UNIVERSITATEA DIN BUCUREŞTI

FACULTATEA DE CHIMIE

ŞCOALA DOCTORALĂ ÎN CHIMIE

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

STUDIUL FIZICO-CHIMIC AL UNOR AMESTECURI CU APLICAȚII ÎN INDUSTRIA FARMACEUTICĂ

Doctorand:

Daniela-Crina Marinescu

Conducător doctorat:

Prof. Dr. Viorica Meltzer

2013

CUPRINS (numerotarea paginilor este cea din teza de doctorat)

Introducere 6

Partea I: DATE DE LITERATURĂ 10
Capitolul 1. Considerente din literatură asupra studiului unor compuși de interes farmaceutic, singulari și în amestecuri 11
1.1. Considerente generale 11
1.2. Biodisponibilitate și bioechivalență 15
Capitolul 2. Metode și teorii utilizate în studiul unor compuși de interes farmaceutic, singulari și în amestec 17
2.1. Considerente generale 17
2.2. Tehnici de analiză termică 18
2.2.1. Termodinamica procesului de topire în sistem binar 19
2.2.2. Caracterizarea fizico-chimică a unui amestec binar cu eutectic simplu 21
2.3. Tehnici microscopice 27
2.4. Tehnici de difracție 29
2.5. Tehnici spectroscopice 31
Capitolul 3. Sisteme utilizate în realizarea tezei 34
3.1. Dispersii solide 34
3.1.1. Generalități asupra dispersiilor solide 34
3.1.2. Metode de obținere a dispersiilor solide 36
3.2. Principii active și excipienți utilizați în realizarea tezei 38
3.2.1. Principii active 38
3.2.2. Excipienți 43

DATE ORIGINALE 51
Partea a II-a: Sisteme multicomponente cu aplicații în tratamentul hipertensiunii arteriale ca patologie unică sau polipatologie 52
Capitolul 4. Sistemul Clorhidrat de Propafenonă-Tartrat de Metoprolol 53
4.1. Importanța studiului 53
4.2. Materiale și metode 54
4.3. Studiul experimental 56
4.3.1. Caracterizarea amestecului binar PP-TM 56
4.3.2. Caracterizarea a amestecurilor cu excipienți pentru determinarea compatibilității 67
4.4. Concluzii 73
Capitolul 5. Sistemul Captopril-Tartrat de Metoprolol 74
5.1. Importanța studiului 74
5.2. Materiale și metode 75

5.3. Studiul experimental 76
5.3.1. Caracterizarea structurală a amestecului binar CA-TM 76
5.3.2. Caracterizarea termică a amestecului binar CA-TM 80
5.3.3. Izomerizarea trans-cis a CA în amestecul binar CA-TM 85
5.4. Concluzii 88
Partea a III-a: Sisteme multicomponente cu aplicații în tratamentul infecțiilor bacteriene și virale 89
Capitolul 6. Sistemul Metronidazol-Norfloxacină 90
6.1. Importanța studiului 90
6.2. Materiale și metode 91
6.3. Studiul experimental 92
6.3.1. Caracterizarea compușilor puri 92
6.3.2. Caracterizarea amestecului binar MZ-NF 98
6.4. Concluzii 105
Capitolul 7. Sistemul Aciclovir-Fluocinolon Acetonid 106
7.1. Importanța studiului 106
7.2. Materiale și metode 107
7.3. Studiul experimental 108
7.3.1. Caracterizarea compușilor puri 108
7.3.2. Caracterizarea amestecului binar ACV-FA 112
7.3.3. Complecşi de incluziune API_S-β-CD 120
7.4. Concluzii 126
Concluzii generale 127
Bibliografie 129
Listă de lucrări 138

(numerotarea tabelelor, figurilor și a trimiterilor bibliografice este cea din teza de doctorat)

Teza de doctorat cu titlul *„Studiul fizico-chimic al unor amestecuri cu aplicații în industria farmaceutică”* aduce date experimentale cu concluzii importante pentru un set de amestecuri binare și ternare formate din principii active și excipienți. Scopul studiului este determinarea compatibilității dintre componenți în vederea obținerii produselor farmaceutice combinate, plecând de la trialuri (terapie combinată) la scală largă care au stabilit efecte terapeutice superioare în comparație cu monoterapia pentru fiecare sistem studiat.

Tematica tezei de doctorat se situează într-un domeniu modern, de actualitate și de perspectivă a științelor chimice și farmaceutice în vederea optimizării medicamentelor. Gradul de noutate al studiilor întreprinse constă în alegerea judicioasă a sistemelor pentru care deși există premize terapeutice corespunzătoare nu au mai fost studiate până în prezent în amestec.

Teza de doctorat este sistematizată în două părți: o parte de literatură care cuprinde 3 capitole și o parte cu date experimentale, interpretări și comentarii originale care cuprinde 4 capitole.

Partea de literatură se axează în principal pe date referitoare la noțiunile fundamentale întâlnite în studiul unor compuși de interes farmaceutic respectiv metode și teorii utilizate în studiul acestora, fie singulari fie în amestec. De asemenea sunt prezentate noțiuni generale și metode de obținere a dispersiilor solide respectiv principii active și excipienți care sunt utilizați în partea originală.

Rezultatele și datele experimentale originale sunt grupate în două părți în funcție de aria de aplicabilitate farmacologică: sisteme cu aplicații în tratamentul hipertensiunii arteriale ca patologie unică sau polipatologie (**capitolul 4 și capitolul 5**) și sisteme cu aplicații în tratamentul infecțiilor bacteriene și virale (**capitolul 6 și capitolul 7**).

Capitolul 4. Sistemul Clorhidrat de Propafenonă (PP) - Tartrat de Metoprolol (TM)

Studiul experimental din cadrul acestui capitol urmărește două direcții: studiul interacțiilor Clorhidrat de Propafenonă-Tartrat de Metoprolol (sistem binar) și studiul interacțiilor stabilite între principiile active și doi excipienți uzuali, α-lactoză monohidrat (LA) și amidon din porumb (AMID) (sisteme binare și ternare).

Amestecurile binare formate din PP și TM de concentrații determinate au fost obținute astfel încât să acopere întreg domeniul de compoziție, prin variația fracției molare în intervalul 0.00-1.00. Pentru obținerea amestecurilor au fost utilizate mai multe metode, în scopul determinării parametrilor optimi:

- recristalizare „in situ” în creuzetul DSC;
- recristalizare din solvent;
- mojarare și omogenizare în condiții normale de laborator;
- metoda pretopirii.

Curbele DSC obținute pentru amestecurile binare PP-TM (figura 19) prezintă două peak-uri endoterme:

- primul peak, care apare în bună aproximație, la aceeași temperatură, 374 K, pentru toate amestecurile studiate a fost atribuit procesului de topire a amestecului eutectic;

- al doilea peak, cu o temperatură variabilă, care corespunde topirii componentului aflat în exces, raportat la compoziția eutectică.

