

PENETAPAN KADAR AMIODARON HIDROKLORIDA DALAM TABLET MENGUNAKAN METODE RP HPLC- UV

By asmiyenti djaliasrin djali

PENETAPAN KADAR AMIODARON HIDROKLORIDA DALAM TABLET MENGGUNAKAN METODE RP HPLC-UV

RP HPLC-UV METHOD FOR DETERMINATION OF AMIODARONE HYDROCHLORIDE IN TABLET FORMULATION

Asmiyenti Djaliasrin Djalil, Rosa Kumala, Resita Subagio

Laboratorium Kimia Analisis, Jurusan Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Purwokerto, Purwokerto

Naskah diterima tanggal 22 Oktober 2018

ABSTRACT

Reverse Phase High Performace Liquid Chromatography-UV (RP HPLC-UV) method was developed for the determination of amiodarone hydrochloride in tablet formulations. Liquid chromatography using a Shim-pack CLC-ODS column (C18) has been used for the separation with a UV detector at a wavelength of 242 nm. The isocratic elution was carried out using a mixture of methanol : acetonitrile : buffer (25 mM KH_2PO_4 + 3 mM H_2SO_4 + 3.6 mM triethylamine) (63:12:25, v/v/v) at flow rate of 0.8 ml/minute. This method was validated by determining of limit of detection, limit of quantitation, linearity, range, precision and accuracy. The method demonstrates good linearity over the range of 2-10 $\mu\text{g mL}^{-1}$ of amiodarone hydrochloride. The high recovery and low standard deviation confirm the suitability for the routine analysis of amiodarone hydrochloride in tablet formulation.

Keywords : amiodarone hydrochloride, tablet formulation, RP-HPLC.

ABSTRAK

Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi Fase Balik – Ultra Violet (KCKT FB – UV) telah dikembangkan untuk menentukan kadar amiodaron hidroklorida dalam tablet. Metode kromatografi cair menggunakan kolom Shim-pack CLC-ODS column (C18) untuk pemisahan dengan detektor UV pada panjang gelombang 242 nm. Elusi isokratik dilakukan menggunakan fase gerak campuran methanol : asetoneitril : buffer (25 mM KH_2PO_4 + 3 mM H_2SO_4 + 3,6 mM trietilamina) (63:12:25, v/v/v) dengan laju alir 0,8 mL/menit. Metode analisis divalidasi dengan parameter meliputi limit deteksi, limit kuantitasi, kisaran konsentrasi analisis, presisi, dan akurasi. Hasil validasi menunjukkan linearitas yang baik pada kisaran konsentrasi amiodaron hidroklorida 2-10 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Perolehan kembali yang tinggi dan standar deviasi pengukuran yang rendah menunjukkan bahwa metode ini sesuai untuk analisis rutin amiodaron hidroklorida dalam tablet.

Kata Kunci: amiodaron hidroklorida, formulasi tablet, RP-HPLC

PENDAHULUAN

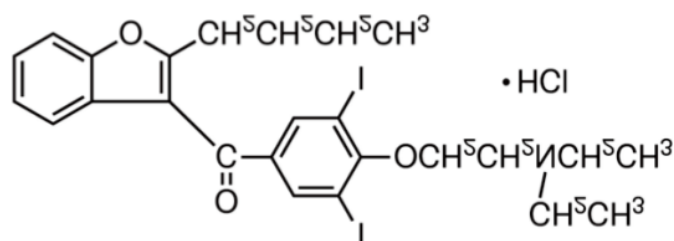
Amiodaron HCl merupakan obat antiaritmia. Obat antiaritmia merupakan obat-obat yang digunakan untuk menekan *cardiac arrhythmias* (detak jantung abnormal) seperti *atrial fibrillation*, *atrial flutter*, *ventricular tachycardia*, dan *ventricular fibrillation* (Gill et al., 1992). Dari sudut pandang farmakokinetik, amiodaron HCl menunjukkan beberapa sifat yang tidak menguntungkan, obat ini menunjukkan penyerapan gastrointestinal yang tidak menentu yang mengakibatkan bioavailabilitas oral yang bervariasi (20-80%) (van Herendaal & Dorian, 2010). Selain itu, amiodaron memiliki distribusi

pada jaringan tubuh yang besar dan waktu paruh eliminasi yang panjang (Wolkove & Baltzan, 2009). Amiodaron HCl telah diakui sebagai obat dengan kisaran terapi serum/plasma yang sempit (0,5-2,0 mg/mL) (Shayeganpour et al., 2008).

