

# Pengaruh Dispersi Padat Irbesartan-Poloxamer 188 Terhadap Tekanan Darah dan Kadar Nitric Oxide (NO) Pada Tikus Putih Jantan

(The Effect of Solid Dispersion of Irbesartan-Poloxamer 188 on Blood Pressure and Nitric Oxide (NO) on White Male Rat)

**Fifi Harmely<sup>1\*</sup>, Ellyza Nasrul<sup>2</sup>, Salman Umar<sup>3</sup>, Erizal Zaini<sup>3</sup>, Yufri Aldi<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Program Doktor Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Andalas

<sup>2</sup>Departemen Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Andalas

<sup>3</sup>Departemen Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Andalas

**ABSTRACT:** The effect of irbesartan-poloxamer 188 solid dispersion on *nitric oxide* (NO) levels in male hypertensive white rats had been carried out. Induction of hypertension on rats was used prednisone 1.5 mg / kgBW with 2.5% NaCl. In this study experimental animals were grouped into 4 groups. Group I (negative control) was given a standard food, group II (positive control) was given prednisone 1.5 mg / kgBW and 2.5% NaCl, group III was given irbesartan intact, group IV was given irbesartan-poloxamer 188 (1: 0.5). A solid dispersions of irbesartan-poloxamer 188 were proven to reduce blood pressure compared to positive controls and increase *Nitric Oxide* (NO) levels. There are significant differences in Nitric Oxide (NO) levels given by irbesartan intact and irbesartan-poloxamer 188 solid dispersion in hypertensive male white rats. The administration of irbesartan-poloxamer 188 (1: 0.5) solid dispersion showed better results compared to irbesartan intact ( $P < 0.05$ ).

**Keyword:** hypertension; *nitric oxide*; irbesartan; poloxamer 188; solid dispersion.

**ABSTRAK:** Penelitian tentang pengaruh dispersi padat irbesartan-poloxamer 188 terhadap kadar *Nitric Oxide* (NO) pada tikus putih jantan hipertensi telah dilakukan. Penginduksi hipertensi yang digunakan adalah prednison 1,5 mg/kgBB dengan NaCl 2,5%. Pada penelitian ini hewan percobaan dikelompokkan menjadi 4 kelompok. Kelompok I (kontrol negatif) diberikan makanan tikus dan minum, kelompok II (kontrol positif) diberikan penginduksi prednison 1,5 mg/kgBB dan NaCl 2,5%, kelompok III diberikan irbesartan nondispersi, kelompok IV diberikan irbesartan-poloxamer 188 1:0,5. Sediaan uji dalam bentuk dispersi padat irbesartan-poloxamer 188 terbukti dapat menurunkan tekanan darah dibandingkan terhadap kontrol positif dan meningkatkan kadar Nitric Oxide (NO). Ada perbedaan kadar *Nitric Oxide* (NO) yang diberikan irbesartan non dispersi dan dispersi padat irbesartan-poloxamer 188 pada tikus putih jantan hipertensi. Pemberian sediaan irbesartan-poloxamer 188 1:0,5 menunjukkan hasil yang lebih baik dibandingkan dengan sediaan irbesartan nondispersi ( $P < 0,05$ ).

**Kata kunci:** hipertensi; *nitric oxide*; irbesartan; poloxamer 188; dispersi padat.

## Pendahuluan

Pengaruh formulasi terhadap mutu obat dapat terjadi, walaupun secara kimia memiliki kesamaan dalam hal zat aktif, namun obat yang memiliki kandungan zat aktif yang sama bisa saja memiliki ketersediaan hayati yang berbeda bila formulasi dan bentuk sediaanya berbeda, yang akan berpengaruh pada efikasi/kemanjuran suatu obat [1]. Usaha untuk meningkatkan ketersediaan hayati dapat dilakukan dengan teknik dispersi padat. Dispersi padat merupakan metoda modifikasi suatu obat yang paling praktis untuk meningkatkan kelarutan dan bioavailabilitas obat yang sukar larut air [2].