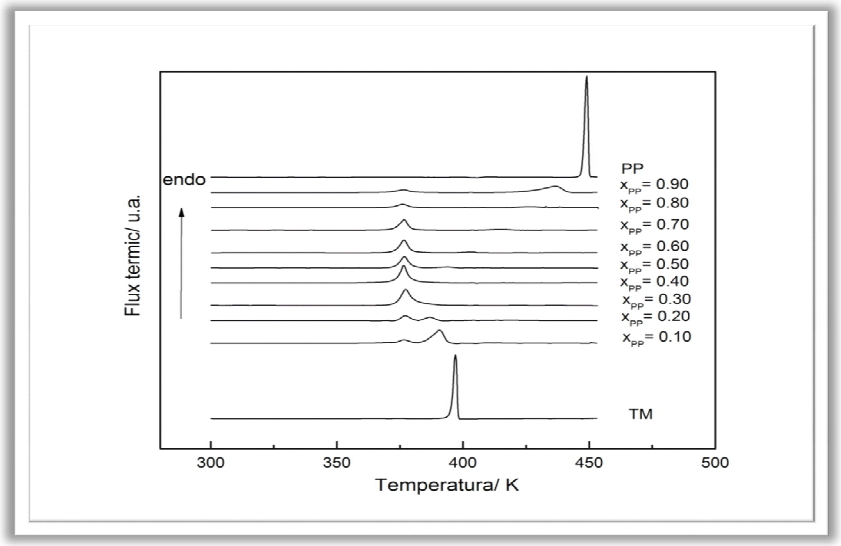

Figura 19: Curbele DSC obținute pentru PP, TM și amestecurile binare cu compoziție variabilă.

Diagrama de fază calculată folosind ecuația Schröder van Laar și diagrama de fază reală obținută din date DSC, pentru valori medii obținute din minim trei determinări, sunt prezentate în figura 20 a), ca $T=T(x_i)$. Diagrama de fază ideală indică o compoziție eutectică la $x_{PP} = 0.15$ și o temperatură eutectică de 392 K.

Diagrama de fază reală prezintă o comportare de tip eutectic simplu, cu punctul eutectic la temperatura 374 K și $x_{PP} = 0.40$. Diagramele de fază obținute indică, pentru amestecurile cu o concentrație $x_{PP} < 0.15$, o comportare foarte apropiată de cazul ideal, iar pentru amestecurile cu $x_{PP} > 0.15$, se observă abaterea considerabilă de la idealitate.

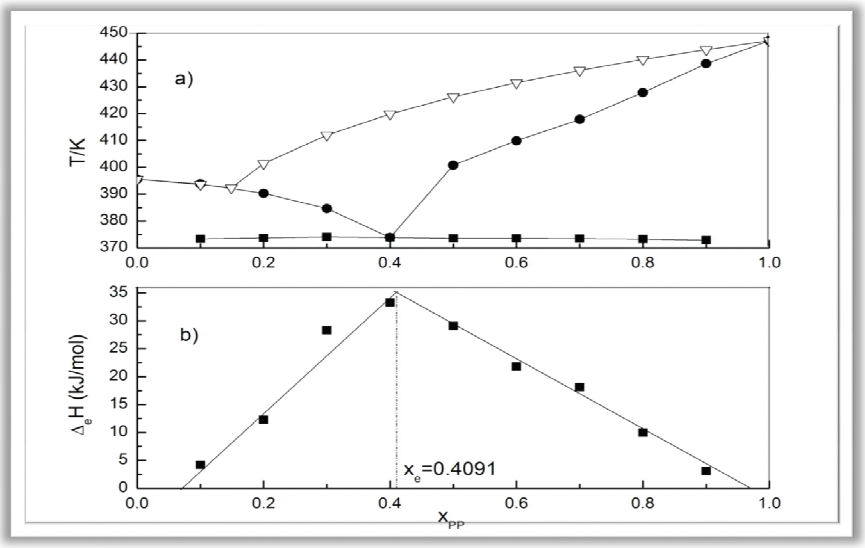

Figura 20: a) Diagrama de fază solid-lichid pentru sistemul binar PP-TM: Δ-curba ideală; ●-curba lichidului; ■-curba solidului; b) Diagrama Tamman.

Diagrama Tamman indică o compoziție eutectică exactă la x_{PP} = 0.4091 și sugerează faptul că soluțiile solide se formează la extremitățile diagramei de fază pentru concentrații mai mici decât $x_{PP} \approx 0.06$ și pentru concentrații mai mari decât $x_{PP} \approx 0.96$.

Structura lichidului eutectic a fost determinată prin calcularea entalpiei de amestecare. Astfel, pentru sistemul binar PP-TM entalpia de amestecare obținută, $\Delta^M H$ = - 24.52 kJ·mol^{-1} este negativă ceea ce sugerează formarea de clustere moleculare în topitură, favorizate de forțe intermoleculare slabe.

Abaterea de la idealitate a sistemului studiat a fost determinată prin calcularea valorilor coeficienților de activitate și funcțiile termodinamice de exces: G^E, S^E și μ_i^E:

$$G^E = RT[x_1 ln\gamma_1^l + x_2 ln\gamma_2^l]$$

$$S^E = -R[x_1 ln\gamma_1^l + x_2 ln\gamma_2^l] - RT\left[x_1 \frac{\partial ln\gamma_1^l}{\partial T} + x_2 \frac{\partial ln\gamma_2^l}{\partial T}\right]$$

$$\mu^E = RT ln\gamma_i$$

Valorile obținute sunt reprezentate grafic în funcție de compoziție în figura 21 iar analiza reprezentării grafice indică faptul că energia liberă Gibbs descrește pe fiecare ramură a diagramei de fază și atinge un minim la compoziția eutectică, ceea ce era de așteptat deoarece cea mai scăzută temperatură la care se găsește faza lichidă este cea din compoziția eutectică.

Valorile entropiei de exces prezintă o comportare contrară, și anume cresc pe fiecare ramură a diagramei de fază solid – lichid și ating valoarea maximă la compoziția eutectică, datorită coexistenței celor trei faze: două faze solide în echilibru cu o fază lichidă [56].

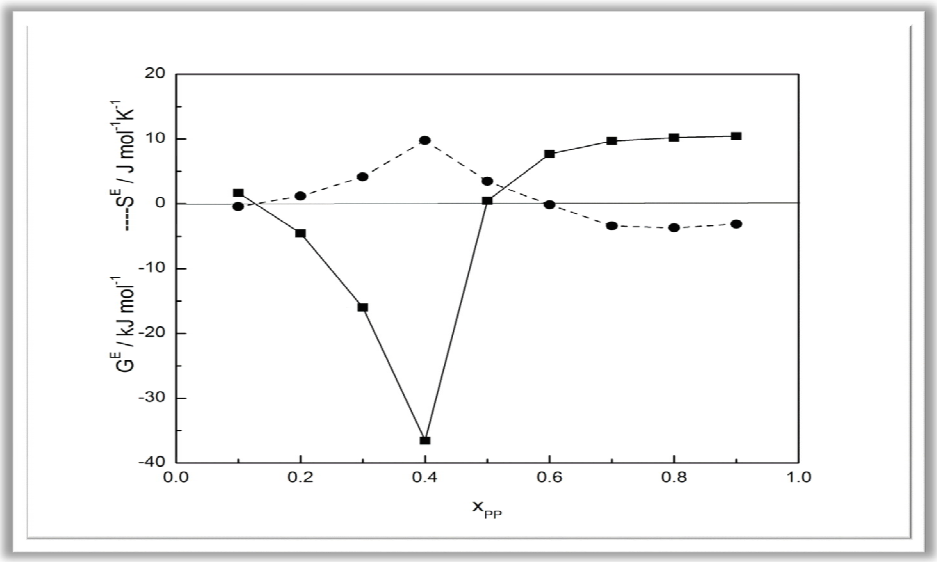

Figura 21: Variația energiei libere Gibbs de exces și a entropiei de exces cu compoziția pentru sistemul PP-TM