Amiodaron hidroklorida diformulasikan dalam bentuk tablet dan sediaan injeksi. Penelitian terdahulu menunjukkan adanya *impurities* / pengotor pada tablet/ injeksi amiodaron yang memiliki struktur kimia yang mirip yang kemungkinan berhubungan dengan produk samping pada saat sintesis maupun karena kestabilannya (Al-Rimawi, 2010). Struktur amiodaron hidroklorida dapat dilihat pada Gambar 1.

Berbagai metode analisis dikembangkan untuk menentukan kadar amiodaron HCl dalam

Alamat korespondensi :
asmiyentidjaliasrindjalil@ump.ac.id



Gambar 1. Struktur kimia amiodaron hidroklorida

sediaan farmasi maupun dalam cairan biologis. Metode spektroskopi seperti raman spektroskopi (Orkoula et al., 2007), spektrofotometri UV-Vis (Rahman et al., 2017; Rao et al., 2002) dan spektrofotometri UV derivatif (Di Pietra et al., 1988) telah berhasil digunakan. Beberapa metode HPLC juga telah dikembangkan untuk analisis amiodaron HCl (Rodrigues et al., 2013; Khan et al., 2005; Jun & Brocks, 2001; Di Pietra et al., 1988; Patil et al., 2015). Belum banyak metode analisis yang dikembangkan untuk sediaan tablet amiodaron HCl dengan menggunakan RP-HPLC. Pada penelitian ini dilakukan analisis amiodaron HCl dalam sediaan tablet menggunakan RP-HPLC dengan detektor UV. Metode analisis yang dikembangkan ini memiliki tahapan *pretreatment* yang sederhana dan mudah untuk analisis quality control pada sediaan farmasi. Validasi metode dilakukan menurut ICH guidelines yang meliputi akurasi; presisi; linearitas dan kisaran konsentrasi uji; Limit deteksi dan limit kuantitasi (ICH, 1994; ICH, 1996)

METODE

Alat

HPLC (Shimadzu LC-10), ultrasonikasi (Bronsonic), kolom C18 (Shimpack CLC-ODS) 4,6 mm x 25 cm), pompa vakum, vakum filter 0,45 μm , dan *micro syringe*.

Bahan

Standar amiodaron HCl (Sigma), 3 tablet amiodaron komersil (merk A, B, dan cordaron), metanol, dan asetonitril HPLC grade (Merck). KH_2PO_4 , H_2SO_4 , trietilamina, dan heksana diperoleh dari Merck. Akuabides diperoleh dari Otsuka.

Tahapan/Jalannya Penelitian

1. Pembuatan fase gerak

Fase gerak dan kondisi pengukuran dimodifikasi berdasarkan metode Jun & Brocks (2001). Fase gerak dibuat dengan mencampurkan metanol : asetonitril : buffer (25 mM KH_2PO_4 + 3 mM H_2SO_4 + 3,6 mM trietilamina) dengan perbandingan 63:12:25 (v/v/v). Larutan

fase gerak ini kemudian diultrasonikasi, dan disaring dengan filter berukuran 0,45 μm .

2. Pembuatan larutan standar

Larutan stok standar amiodaron HCl disiapkan dengan melarutkan 50 mg amiodaron HCl dalam labu ukur 50 ml, kemudian ditambahkan fase gerak, dan diawarudarkan (sonikasi) selama 30 menit. Larutan ditambahkan fase gerak sampai 50 mL. Selanjutnya larutan disaring menggunakan membran filter 0,45 μm . Larutan diencerkan sampai diperoleh larutan stok dengan konsentrasi 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (*Stock solution*). Larutan standar disiapkan dengan seri konsentrasi 2, 4, 5, 8, dan 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

3. Pembuatan larutansampel

Sepuluh tablet amiodaron HCl merk A, ditimbang satu per satu, kemudian digerus sampai berbentuk serbuk halus. Serbuk halus ini ditimbang sejumlah setara dengan 4 mg amiodaron HCl, ditambahkan dengan fase gerak lalu diawarudarkan selama 30 menit. Larutan ditambahkan fase gerak sampai volume 100 mL. Larutan diencerkan sepuluh kalinya. Pembuatan larutan sampel juga dilakukan untuk sampel B dan cordaron.