Dispersi padat yaitu proses dispersi padat dari satu atau lebih bahan aktif ke dalam suatu pembawa atau matriks inert dalam keadaan padat. Berbagai pembawa dapat digunakan pada sistem dispersi padat, diantaranya: polyethylene glycol (PEG), polyvinyl piroolidone (PVP), urea, manitol dan poloxamer [3].

Obat golongan *angiotensin II receptor blockers* (ARB) dan *Angiotensin-converting enzyme* (ACE) merupakan salah satu terapi pertama pada kondisi hipertensi seperti gagal jantung, paska infark miokardial, resiko tinggi penyakit koroner, diabetes melitus, gagal ginjal kronik, pencegahan serangan

Access this article



\*Corresponding Author: Fifi Harmely

Fakultas Farmasi, Universitas Andalas, Jalan Universitas Andalas, Limau Manis, Pauh, Kota Padang, Sumatera Barat 25163 | Email: [harmelyfifi@yahoo.co.id](mailto:harmelyfifi@yahoo.co.id)

stroke berulang. Namun inhibitor ACE memberikan efek samping batuk, banyaknya konsekuensi negatif karena beberapa efek inhibitor ACE dapat menyebabkan meningkatnya level bradikinin. ARB dipilih karena memiliki efek samping yang lebih rendah dari antihipertensi lainnya [4]. Irbesartan memiliki kelarutan yang rendah, permeabilitas tinggi (BCS kelas II) serta bioavailabilitas oral yang kecil yaitu 26% [2] dan 60-80% [5].

Pada keadaan gangguan fungsi endotel, maka terjadi ketidakseimbangan substansi vasodilatasi dan vasokonstriksi sehingga dapat terjadi hipertensi [6]. Salah satu komponen penting yang berperan pada relaksasi vaskular adalah *nitric oxide* (NO). *Nitric Oxide* (NO) dikenal sebagai *endothelium-derived relaxing factors* (EDRF) yang memiliki peran penting dalam menjaga homeostasis vaskular [7].

Pada penelitian ini digunakan pembawa hidrofilik yaitu poloxamer 188. Poloxamer adalah suatu kopolimer nonionik yang terdiri dari etilen oksida dan propilen oksida yang bersifat hidrofilik [8]. Poloxamer 188 secara empiris dipilih untuk mempersiapkan dispersi padat karena titik leleh yang rendah (sekitar 52-57°C), dan sifat surfaktannya [9].

Dari penelitian sebelumnya, telah dilakukan kajian sifat fisikokimia dispersi padat irbesartan-poloxamer 188, menunjukkan bahwa dispersi padat irbesartan-poloxamer 188 dapat meningkatkan kelarutan dan laju disolusi irbesartan (Bahirah, 2016). Berdasarkan hal di atas, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh dispersi padat irbesartan-poloxamer 188 terhadap tekanan darah dan kadar *Nitric oxide* (NO) pada tikus putih jantan hipertensi dengan menggunakan alat spektrofotometer BIO-RAD.

## Metode Penelitian

### Alat

Timbangan analitik, wadah hewan, timbangan hewan, jarum oral, sentrifugator, tabung sentrifuge, lumpang dan stamfer, lemari pendingin, alat pengukur tekanan darah tikus CODA (Non invasive Blood Pressure System) alat spektrofotometer BIO-RAD dan alat gelas laboratorium.

### Bahan

Irbesartan, poloxamer-188, etanol 96%, HCl, aquadest, prednisone tablet, NaCl, tween 80, Na.CMC, kloroform, dan Kit *Nitric Oxide colorometric Assay*.

### Pembuatan Dispersi padat

Dispersi padat irbesartan-poloxamer 188 dibuat dengan metode pelarutan. Irbesartan ditimbang dengan perbandingan ( 1: 0,5). Masing-masing irbesartan dan

poloxamer 188 dilarutkan dengan etanol 96%, kemudian campuran larutan yang dihasilkan dikeringkan dalam oven vakum pada suhu 400 sampai kering. Padatan yang dihasilkan digerus dalam kemudian diayak dengan mesh 60 dan disimpan dalam desikator.