Natura termică a unui sistem este determinată de semnul funcțiilor termodinamice de exces, respectiv, G^E și S^E. Astfel, sistemul este de natură endotermă daca $G^E>0$ și $S^E<0$ și exotermă dacă $G^E<0$ și $S^E>0$. Pentru sistemul PP-TM s-a observat că:

- la concentrații mai mici decât 0.50 fracție molară de PP sistemul este de natură exotermă, fapt care atestă existența unor interacții puternice între componenții care formează topitura eutectică și a unor asocieri slabe între moleculele de același fel;

- la concentrații mai mari decât 0.50, sistemul are o comportare endotermă, ceea ce arată apariția interacțiilor puternice între moleculele de același fel.

Caracterizarea a amestecurilor cu excipienți pentru determinarea compatibilității

Studiul calorimetric al amestecurilor binare și ternare cu excipienți a evidențiat grade diferite de compatibilitate între componenții sistemelor, date care au fost confirmate și prin spectroscopie FT-IR.

Pentru determinarea compatibilității API (Active Pharmaceutical Ingredient)-excipient, parametrii termodinamici au fost obținuți din curbele DSC înregistrate pentru excipienții individuali (LA și AMID), pentru amestecurile binare API-excipient și pentru amestecurile ternare API-API-excipient.

Pentru determinarea posibilelor interacții între componeții sistemului s-a calculat entalpia de topire $(\Delta^t H)_{calc}$, cu relația:

$$\sum(I \cdot (\Delta^t H_I)_{exp} = (\Delta^t H)_{calc}$$

unde I reprezintă procentul de masă al fiecărui API sau al compoziției eutectice în amestecurile binare sau ternare cu excipienți, iar $(\Delta^t H_I)_{\exp}$ reprezintă entalpia corespunzătoare determinată din curbele DSC.

Studiul termic al amestecurilor binare formate din compușii puri (PP sau TM) cu lactoză și cel al amestecurilor ternare (amestecul eutectic PP-MT cu lactoză) arată că entalpia de topire experimentală reprezintă aproximativ 50 % din valoarea calculată, ceea ce indică posibile interacții slabe stabilite între componenți, deși peak-urile caracteristice ale acestora sunt încă prezente și nesemnificativ deplasate.

Spectrele FT-IR obținute sugerează faptul că, deși benzile de absorbție caracteristice ale principiilor active studiate sunt prezente, are loc o deplasare a acestora, în special în regiunea (3200-2900) cm^{-1}, corespunzătoare frecvențelor de întindere ale legăturii C-H. Deplasarea către numere de undă mai mici (de exemplu, 2941 cm^{-1} se deplasează la 2934 cm^{-1}) indică stabilirea interacțiilor de tip van der Waals [115], ceea ce explică diferențele de entalpie date de experimentele calorimetrice.

Utilizând AMID ca excipient, valorile entalpiilor calculate și cele determinate experimental din date DSC sunt foarte apropiate, ceea ce evidențiază compatibilitatea între PP și AMID, TM și AMID și între amestecul eutectic PP-TM și AMID. Practic, termogramele înregistrate pentru amestecurile binare și ternare reprezintă o suprapunere a curbelor corespunzătoare ale fiecărui constituent. Spectrele FT-IR înregistrate confirmă rezultatele calorimetrice.

Capitolul 5. Sistemul Captopril (CA)-Tartrat de Metoprolol (TM)

În cadrul acestui capitol au fost urmărite două direcții principale: obținerea și caracterizarea amestecului binar Captopril-Tartrat de Metoprolol și studiul interacțiilor stabilite între componenți.

Amestecurile binare formate din CA și TM de concentrații determinate au fost obținute astfel încât să acopere întreg domeniul de compoziție, prin variația fracției molare în intervalul 0.00-1.00. Pentru obținerea amestecurilor au fost utilizate două metode:

- mojarare și omogenizare în condiții normale de laborator;
- amestec fizic (Turbula Mixer, timp de amestecare 30 minute).

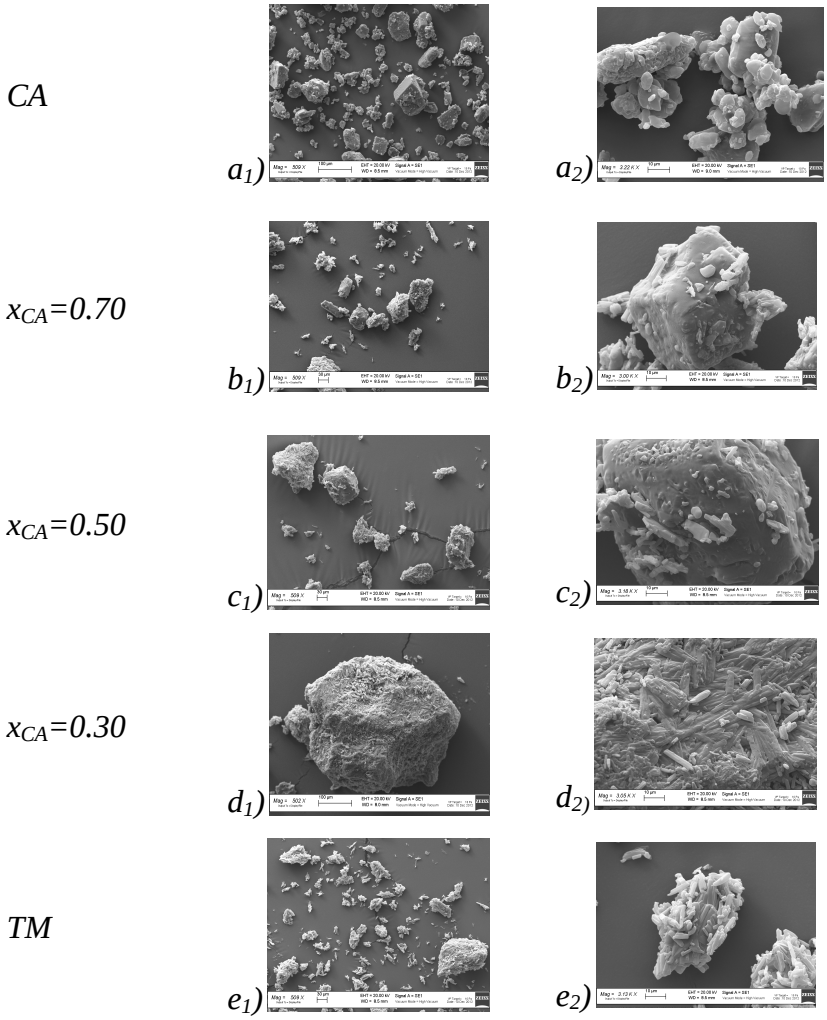

Figura 26: Imaginile SEM obținute pentru CA a), amestecurile fizice CA: TM cu x_{CA}=0.70 b), x_{CA}=0.50 c), x_{CA}=0.30 d) și TM e).