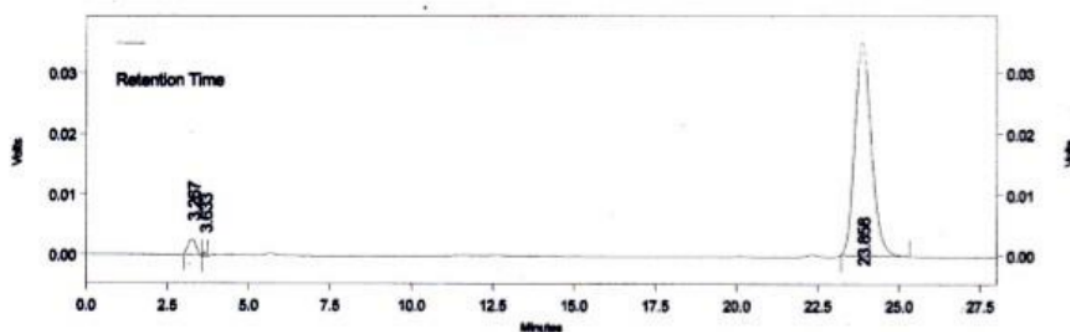
4. Validasi metode penentuan kadar amiodaron HCl

Linearitas dan kisaran

Larutan standar konsentrasi 2, 4, 5, 6, dan 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ diinjeksikan masing masing sebanyak 20 μL ke alat HPLC. Elusi dilakukan dengan fase gerak campuran methanol : asetonitril : buffer (25 mM KH_2PO_4 + 3 mM H_2SO_4 + 3,6 mM trietilamina) dengan perbandingan 63:12:25 (v/v/v), laju alir 0,8 ml/menit, dan detektor UV pada panjang gelombang 242 nm.

Limit deteksi dan limit kuantitasi

Limit deteksi (*limit of detection/LOD*) dan limit kuantitasi (*limit of quantitation/LOQ*) dihitung berdasarkan persamaan regresi linear yang diperoleh dari kurva kalibrasi pada uji linieritas. LOD dan LOQ berturut-turut didasarkan pada 3 dan 10 dari nilai *signal to noise*. Nilai LOD dan LOQ dapat diperoleh dengan menggunakan rumus berikut:



Gambar 2. Kromatogram standar amiodaron HCl konsentrasi 10 µg/mL. Fase gerak: metanol : asetonitril : buffer (25 mM KH₂PO₄ + 3 mM H₂SO₄ + 3,6 mM trietilamina) (63:12:25 (v/v/v), laju alir 0,8 ml/menit, detektor UV 242 nm

$$LOD = \frac{3Sy/x}{SI} \dots\dots\dots (1)$$

$$LOQ = \frac{3Sy/x}{SI} \dots\dots\dots (2)$$

Keterangan:

Sy/x = simpangan baku residual

SI = slope (nilai b pada persamaan kurva baku)

Presisi

Larutan amiodaron HCl dengan konsentrasi 5 µg/mL diinjeksikan sebanyak 6 kali pada alat HPLC dengan kondisi elusi seperti pada tahap uji linearitas. Nilai kadar yang diperoleh dari tiap replikasi ditentukan simpangan deviasinya.

Akurasi (% perolehan kembali)

Sebanyak 8,4 mg tablet cordaron yang sudah diserbukan (setara dengan 4,3 mg amiodaron HCl), ditambahkan dengan 3,7 mg baku amiodaron HCl dan dimasukkan dalam labu takar 100 mL. Larutan ini ditambahkan fase gerak dan diawarudarkan selama 30 menit. Setelah itu larutan ditambahkan fase gerak sampai 100 mL. Larutan diencerkan 10X, kemudian diinjeksikan pada alat HPLC dengan kondisi elusi yang sama dengan kondisi pada saat uji linieritas.

5. Penetapan kadar tablet amiodaron HCl

Larutan sampel A, B, dan cordaron, diinjeksikan pada alat HPLC dengan kondisi elusi yang sama dengan kondisi pada saat uji linieritas.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis kadar amiodarone HCl dilakukan dengan metode RP-HPLC menggunakan kolom C18. Pemisahan komponen-komponen sampel terjadi karena adanya perbedaan sifat kimia dan fisika, sehingga terdapat perbedaan

keseimbangan distribusi di dalam fase diam dan fase gerak untuk berbagai macam komponen dalam sampel. Hal ini menyebabkan diperolehnya pemisahan yang baik dalam waktu yang relatif singkat. Puncak yang dihasilkan pada kromatogram adalah baik dengan waktu retensi 23,858 menit (Gambar 2). Terdapat puncak kecil pada waktu retensi 3 menit yang kemungkinan disebabkan oleh adanya *impurities* pada fase gerak yang digunakan. Jun & Brocks (2001), menggunakan komposisi fase gerak yang sama dengan penelitian ini, namun fase diam yang digunakan adalah C8. Kolom C18 mengandung gugus alkil yang lebih panjang dibandingkan dengan C8 sehingga relatif lebih nonpolar. Perbedaan fase diam tersebut menyebabkan amiodaron HCl berinteraksi lebih kuat pada kolom C18 yang menyebabkan waktu retensi yang lebih lama. Waktu retensi pada kolom C8 adalah sekitar 10 menit.