### Penyiapan dan pembuatan Suspensi prednison dan NaCl

Penginduksi hewan percobaan digunakan larutan dari kombinasi prednison 1,5 mg/kgBB dengan NaCl 2,5 % di dalam tween 80. Penginduksian dilakukan secara per oral 1 kali sehari selama 14 hari untuk memperoleh tekanan darah hipertensi di atas normal [10].

### Dosis sediaan Uji

Dosis yang dipakai untuk tikus dengan berat 200 gram adalah 2,7 mg atau sama dengan 13,5 mg/kgBB.

### Pembuatan sediaan uji

Na CMC ditimbang sebanyak 500 mg ditaburkan dalam air panas sebanyak 1 ml, sehingga diperoleh massa yang transparan lalu digerus, masukan irbesartan nondispersi, dispersi padat irbesartan-poloxamer 188 sesuai dengan dosis masing-masing dalam keadaan terpisah gerus sampai homogen, encerkan dengan aqua destilata sehingga 100 ml.

### Penginduksian dan pemberian sediaan uji

Hewan percobaan diaklimatisasikan selama 7 hari, selanjutnya hewan percobaan dikelompokkan menjadi 4 kelompok setiap kelompok terdiri dari 6 ekor sesuai dengan berat badan.

1. Kelompok I sebagai kontrol negatif, yang hanya diberikan makanan standar tikus dan minum.
2. Kelompok II sebagai kelompok positif, yang diberikan penginduksi (prednison 1,5 mg/kgBB dan NaCl 2,5%).
3. Kelompok III sebagai kelompok uji yang diberikan Penginduksi dan Irbesartan nondispersi.
4. Kelompok VI sebagai kelompok uji yang diberikan Penginduksi dan dispersi padat 1:0,5.

Pada kelompok I hanya diberikan minuman dan makanan tikus, kelompok II – IV dilakukan penginduksian selama 14 hari, pada hari ke 15 kelompok I dan II dilakukan pengambilan darah hewan percobaan, kelompok III dan IV diberikan sediaan uji pada hari ke 15-21 dan pada hari ke 22 dilakukan pengambilan darah hewan percobaan.

### Pengukuran tekanan darah pada tikus putih jantan

Sebelum dilakukan pengukuran tekanan darah, alat CODA yang telah terhubung dengan komputer. Setelah itu, hewan dimasukkan dalam tabung selongsong, kemudian olesi secukupnya dengan gel pada bagian ekor, setelah itu jepit ekor tikus dengan alat sensor pengukur tekanan darah serta letakkan dua buah bola lampu dibagian atas ekor. Setelah kondisi hewan percobaan mulai kondusif, lakukan pengukuran tekanan darah dengan alat CODA untuk mengamati tekanan darah (tekanan darah sistolik dan diastolik) yang terbaca oleh komputer. Pengukuran tekanan darah pada kelompok I dan II diukur pada hari ke 15 dan kelompok III dan IV diukur pada hari ke 22.

### Pengukuran kadar NO serum tikus putih jantan

Sebelum pengambilan darah hewan percobaan dipuasakan selama 12 jam. Pengambilan darah dilakukan melalui mata tikus putih jantan vena *ophthalmicus* dengan pipa kapiler. Darah yang mengalir lewat pipa kapiler ditampung dalam tabung ependrof kira-kira sebanyak 0,5 ml. Pemeriksaan kadar NO dilakukan dengan menggunakan Kit *Nitric Oxide colorimetric Assay* dan alat spektrofotometer produksi Bio-Rad. Jumlah sumur pada plat mikrotiter yang digunakan sebanyak 54 buah yang terdiri dari 6 sumur standar, 24 sumur blanko dan 24 sumur serum sampel.