Lipsa interacțiilor între cei doi componenți în timpul obținerii amestecurilor fizice a fost confirmată spectrometrie FT-IR, difracție de raze X și imagini SEM.

În curbele DSC obținute pentru amestecurile binare sunt prezente două peak-uri: un peak larg, endoterm, în bună aproximație, la aceeași temperatură pentru toate compozițiile studiate, 332

K, corespunzător topirii eutectice și un al doilea peak, corespunzător topirii componentului în exces raportat la compoziția eutectică, cu poziție variabilă în funcție de compoziția probei.

Tabelul 6: Echilibrul (solid-liquid) măsurat din date DSC pentru amestecul binar CA-TM.

x_{CA}	T_e(K)	$\Delta^t H_e$ (kJ·mol^{-1})	T(K)
0	-	-	395.23±0.07
0.10	333.22±0.67	2.80±0.69	392.23±0.74
0.20	333.16±0.51	4.81±0.58	390.30±0.68
0.30	332.47±0.64	7.05±0.53	388.01±0.70
0.40	333.30±0.58	9.90±0.47	385.30±0.63
0.50	332.75±0.71	11.60±0.66	382.11±0.74
0.60	333.34±0.60	13.65±0.44	377.81±0.69
0.65	333.31±0.55	15.21±0.34	371.58±0.78
0.70	332.06±0.48	16.43±0.37	-
0.75	333.58±0.61	14.51±0.59	366.08±0.75
0.80	333.46±0.69	12.73±0.70	371.03±0.64
0.85	333.38±0.47	11.31±0.51	374.91±0.72
0.90	333.37±0.39	10.08±0.29	377.17±0.48
1	-	-	378.71±0.39

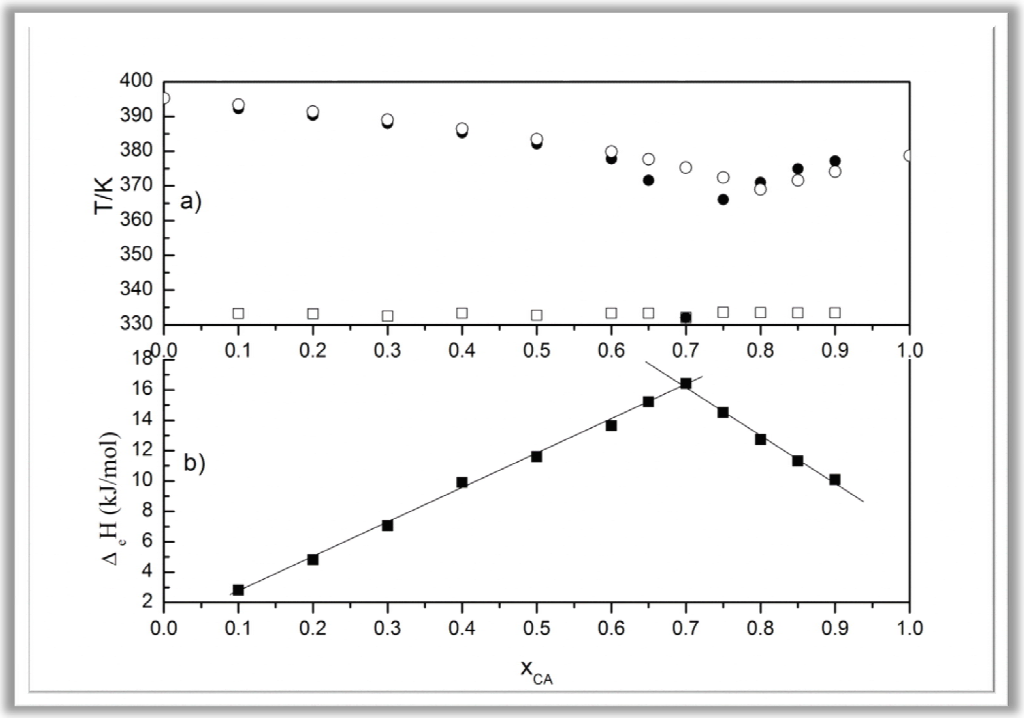

Figura 31: a) Diagrama de fază solid-lichid pentru sistemul binar CA-TM: ○-curba ideală; ●-curba lichidului; □-curba solidului; b) Diagrama Tamman.

Diagrama de fază în cazul ideal [147, 148] (coeficienții de activitate sunt egali cu unitatea) pune în evidență un punct eutectic simplu la temperatura de 375 K și x_{CA}=0.80 iar diagrama reală la 332 K respectiv x_{CA}=0.70.

Diagramele de fază obținute indică deviația de la comportamentul ideal pe domeniul de compoziție $0.60 \leq x_{CA} \leq 0.80$ și un comportament apropiat de idealitate pentru celelalte regiuni ale domeniului de compoziție. Diagrama Tamman, prezentată în figura 31 b), are un maxim la compoziția eutectică (x_{CA}=0.70).

Valoarea negativă a entalpiei de amestecare sugerează formarea de clustere moleculare în topitură, prin forțe intermoleculare slabe ceea ce duce la scăderea entalpiei de topire a eutecticului.

$$\Delta^M H = (\Delta^t H)_{exp} - (\Delta^t H)_{calc} = -24.61\ kJ \cdot mol^{-1}$$

Rezultatele obținute au fost confirmate prin experimente de termomicroscopie și imaginile obținute sunt prezentate în figura 32. Astfel, la temperatura camerei, particulele celor doi componenți sunt agregate, la 343 K se observă topirea eutectică pentru toate concentrațiile sistemului. La temperaturi mai ridicate, pe lângă proba aflată deja în stare lichidă (compoziția eutectică), se pot observa particule solide, corespunzătoare componentului aflat în exces raportat la compoziția eutectică.