Preparasi sampel yang dibutuhkan untuk analisis amiodaron HCl pada sampel plasma lebih rumit dibandingkan dengan pada sediaan tablet (Jun & Brocks, 2001). Diperlukan adanya tahapan ekstraksi cair-cair sebelum sampel dipisahkan dalam kolom dengan efisiensi ekstraksi mencapai 75,0-82,1%. Untuk analisis amiodaron HCl dalam tablet, tidak diperlukan

Tabel 1. Hasil pengukuran linieritas standar amiodaron HCl

No	Konsentrasi (µg/mL)	Area
1	2	240240
2	4	416124
3	5	552083
4	8	966356
5	10	1243198
Y-intersep		-61844
Slope		128525
Koefisien korelasi		0,9933

Tabel 2. Hasil uji presisi intraday pada larutan standar amiodaron HCl konsentrasi 5 µg/mL

Injeksi	Area
1	560399
2	552083
3	579152
4	558242
5	537772
Mean	557530
SD	14969
RSD	2,68%
Ketelitian alat	99,97%

tahapan *pretreatment* dengan ekstraksi cair-cair sebelum sampel diinjeksikan dalam kolom. *Pretreatment* sampel hanya dilakukan dengan bantuan ultrasonikasi untuk membantu pelarutan komponen matriks sampel, sehingga tahapan pengerjaan lebih sederhana.

Metode ini selanjutnya divalidasi sehingga diharapkan dapat digunakan untuk analisis amiodaron HCl secara rutin. Parameter berikut merupakan parameter yang digunakan untuk validasi metode analisis yang meliputi linearitas dan kisaran, LOD dan LOQ, serta presisi dan akurasi.

Linearitas dan kisaran

Linearitas luas area serangkaian konsentrasi larutan standar (2, 4, 5, 8, dan 10 µg/mL) telah diamati. Hasil uji menunjukkan bahwa metode ini menunjukkan hubungan yang linier pada konsentrasi yang diamati (2-10 µg/mL) dengan nilai R² sebesar 0,9933 (Tabel 1).

LOD dan LOQ

Sensitivitas suatu metode analisis dapat diketahui dari batas kadar terkecil yang dapat ditentukan untuk analisis kuantitatif. Tiap konsentrasi standar dihitung rasio *signal to noise*. Untuk LOD, respon analit harus tiga kali lebih besar dari respon *baseline noise*. Sedangkan untuk LOQ, respon analit harus sepuluh kali lebih besar dari respon *baseline noise*. Hasil uji menunjukkan bahwa nilai LOD adalah 0,90

µg/mL dan LOQ adalah 3,03 µg/mL.

Presisi

Presisi digunakan sebagai parameter untuk menentukan kedekatan nilai dari suatu replikasi pengukuran, yang tergambarkan dengan nilai SD atau RSD dari suatu replikasi pengukuran. Metode presisi yang dilakukan adalah metode presisi *intraday* pada konsentrasi standar amiodaron HCl 5 µg/mL dengan replikasi sebanyak 5 kali. Hasil pengukuran uji presisi dapat dilihat pada Tabel 2.

Hasil pengukuran menunjukkan bahwa metode yang digunakan memiliki nilai presisi yang baik (ICH, 1996). Tidak ada perbedaan yang nyata untuk ulangan pengukuran pada hari yang sama, oleh sebab itu metode ini dapat dipertimbangkan untuk diterima.

Akurasi

Nilai akurasi yang dinyatakan dengan persen perolehan kembali dapat dilihat pada Tabel 3. Nilai akurasi menunjukkan kedekatan nilai hasil analisis dengan nilai sebenarnya ketika bahan aktif terdapat dalam matriks sampel sebenarnya (dalam hal ini adalah tablet cordaron sebagai produk inovator). Nilai perolehan kembali dapat dilihat pada Tabel 3. Nilai perolehan kembali berkisar antara 97,9-102,8% dan menunjukkan nilai %RSD yang rendah (ICH, 1996). Berdasarkan data akurasi maka metode ini layak dipertimbangkan untuk dapat diaplikasikan untuk analisis rutin amiodaron HCl.