Pemeriksaan kadar NO serum dilakukan dengan cara memipet 85  $\mu$ L serum sampel dan tambahkan 115  $\mu$ L Assay Buffer ke dalam sumur serum sampel. Tambahkan 5  $\mu$ L *Nitrate Reductase* dan tambahkan 5  $\mu$ L *Enzyme Cofactor*. Tutup plat dan inkubasi dalam temperatur ruangan selama 1 jam untuk mengubah nitrat menjadi nitrit. Setelah itu, tambahkan 5  $\mu$ L *Enhancer* dan inkubasi selama 10 menit. Kemudian tambahkan 50  $\mu$ L Griess Reagen R1 dan 50  $\mu$ L Griess Reagen R2 ke dalam sumur serum sampel. Untuk sumur blanko, pipet 85  $\mu$ L serum dan tambahkan 115  $\mu$ L *Assay Buffer* masukkan ke dalam sumur blanko. Sedangkan untuk sumur standar, dibuat 6 seri konsentrasi dengan cara memipet 0  $\mu$ L, 2  $\mu$ L, 4  $\mu$ L, 6  $\mu$ L, 8  $\mu$ L, dan 10  $\mu$ L larutan *Nitrate Standard* kemudian ditambahkan *Assay Buffer* sampai volume 85 $\mu$ L. Kemudian *Microplate* dimasukkan ke dalam *plate reader* spektrofotometer-BioRad®, absorban diukur pada panjang gelombang 540 nm.

### Data Hasil Penelitian

Data hasil penelitian yang didapatkan diolah dengan uji Statistik (ANOVA) satu arah dan Uji Duncan's untuk melihat perbedaan kelompok uji dengan tekanan darah dan kadar *nitric oxide* (NO).

## Hasil dan Diskusi

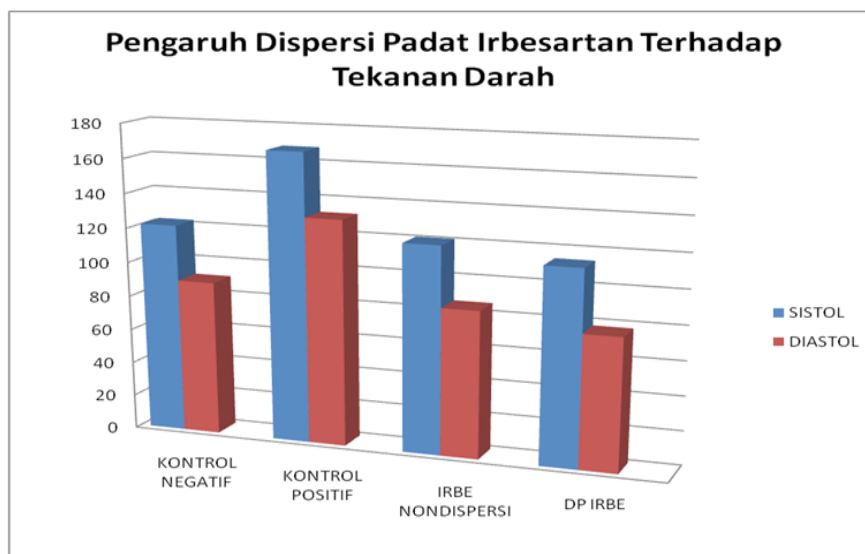
Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh dispersi padat irbesartan dengan pembawa poloxamer 188 terhadap kadar *nitric oxide* (NO) pada tikus putih jantan hipertensi. Disamping itu juga untuk mengetahui perbedaan kadar *nitric oxide* (NO) dari pemberian irbesartan nondispersi dan dispersi padat irbesartan-poloxamer-188..

Untuk mengkondisikan tikus pada kondisi hipertensi, diberikan penginduksi kombinasi prednison dan NaCl. Pemberian sediaan penginduksi diberikan selama 14 hari. Dilihat dari penelitian [10] bahwa tekanan darah rata-rata setelah diinduksi dengan prednison 1,5 mg/Kg BB dan NaCl 2, 5% adalah sistolik 167,8 mmHg dan diastolik 131,3 mmHg dan dilanjutkan dengan pemberian sediaan pembanding dan sediaan uji pada hari ke 15 sampai hari ke 21 untuk kelompok III dan IV. Darah kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 20 menit untuk mendapatkan serum.