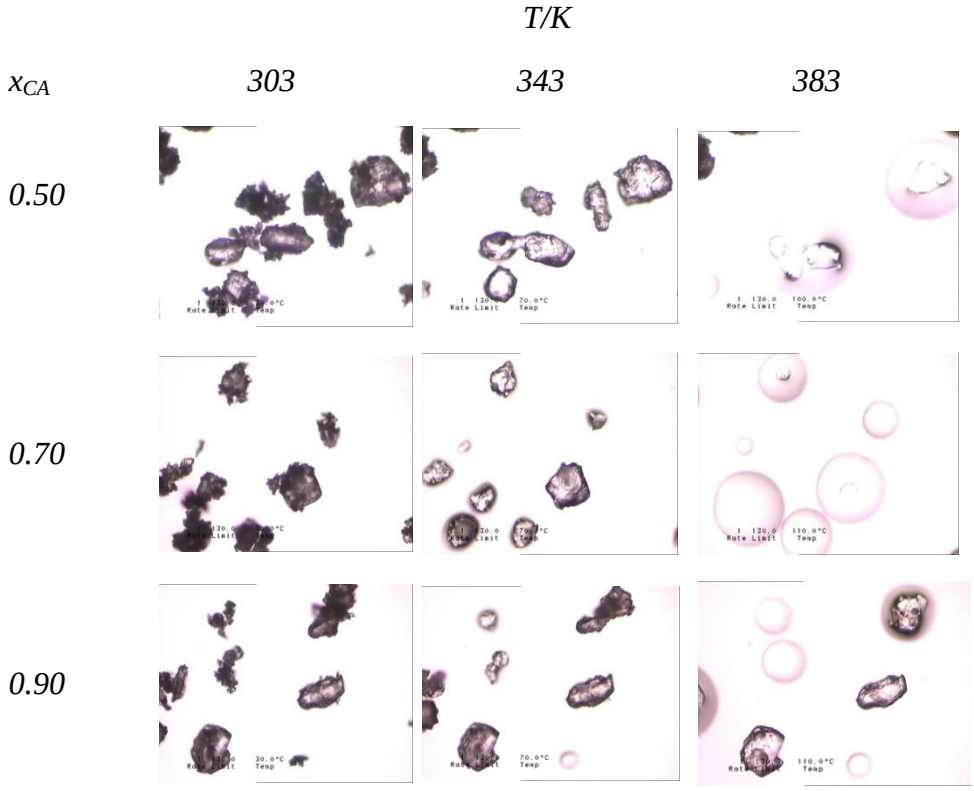

Figura 32: Imaginile de termomicroscopie obținute pentru amestecul binar CA-TM cu compoziție variabilă.

Izomerizarea trans-cis a CA în amestecul binar CA-TM

În funcție de metoda de obținere aplicată, amestecurile binare CA-TM prezintă aspecte diferite astfel: prin mojarare, amestecurile rezultate au prezentat consistența unei mase cleioase în cazul amestecurilor cu o concentrație mică de CA și cea a unui gel, pentru amestecurile cu o concentrație mare de CA. Curbele DSC obținute pentru aceste amestecuri prezintă peak-uri endoterme foarte largi în domeniul de temperatură (333-353) K, pentru amestecuri cu o concentrație scăzută de CA și nu prezintă niciun peak în cazul amestecurilor cu o concentrație ridicată de CA. Contrar, amestecurile obținute cu Turbula Mixer, au menținut consistența unei mase solide în care particulele sunt agregate.

În urma acestor rezultate, au fost înregistrate spectrele FT-IR pentru amestecul binar cu fracția molară de CA, x_{CA}=0.50, pentru probe obținute diferit, și anume amestec fizic, proba mojarată și probe supuse unui regim dinamic de temperatură de la temperatura camerei la 343.15 K, 363.15 K respectiv 373.15 K, după cum se poate observa în figura 33.

Analiza spectrelor înregistrate indică faptul că spectrul amestecului fizic este o sumă a spectrelor compușilor individuali, în timp ce spectrele obținute pentru proba mojarată și pentru proba supusă încălzirii până la 343.15 K (după ce are loc topirea eutectică) prezintă anumite modificări: benzile de absorbție prezente la 2980 cm^{-1} și 2938 cm^{-1} corespunzătoare grupărilor CH_3 și CH_2 din structura CA se deplasează la 2979 cm^{-1} și respectiv 2936 cm^{-1}, banda de absorbție de la 1632 cm^{-1} corespunzătoare conținutului rezidual de acid tartric devine un umăr, banda de absorbție de la 1356 cm^{-1} corespunzătoare vibrației de deformare a grupării CH_3 din structura TM este deplasată și apare la 1348 cm^{-1}.

Astfel, deplasarea către numere de undă mai mici indică modificări structurale care susțin ipoteza formări de clustere în topitură prin intermediul legăturilor de hidrogen și de asemenea, sugerează faptul că în cazul probelor mojarate, din cauza energiei mecanice aplicate sistemului, topirea eutectică are loc la temperatura camerei.

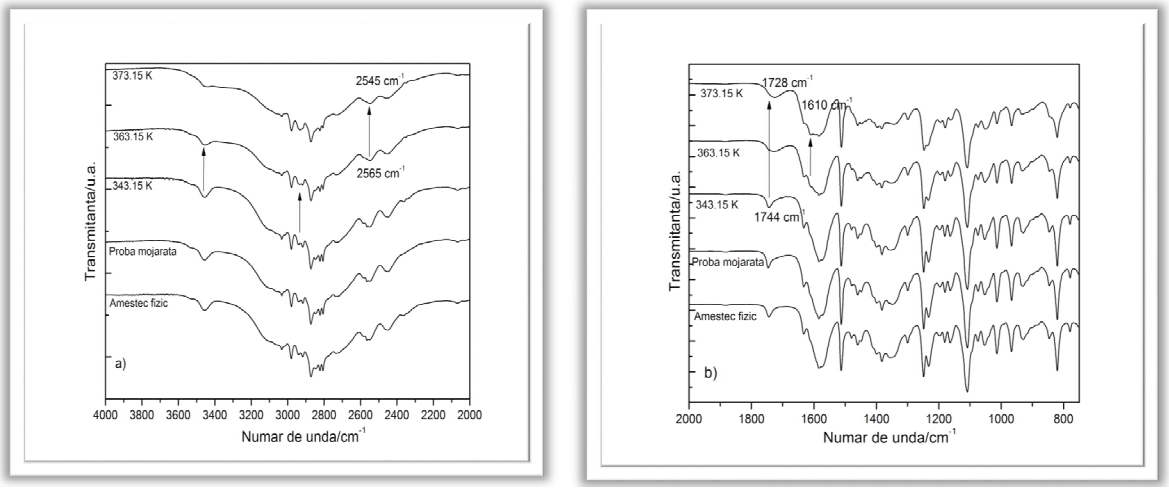

Figura 33: Spectrele FT-IR obținute pentru amestecul binar cu x_{CA}=0.50 și diferite metode de obținere: amestec fizic, proba mojarată și probe supuse unui regim dinamic de temperatură a) domeniu spectral (4000-2000) cm^{-1} și b) domeniu spectral (2000-800)cm^{-1}.

Din analiza spectrelor obținute pentru probele supuse unei încălziri până la temperatura 363.15 K respectiv 373.15 K, se observă: benzile de absorbție corespunzătoare formării legăturilor

de hidrogen devin largi și suprapuse, banda de absorbție corespunzătoare grupării hidroxil din structura TM devine mai largă, banda de la 2565 cm^{-1}corespunzătoare grupării SH din structura CA se regăsește la 2548 cm^{-1}, banda de la 1744 cm^{-1} corespunzătoare vibrației legăturii C=O din gruparea COOH (CA) este deplasată la 1728 cm^{-1} și respectiv 1726 cm^{-1}, apare o nouă bandă de absorbție la 1610 cm^{-1}.

Formarea amestecului eutectic are un impact semnificativ asupra formulei farmaceutice care conține ambele principii active și poate provoca probleme atât în timpul proceselor tehnologice cât și în timpul depozitării produsului. Intradevăr, obținerea probelor mojarate a demonstrat faptul că prin aplicarea energiei mecanice are loc topirea parțială a probelor, din cauza formării amestecului eutectic;

În cazul sistemului studiat, izomerizarea trans-cis a CA a fost observată pentru probele supuse unor temperaturi ridicate, 363.15 K respectiv 373.15 K, dar totuși la o temperatură mai joasă în comparație cu temperatura semnalată în literatura de specialitate pentru această izomerizare, efect pus pe seama prezenței TM.