Penetapan kadar tablet amiodaron HCl

Metode uji yang sudah tervalidasi selanjutnya digunakan untuk menganalisis kadar amiodaron HCl pada sampel tablet A, B, dan cordaron. Data hasil analisis dapat dilihat pada Tabel 4.

Dengan menggunakan metode uji ini, tablet merk B yang dianalisis tidak memenuhi persyaratan menurut British Pharmacopoeia volume II (2001), yang menyebutkan bahwa dalam tablet amiodaron mengandung amiodaron HCl tidak kurang dari 95% dan tidak lebih dari 105,0% dari jumlah yang tertera pada etiket. Meskipun demikian, penyimpangan kadar zat aktif masih di bawah 20% dari batas yang ditetapkan.

Tabel 3. Hasil % perolehan kembali amiodaron

No	Berat terukur (mg)	Berat sebenarnya (mg)	Perolehan kembali (%)
1	7,27	7,42	97,9
2	7,53	7,43	101,3
3	7,63	7,42	102,8
		mean	100,7
		RSD	2,4%

Tabel 4. Hasil Analisis Tablet Amiodaron

Sampel	Replikasi	Persen kadar
Merk A	1	102,3
	2	99,4
	3	99,8
Merk B	1	88,8
	2	87,7
	3	92,4
Cordaron	1	98,7
	2	99,2
	3	98,9

KESIMPULAN

Metode analisis yang diusulkan menunjukkan hasil yang presisi dan akurat untuk analisis amiodaron HCl dalam tablet. Metode ini juga menunjukkan linieritas yang baik pada kisaran konsentrasi uji yang telah dilakukan. Dengan demikian metode ini telah tervalidasi dan dapat digunakan untuk analisis rutin amiodaron HCl dalam tablet.

1 AFTAR PUSTAKA

- Al-Rimawi, F. 2010. Validation of an HPLC-UV Method for the Determination of Amiodarone Impurities in Tablet Formulations. *Pharm Anal Acta* 1(1), 1000105.
- Di Pietra, A.M., Cavrini, V., Gatti, R., Raggi, M.A. 1988. Determination of Amiodarone Hydrochloride in Pharmaceutical Formulations by Derivative UV Spectrophotometry and High-Performance Liquid Chromatography (HPLC). *Pharm Res*, 5(11),709-712.
- 8 Gill, J., Heel, R.C. & Fitton, A. 1992. An Overview of its Pharmacological Properties, and Review of its Therapeutic Use in Cardiac Arrhythmias. *Drugs* 43(1), 69-110.
- ICH Topic Q2B: Validation of Analytical Procedures (CPMP/ICH/281/95), The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products, London, 1996, 1-9
- ICH Harmonised Tripartite Guideline Validation of analytical procedures: Text and methodology Q2 (R1), 1994.
- Jun, A.S., Brocks, D.R. 2001. High-Performance Liquid Chromatography Assay of Amiodarone in Rat Plasma. *J Pharm Pharm Sci*. 4(3), 263–268.
- 6 Khan, M.A., Kumar, S., Jayachandran, J., Vartak, S.V., Bhartiya, A. Sinha, S. 2005. Validation of a Stability Indicating LC Method for Amiodarone HCl and Related Substances. *Chromatographia*, 61(11-12), 599-607.
- 5 Orkoula, M.G., Kontoyannis, C.G., Markopoulou, C.K., Koundourellis, J.E. 2007. Validation of a Direct Non-Destructive Quantitative Analysis of Amiodarone Hydrochloride in Angoron® Formulations using FT-Raman Spectroscopy. *Talanta* 73(2), 258-261.
- Patil, S.S., Shaikh, Y.H., Patil, C.V., Wakode, S.J., Poul, B.N. 2015. Method Development and Validation of Amiodarone in Bulk and Pharmaceutical Dosage Form by RP-HPLC. *IJPAP*, 4(3), 365-380.
- 12 Rahman, N., Haque, S.K.M., Azmi, S.N.H., Rahman, H. 2017. Optimized and Validated Spectrophotometric Methods for the 11 termination of Amiodarone Hydrochloride in Commercial Dosage Forms using N-Bromosuccinimide and Bromothymol Blue. *Journal of Saudi Chemical Society* 21(1), 25-34.
- Rao, T.S., Rao, P.S.N.H.R., Prasad, U.V., Sastry, C.S.P. 2002. Spectrophotometric Determination of Amiodarone and Ondansetron with Precipitation Reagents. *Asian Journal of Chemistry*, 14(1), 217-222.
- Rodrigues, M., Alves, G., Ferreira, A., Queiroz, J., Falcão, A. 2013. A Rapid HPLC Method for the Simultaneous Determination of Amiodarone and its Major Metabolite in Rat Plasma and Tissues: a Useful Tool for Pharmacokinetic Studies. *Journal of Chromatographic Science*, 51(4), 361–370.
- Shayeganpour, A., Hamdy, D.A., Brocks, D.R. 2008. Pharmacokinetics of Desethylamiodarone in the Rat After its 19 Administration as the Preformed Metabolite, and After Administration of Amiodarone. *Biopharmaceutics & Drug Disposition* 29, 159–166.
- 7 van Herendaal, H., Dorian, P. 2010. Amiodarone for the Treatment and Prevention of Ventricular Fibrillation and Ventricular Tachycardia. *Vascular Health and Risk Management* 6, 465–472.
- Wolkove, N., Baltzan, M. 2009. Amiodarone Pulmonary Toxicity. *Canadian Respiratory Journal* 16, 43–48.