Hasil pemeriksaan terhadap tekanan darah tikus memperlihatkan bahwa setelah induksi terjadi peningkatan tekanan darah pada pada kelompok kontrol positif dibandingkan terhadap kelompok I sebagai kelompok kontrol negatif. Untuk melihat pengaruh matrik poloxamer 188 terhadap efektifitas pemberian obat dalam bentuk dispersi padat dibandingkan terhadap kelompok kontrol positif dan irbesartan non dispersi. Data memperlihatkan bahwa pemberian irbesartan non dispersi dan dispersi padat dapat menurunkan tekanan darah mendekati kepada kelompok kontrol negatif. Hasil pengujian statistik memperlihatkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara irbesartan non dispersi dan dispersi padat irbesartan. Hal ini memperlihatkan bahwa kemampuan irbesartan untuk menurunkan tekanan darah cukup baik, karena dosis sediaan yang diberikan sama. Modifikasi yang dilakukan melalui teknik dispersi padat akan terlihat dari kecepatan pelarutan dan disolusi yang nantinya mempercepat absorpsi obat [11] [Tabel 1](#) Berdasarkan [gambar 1](#) terlihat bahwa setelah diinduksi dengan prednison dan NaCl, tekanan darah tikus (sistol dan diastol) meningkat dibandingkan dengan kontrol negatif, selanjutnya pemberian irbesartan nondispersi dan dispersi padat irbesartan-poloxamer dapat menurunkan tekanan darah tikus mendekati kepada kelompok kontrol negatif, tetapi tidak terdapat perbedaan yang bermakna, hal ini disebabkan karena induksi hanya dilakukan dalam waktu yang pendek ( 15 hari ) dan pemberian irbesartan dengan dosis yang sama setiap harinya, sehingga sangat sulit melihat kecepatan tercapainya efek pada tikus yang sudah diinduksi. Setelah dilakukan uji statistik tidak

**Tabel 1.** Hasil pengukuran tekanan darah tikus putih pada kelompok uji

No sampel	KontrolNegatif ( mmHg)	Kontrol positif ( mmHg)	Irbesartan nondispersi ( mmHg)	Dispersi padat Irbesartan ( mmHg)
1	126/90	171/130	137/100	112/79
2	125/98	168/131	111/74	108/83
3	118/79	170/135	119/88	110/72
4	124/97	161/126	134/99	117/83
5	127/92	175/137	104/81	115/73
6	113/85	162/129	118/72	118/74
<b>Rata-rata ± SD</b>	<b>122,1 ± 5,49/ 90,1 ± 7,25</b>	<b>167,8 ± 5,42/ 131,3 ± 4,03</b>	<b>120,5 ± 12,85/ 85,6 ± 12,11</b>	<b>113,3 ± 3,98/ 77,3 ± 5,01</b>



**Gambar 1.** Hasil pengukuran tekanan darah (sistol dan diastol) pada kelompok uji

terdapat perbedaan yang signifikan antara pemberian irbesartan nondispersi dengan dispersi padat irbesartan ( $p > 0,05$ ).

Pemeriksaan kadar NO serum tikus dilakukan dengan menggunakan suatu reagen yaitu reagen Griess. Reagen Griess terdiri dari Griess 1 dan Griess 2. Griess 1 (sulfanilamide) dengan nitrit akan membentuk garam diazonium kemudian ditambahkan griess 2 (N-1 naphthyl ethylene diamine) akan membentuk senyawa azo yang akan menghasilkan warna merah muda. Warna inilah yang akan diserap oleh alat spektrofotometer Bio-rad untuk mendapatkan konsentrasi dari NO. Semakin pekat warnanya maka semakin tinggi konsentrasi NO pada serum [Tabel 2](#).