Capitolul 6. Sistemul Metronidazol (MZ) –Norfloxacină (NF)

În cadrul acestui capitol au fost studiate comparativ sistemele binare Norfloxacină anhidră-Metronidazol și Norfloxacină pentahidrat-Metronidazol în vederea determinării infuenței conținutului de apă ținând cont de faptul că NF poate absorbi apă în timpul procesului de fabricație sau al stocării [111, 163]. Hidrații formați prezintă un profil de dizolvare mărit în comparație cu forma anhidră, dar nu influențează biodisponibilitatea.

Pentru ambele sisteme studiate a fost evidențiat un punct eutectic simplu. Din studiul difractogramelor s-a determinat că Norfloxacina pentahidrat ($NF{\cdot}5H_20$), după pierderea moleculor de apă suferă o tranziție solid-solid la Norfloxacină anhidră (NFanh).

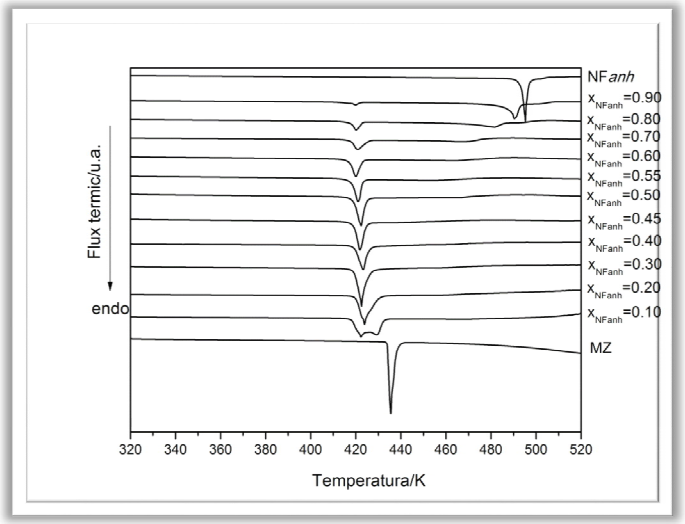

Figura 39: Curbele DSC obținute pentru NFanh, MZ și amestecurile binare cu compoziție variabilă.

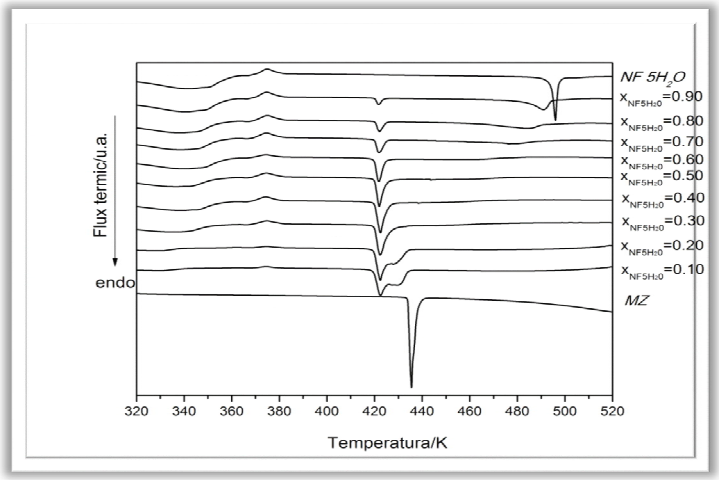

Figura 40: Curbele DSC obținute pentru NF·5H$_2$O, MZ și amestecurile binare cu compoziție variabilă.

Diagramele de fază obținute în cazul ideal și în cazul real indică abaterea de la idealitate pe întreg domeniul de concentrații și prezența unui eutectic simplu.

În cazul sistemului studiat, pe domeniul de compoziție corespunzător unei fracții molare de NFanh cuprinsă între 0.10 - 0.45, peak-ul topirii eutectice și cel al topirii componentului în exces sunt parțial suprapuse, astfel încât nu pot fi obținute valori precise ale entalpiei iar pentru determinarea compoziției eutectice exacte a fost aplicat următorul algoritm: variația entalpiei corespunzătoarea celui de-al doilea peak ($\Delta^t H_2$) și cea a primului peak ($\Delta^t H_e$) au fost reprezentate în funcție de fracția molară a NFanh pe domeniul de compoziție 0.50-1.00 (domeniul pe care cele două peak-uri sunt bine separate). Reprezentările sunt liniare, conform ecuațiilor:

$$\Delta^t H_2 \text{ (kJ/mol)} = 58.07 \cdot x_{NFanh} - 29.64 \quad (30)$$

$$\Delta^t H_e \text{ (kJ/mol)} = -47.62 \cdot x_{NFanh} + 46.22 \quad (31)$$

și valoarea obținută a fracției molare de NFanh, în amestecul eutectic este x_{NFanh}=0.51 iar entalpia eutectică se poate determina prin introducerea acestei valori în ecuația (31) obținându-se $\Delta^t H_e$ = 21.91 kJ·mol^{-1}.

Pentru sistemul binar NFanh-MZ s-a obținut o valoare negativă a entalpiei de amestecare, $\Delta^M H$ = - 13.28 kJ·mol^{-1} care sugerează formarea de clustere moleculare în topitură. Formarea acestora este favorizată dacă moleculele se asociază între ele prin forțe intermoleculare slabe, asociere care este foarte probabilă considerând structura celor doi componenți.

Capitolul 7. Sistemul Aciclovir (ACV) - Fluocinolon Acetonid (FA)

Determinările experimentale din cadul acestui capitol s-au concentrat pe două direcții: determinarea interacțiilor stabilite între Aciclovir și Flucinolon Acetonid (sistem binar) și studiul interacțiilor stabilite între principiile active și excipientul β-Ciclodextrină (β-CD) (sisteme binare și ternare).

Diagramele de fază obținute indică abaterea de la idealitate și un punct eutectic simplu a cărui temperatură eutectică este influențată de tranzițiile solid-solid ale FA (forma A→forma B).

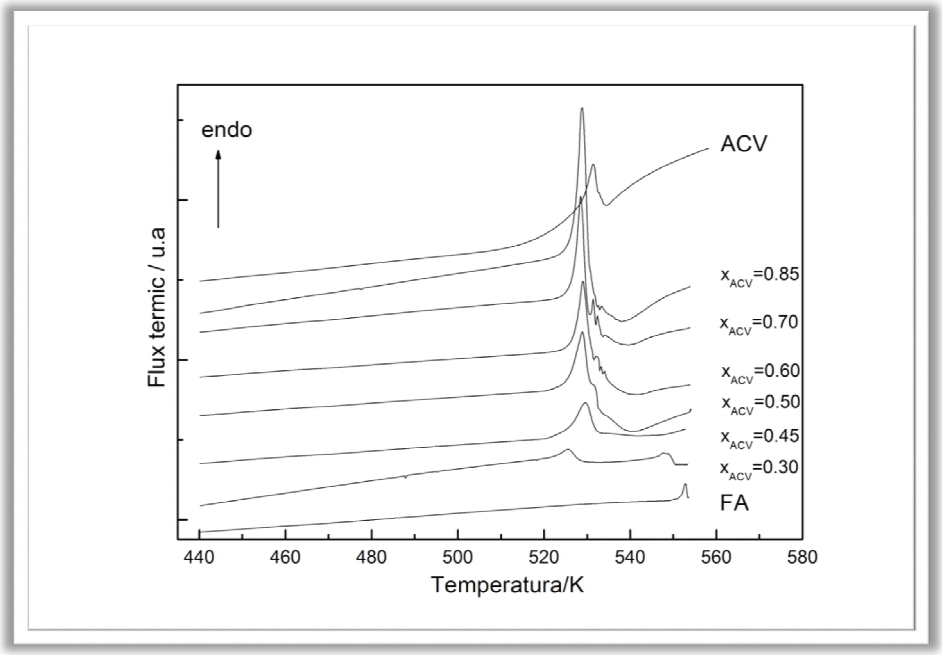

Figura 47: Curbele DSC obținute pentru FA,ACV și amestecurile binare cu compoziție variabilă.

