiraja C, Yojana, B.D, Pawar A.P, Shaikh K.S and Thorat U.H. 2014. Fisetin-Loaded Nanocochleates: Formulation, Characterisation, *in vitro* Anticancer Testing, Bioavailability and Biodistribution Study, *Expert Opin. Drug Deliv*, 11 (1). 17-29
- Chauhan, N., Satapara, V., Sorathiya, K., Parmar, K., Raval, M., and Patel, P. 2012. Spherical crystallization: an aspect to increase the physicochemical properties of drugs. *International Journal of Pharmaceutical Innovations*. 2 (4). 37 - 47
- Chourasia, M. K., Jain, A. and Jain, N. 2004. Utilization of spherical crystallization for preparation of directly compressible materials. *Indian Drugs*. 41 (6). 319-329.
- El-Yafi, A, Kh and El-Zein, H. 2015. Technical crystallization for application in pharmaceutical material engineering. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res*. 30 (2). 17-24
- Garg, C., Khatri, S., Arora, S., 2012. Spherical Crystallization: An Overview, *International Journal of Pharmacy & Technology*. 4 (1). 1909-1928
- Ghupta MM, Srivastava B, Sharma M, Arya V. 2010. Spherical crystallization: A tool of particle engineering for making drug powder suitable for direct compression. *Int J Pharm Res Dev*. 1. 1-10.
- Guzzo M R, Semi M, Donate P M, Nikolaou S, Antonio Eduardo H, Machado A E H, Okano L T A. 2006. Study of the complexation of fisetin with cyclodextrins. *Journal Phys Chem*. 110 (36). 10545-10555.

- Hu-Jun, X., Wang-Shu, M., Fu-Rong, L., Jie-Hui, X., LEI Qun-Fang, L., Wen-Jun, F. 2013. Radical Scavenging Activity of Myricetin. *Acta Phys. -Chim. Sin.* 29 (7). 1421-1432.
- Hong, C., Dang ,Y., Lin,G.,Yao, Y.,Li, G.,Ji, G., Shen ,H.,Xie, Y. 2014. Effects of Stabilizing Agents on The Development of Myricetin Nanosuspension and its Characterization: An in Vitro and in Vivo Evaluation, *International Journal of Pharmaceutics.* 477. 251–260
- Javadzadeh, Y., Vazifehasl, Z., Dizaj, S.M and Mokhtarpour, M. 2015. Advanced Topics in Crystallization : Spherical crystallization of drugs. *Intech.* 4. 85-104
- Kawakami, K.. 2012. Modification of physicochemical characteristics of active pharmaceutical ingredients and application of supersaturable dosage forms for improving bioavailability of poorly adsorbed drugs. *Advanced Drug Delivery Reviews.* 64. 480-495
- Kovacic, B., Vrečer, F., Planinsek, O. 2012. Spherical crystallization of drugs. *Acta Pharm.* 62. 1–4
- Maghsoodi M. 2015. Role of solvents in improvements of dissolution rate of drugs: Crystal habit and crystal agglomeration. *Adv Pharm Bull.* 5. 13-8.
- Paradkar, R., Pawar, A. P., Mahadik, K. R and Kadam, S. S. 1998. Spherical crystallization: A novel particle design technique. *Indian Drugs.* 31. 229–233
- Pawar, P. H., Mahadik, K. R and Paradkar, A. R.. 1998. Evaluation of tableting properties of agglomerates obtained by spherical crystallisation of trimethoprim. *Indian J. Pharm. Sci.* 60. 24–28.
- Parmar, S.S., Mishra, R., Shirolkar, S.V. 2016. *Spherical Agglomeration A Novel Approach For Solubility And Dissolution Enhancement Of Simvastatin.* *Asian J Pharm Clin Res.* 9. 65-72.
- Ronak, I.P., Dheeraj, T., Amarjit, P.R. 2013. Development and In-vivo Characterization of SMEEDS(Self-Microemulsifying Drug Delevery System) for Gemvibrozil. *Academia Sciences.* 5. 793-800.
- Seguin, J., Brullé, L., Boyer, R., Lu, Y.M., Romano, M.R., Touil, Y.S., Scherman, D., Bessodes, M., Mignet, N and Chabot, G. G. 2013. Liposomal encapsulation of the natural flavonoid fisetin improves bioavaibility and antitumor efficacy. *International Journal of Pharmaceutics.* 444. 146-154.
- Sevukarajan, M., Thamizhvanan, K., Sodanapalili, R., Babu, S J. M., Naven, K. B.,Sreekanth, R. B., Sethu, K. J., Vivekananda, U., Sarada, K., Hyandavi, N., Hima, B. R and Roopa, L.K. \2012. Crystal engineering technique – An emerging approach to modify physicochemical properties of active pharmaceutical ingredient. *International Journal of Chemical and Pharmaceutical Sciences.* 3 (1). 11-29
- Sowa,M., Sepokura, K.. Matczak -Jon, E. 2014. Improving solubility of fisetin by cocrystallization. *CrysEngCom.* 16: 10592-10601.
- Thakur, A., Thipparabiona, R., Kumar, D., Kodukula, S.G., Shastri, N.R. 2016. Crystal engineered albendazole with improved dissolution and material attributes.*CrystEngComm.*18:1489-94