Berdasarkan [gambar 2](#), Rata-rata kadar NO paling tinggi ditunjukkan pada kelompok dispersi padat irbesartan-poloxamer 188 1:0,5 yaitu 0,030544 nmol/ $\mu$ l. Ini menunjukkan bahwa pemberian dispersi padat

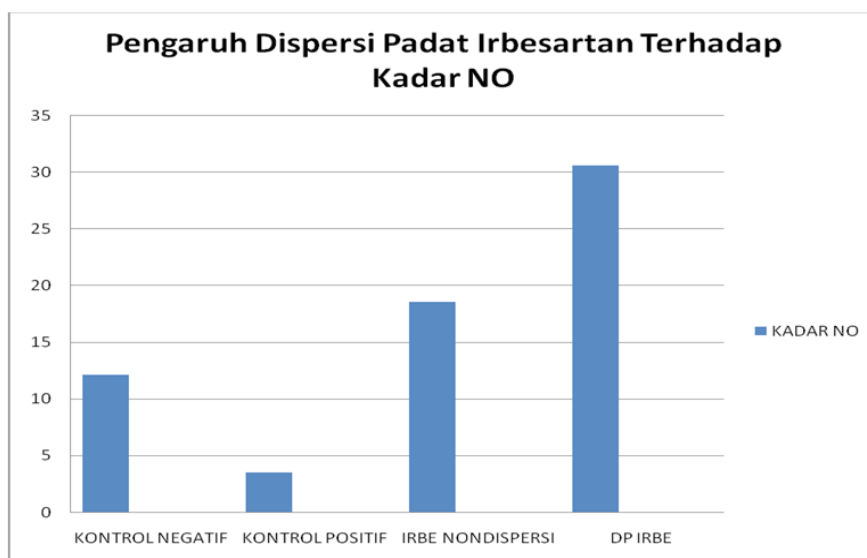
irbesartan-poloxamer 188 dapat mempengaruhi kadar NO pada tikus hipertensi, sedangkan pada kelompok irbesartan nondispersi menunjukkan rata-rata kadar NO yaitu 0,01685 nmol/ $\mu$ l. Ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan antara kadar NO pada kelompok irbesartan nondispersi dan dispersi padat irbesartan-poloxamer 188 ( $p < 0,05$ ).

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa dispersi padat dengan pembawa poloxamer 188 1:0,5 memberikan efek peningkatan kadar rata-rata Nitric Oxide (NO) serum dengan konsentrasi Nitric Oxide (NO) yang lebih tinggi karena pembawa poloxamer 188 yang bersifat sebagai surfaktan, surfaktan pada konsentrasi rendah menurunkan tegangan permukaan dan menaikkan laju pelarutan obat (Shargel et al, 2012) dengan meningkatnya laju pelarutan suatu obat maka efek yang diharapkan juga tercapai.

Pada penelitian sebelumnya, telah dilakukan kajian

**Tabel 2.** Hasil Pemeriksaan NO pada tikus

No sampel	Kontrol Negatif ( nmol/μl) x 10 <sup>-3</sup>	Kontrol positif ( nmol/μl)x 10 <sup>-3</sup>	Irbesartan nondispersi ( nmol/μl)x 10 <sup>-3</sup>	Dispersi padat Irbesartan ( nmol/μl)x 10 <sup>-3</sup>
1	11,005	4,882	18,785	33,814
2	11,115	4,357	12,903	30,170
3	12,523	1,044	12,713	26,698
4	14,838	2,941	23,624	31,726
5	10,273	3,244	17,969	28,595
6	12,888	4,546	15,199	32,265
<b>Rata-rata ± SD</b>	<b>12,107 ± 1,66</b>	<b>3,502 ± 1,42</b>	<b>16,6855 ± 4,15</b>	<b>30,544 ± 2,59</b>



**Gambar 2.** Hasil pengukuran kadar NO dalam serum pada kelompok uji tikus

sifat fisikokimia dispersi padat irbesartan-poloxamer 188, dilihat dari evaluasi difraksi sinar-X pada formula dispersi padat irbesartan-poloxamer 188 1:0,5 mengalami penurunan intensitas yang artinya terjadi perubahan bentuk kristal menjadi amorf dimana bentuk amorf ini lebih larut dari pada kristal, dari hasil analisis distribusi ukuran partikel dispersi padat irbesartan-poloxamer 188 1:0,5 memiliki ukuran partikel yang lebih kecil, serta laju disolusi dispersi padat menunjukkan peningkatan laju disolusi tertinggi pada dispersi padat 1:0,5 [12].