Curbele DSC, ca și în cazul compușilor puri, prezintă procesul de topire urmat îndeaproape de procesul de descompunere. Totuși, se evidențiază un punct eutectic, reprezentat de primul peak endoterm, situat în bună aproximație, la temperatura de (525±2) K pentru toate amestecurile studiate. Următoarele peak-uri din curbele DSC, situate la temperaturi mai ridicate, au fost atribuite topirii și descompunerii componentului aflat în exces raportat la compoziția eutectică. Din cauza procesului de descompunere, parametrii termodinamici obținuți pentru aceste peak-uri sunt aproximativi și se poate observa din curbele DSC că acest proces are loc foarte aproape de topirea eutectică, pentru amestecurile binare cu o fracție molară $x_{ACV} \geq 0.50$.

Diagrama de fază calculată folosind ecuația Schröder van Laar și diagrama de fază reală obținută din date DSC, pentru valori medii obținute din minim trei determinări, sunt prezentate în figura 48 a), ca $T=T(x_i)$. Diagrama de fază ideală indică o compoziție eutectică la x_{ACV} =0.72. Diagrama de fază experimentală indică abaterea de la idealitate pe întreg domeniul de compoziție.

Pe domeniul de compoziție $0< x_{ACV} <0.80$, diagrama Tamman obținută pentru acest sistem este formată din două drepte cu pante diferite, din cauza tranziției solid-solid a FA, aflat în exces. Pentru regiunea $x_{ACV} > 0.50$ se regăsește forma triunghiulară caracteristică a diagramei Tamman pentru un sistem cu un punct eutectic simplu, indicând o compoziție eutectică $x_{ACV} = 0.80$, unde a fost obținută cea mai ridicată valoare a entalpiei, în bună concordanță cu valoarea obținută din diagrama de fază ideală.

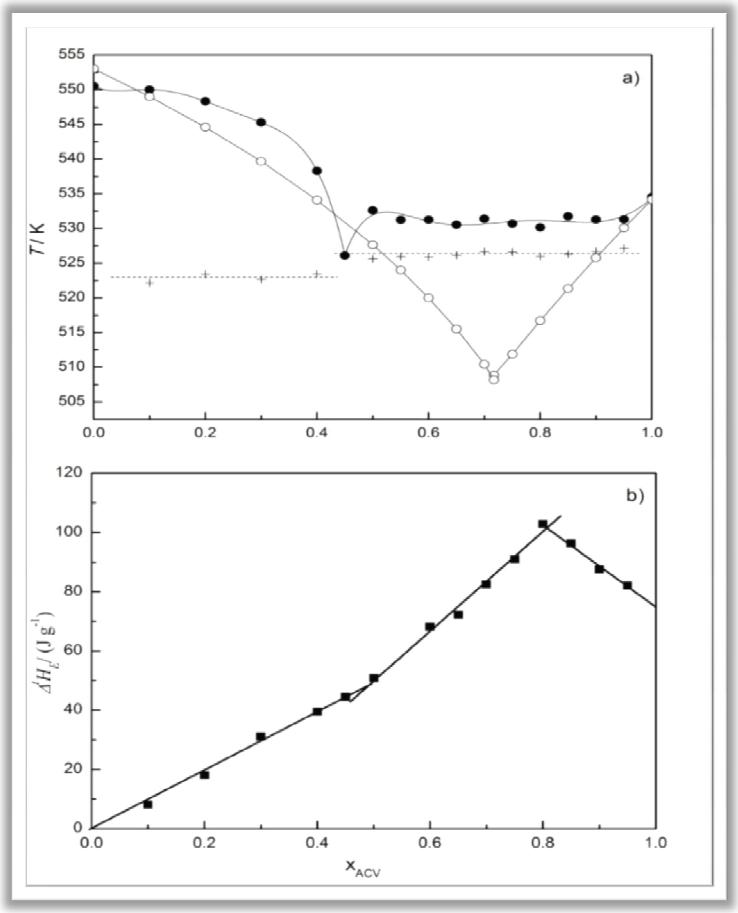

Figura 48: a) Diagrama de fază solid-lichid pentru sistemul binar ACV-FA: ○-curba ideală; ●-curba lichidului; +-curba solidului; b) Diagrama Tamman.

Pentru amestecurile binare studiate au fost înregistrate spectrele FT-IR înainte și după supunerea probelor unui regim dinamic de temperatură. Spectrele inițiale prezintă benzile de absorbție caracteristice ale constituenților, cu anumite variații în intensitate și poziție, în funcție de compoziția probelor. Spectrele FT-IR obținute pentru amestecurile binare supuse unui regim dinamic de temperatură indică anumite modificări structurale cauzate de descompunerea parțială a probelor, după cum a fost observat în curbele DSC, în special în ceea ce privește frecvențele $\upsilon_{C=C}$= 1611 cm^{-1}, υ_{NH}= 1575 cm^{-1}, $\upsilon_{amidă,\ alcool\ primar}$= (1575-1106) cm^{-1} și $\upsilon_{C=O}$= 1708 cm^{-1} a căror scădere în intensitate este cu atât mai evidentă cu cât valoarea x_{ACV} crește.

Descompunerea parțială a probelor la temperaturi superioare temperaturii eutectice este confirmată de imaginile de termomicroscopie în lumină polarizată obținute pentru amestecurile binare ACV-FA cu compoziție variabilă.

Complecși de incluziune API_S-β-CD

Pentru a determina o îmbunătățire a profilului de solubilitate pentru compușii de interes cunoscuți ca având o solubilitate scăzută în mediu apos și pentru a evita procesul de descompunere a amestecurilor binare, următoarea etapă a studiului a constat în încapsularea fiecărui compus sau a

amestecului binar a celor doi componenți în cavitatea β-CD și caracterizarea interacțiilor stabilite între principiile active de interes și β-CD.

Aceste interacții, dacă există, se pot determina prin analiză termică, și anume DSC. Când molecula „oaspete” este captată în cavitatea ciclodextrinei, punctul de topire, fierbere sau sublimare al acesteia de obicei este deplasat la o alta temperatură, în intervalul în care ciclodextrina se descompune [176, 177].