PENETAPAN KADAR AMIODARON HIDROKLORIDA DALAM TABLET MENGGUNAKAN METODE RP HPLC-UV

ORIGINALITY REPORT

17%

SIMILARITY INDEX

PRIMARY SOURCES

1	www.omicsonline.org Internet	59 words — 2%
2	" ABSTRACTS FROM THE 10 INTERNATIONAL ISSX MEETING ", Drug Metabolism Reviews, 2014 Crossref	47 words — 2%
3	www.degois.pt Internet	44 words — 2%
4	pt.scribd.com Internet	34 words — 1%
5	hdl.handle.net Internet	33 words — 1%
6	repositorio.ufsm.br Internet	30 words — 1%
7	revistas.bvs-vet.org.br Internet	25 words — 1%
8	docs.com Internet	25 words — 1%
9	es.scribd.com Internet	25 words — 1%
10	snkpk.fkip.uns.ac.id Internet	24 words — 1%

-
- 11 Rowena V. Ball, George M. Eckert, Felix Gutmann, Danny K. Y. Wong. "An electrochemical and spectrophotometric study of some charge-transfer complexes involving drug molecules in acetonitrile", *Electroanalysis*, 1996
Crossref 19 words — 1%
-
- 12 export.arxiv.org
Internet 19 words — 1%
-
- 13 media.neliti.com
Internet 17 words — 1%
-
- 14 www.ijpar.com
Internet 15 words — 1%
-
- 15 M.G. Orkoula, C.G. Kontoyannis, C.K. Markopoulou, J.E. Koundourellis. "Quantitative analysis of liquid formulations using FT-Raman spectroscopy and HPLC", *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2006
Crossref 14 words — < 1%
-
- 16 Wan Li, Xiangfeng Chen, Y.-L. Elaine Wong, Y.-L. Winnie Hung, Ze Wang, Liulin Deng, T.-W. Dominic Chan. "C18-attached membrane funnel-based spray ionization mass spectrometry for quantification of anti-diabetic drug from human plasma", *Analytica Chimica Acta*, 2016
Crossref 14 words — < 1%
-
- 17 www.science.gov
Internet 14 words — < 1%
-
- 18 www.cps.zju.edu.cn
Internet 11 words — < 1%
-
- 19 Márcio Rodrigues, Gilberto Alves, Nulita Lourenço, Amílcar Falcão. "Herb-Drug Interaction of (Guarana) Seed Extract on the Pharmacokinetics of Amiodarone in Rats", *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2012
Crossref 9 words — < 1%
-

Refilda Suhaili. "PENENTUAN KANDUNGAN ANTIOKSIDAN

20 DALAM RIMPANG KENCUR YANG DIEKSTRAKSI DENGAN BANTUAN GELOMBANG ULTRASONIK", CHEMPUBLISH JOURNAL, 2018
Crossref 9 words — < 1%

21 www.emedicinehealth.com
Internet 8 words — < 1%

22 R. K. Gilpin, C. S. Gilpin. "Pharmaceuticals and Related Drugs", Analytical Chemistry, 2009
Crossref 6 words — < 1%

EXCLUDE QUOTES OFF
EXCLUDE BIBLIOGRAPHY ON

EXCLUDE MATCHES OFF