### Kesimpulan

Dispersi padat irbesartan dengan pembawa poloxamer 188 terbukti dapat menurunkan tekanan darah serta meningkatkan kadar NO pada tikus putih jantan hipertensi.

Pemberian sediaan irbesartan-poloxamer 188 1:0,5

menunjukkan hasil yang lebih baik dibandingkan dengan pemberian irbesartan non dispersi (P<0,05) terhadap kadar NO dalam serum, tetapi tidak terdapat perbedaan yang signifikan terhadap tekanan darah tikus (p> 0,05).

### Referensi

- [1] Abdou, H. M., 1989, Dissolution, Bioavailability and Bioequivalence, Mark Publishing Company Easton: Pennsylvania
- [2] Kumar, G. A., Ram, K. C & CH. C., 2011, Enhancement of Solubility and Dissolution Rate of Irbesartan by Solid Dispersion Technique. Asian, Journal of Pharmaceutical and Clinical Research, vol.4, issue 2, ISSN 0974-2441.
- [3] Sharma, R. Monika., Rajeev Garg., G.G. Gupita. 2013. Formulation and evaluation of Solid Dispersion of Atrovastatin Calcium. Journal of Pharmaceutical and Scientific Innovation., vol. 2. 4: 73-81.
- [4] Dipiro & Joseph.T., 2005. Pharmacotherapy: A Pathophysiologic Approach, Sixth Edition. The McGraw-Hill Companies, Inc: USA.
- [5] Chawla, G. & Bansal, A.K., 2007. A comparative assessment of solubility advantage from glassy and crystalline forms of a water-insoluble drug. Eur. J. Pharm. Sci. 32: 45-57.

- [6] Goodman & Gilman, 2010. Manual Farmakologi dan Terapi (hal 507). Penerbit buku kedokteran EGC. Jakarta.
- [7] Carr, A., McCall, M. & Frei, B., 2000. Oxidation of LDL myeloperoxidase and reactive nitrogen species : reaction pathways and antioxidant protection. Arterioscler Thromb Vasc Biol. ,Hal.1716.
- [8] Hang, Y., Myung-Kwan C. & Hoo-Kyun, C., 2017. No Title. Preparation and Characterization of Piroxicam/Poloxamer Solid Dispersion Prepared by Melting Method and Solvent Method, J Korean Pharm Sci., 37:1–5.
- [9] Ghareeb, Alla, A. A., Ahmed A. H. and Mohammed I. N., 2009. Kneading Technique for Preparation of Binary Solid Dispersion of Meloxicam with Poloxamer 188, AAPS PharmSciTech., vol.10, no.4.
- [10] Wahyudi, F. 2016. Uji Efek Antihipertensi Dari Dispersi Padat Irbesartan Dengan Pembawa Poloxamer 188 Dan Pembawa Polivinil Piroolidon (PVP) K-30 Pada Tikus Putih Jantan, STIFI. Padang.
- [11] Shargel, L., Wu-Pong, S., and Yu, A.B.C., 2012, Biofarmasetika dan Farmakokinetika Terapan. Terjemahan oleh Budi Suprpti, Edisi Kelima, Airlangga University Press: Surabaya
- [12] Bahirah, A, 2016. Kajian Sifat Fisikokimia Dispersi Padat Irbesartan Dengan Poloxamer 188. STIFI. Padang.



Copyright © 2018 The author(s). You are free to share (copy and redistribute the material in any medium or format) and adapt (remix, transform, and build upon the material for any purpose, even commercially) under the following terms: Attribution — You must give appropriate credit, provide a link to the license, and indicate if changes were made. You may do so in any reasonable manner, but not in any way that suggests the licensor endorses you or your use; ShareAlike — If you remix, transform, or build upon the material, you must distribute your contributions under the same license as the original (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>)