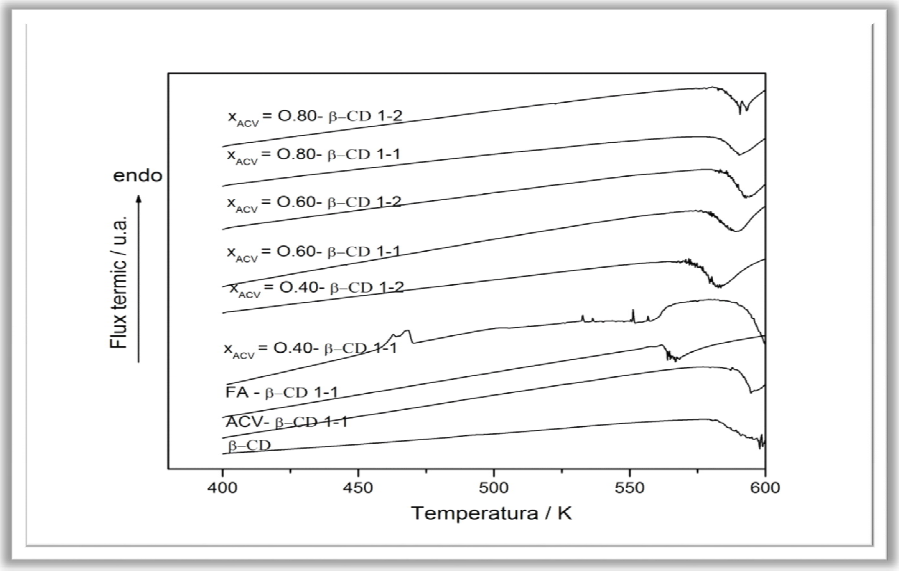

Figura 51: Curbele DSC obținute pentru β-CD, amestecurile binare FA-β-CD, ACV-β-CD și amestecurile ternare, ACV-FA cu x_{ACV} = 0.40, 0.60, 0.80 și β-CD, amestecuri fizice cu rapoarte molare 1:1 și 1:2.

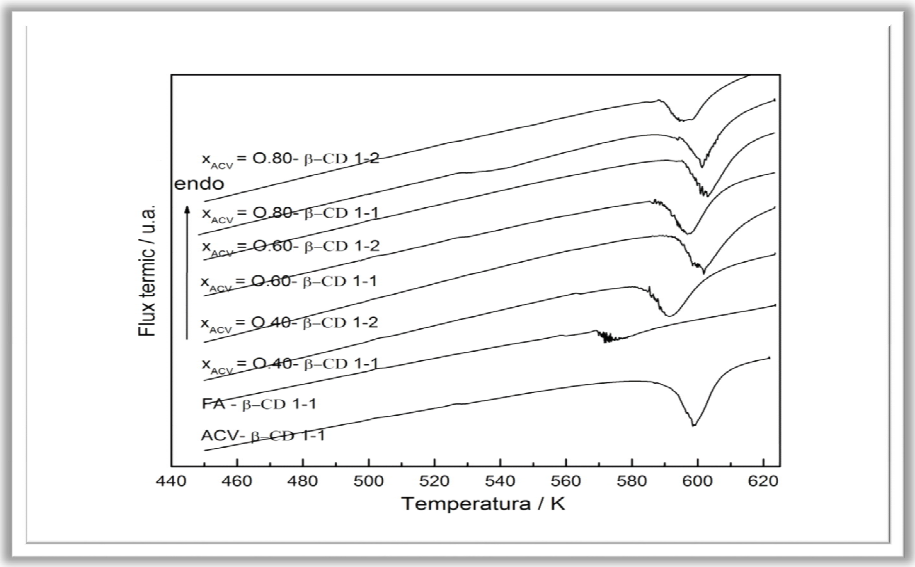

Figura 52: Curbele DSC obținute pentru β-CD, amestecurile binare FA-β-CD, ACV-β-CD și amestecurile ternare, ACV-FA cu x_{ACV} = 0.40, 0.60, 0.80 și β-CD, amestecuri obținute prin evaporarea solventului, cu rapoarte molare 1:1 și 1:2.

În curbele DSC înregistrate pentru amestecurile ternare formate din amestecul binar FA-ACV și β-CD, obținute prin activare mecanică (a.m.) (figura 51) pot fi observate anumite diferențe în funcție de raportul molar utilizat, 1:1 și respectiv 1:2 (1 mol de amestec binar FA-ACV). Astfel, pentru un raport molar 1:1, în curbele DSC pot fi observate anumite peak-uri endoterme sau exoterme ceea ce înseamnă că metoda amestecului fizic nu furnizează o încapsulare completă a amestecului binar în cavitatea ciclodextrinei; fenomenul este mai evident pentru amestecurile ternare cu x_{ACV} = 0.40, adică pentru sistemul care conține o fracție molară mai mare de FA, fapt determinat de structura acestui compus. Dispariția completă a caracteristicilor termice ale celor două principii active a fost observată pentru amestecurile ternare cu x_{ACV} = 0.60 și 0.80, raport molar 1:1, obținute prin amestec fizic sau pentru toate amestecurile obținute prin metoda evaporării solventului (e.s.) (figura 52).

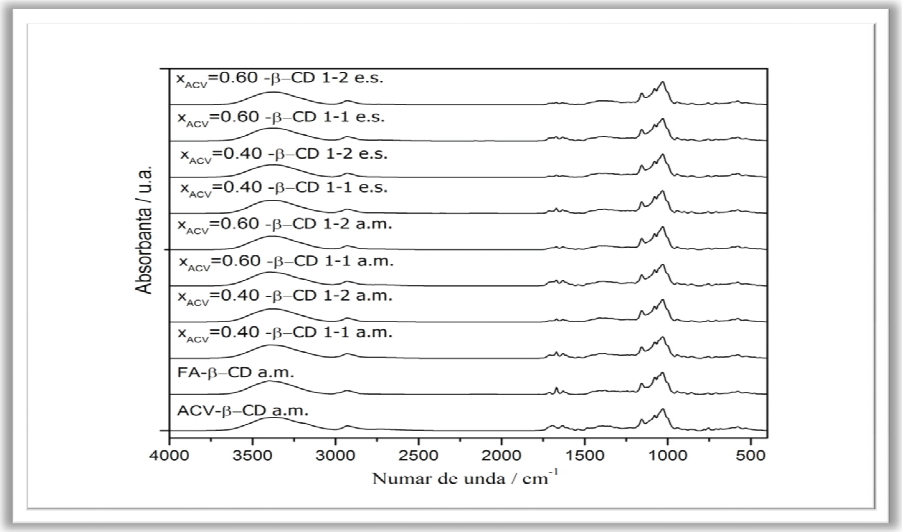

Figura 53: Spectrele FT-IR obținute pentru amestecurile binare FA-β-CD, ACV-β-CD și amestecurile ternare, ACV-FA cu x_{ACV} = 0.40, 0.60, 0.80 și β-CD, amestecuri obținute prin a.m. sau e.s. cu rapoarte molare 1:1 și 1:2.

Spectrul FT-IR înregistrat pentru sistemul binar ACV-β-CD (figura 53) prezintă deplasări ale benzilor de absorbție caracteristice ale constituenților. Astfel, banda de absorbție caracteristică grupării funcționale OH observată în spectrul complexului este deplasată la o frecvență mai mică (3369 cm^{-1}) în comparație cu spectrul obținut pentru ACV. Același tip de deplasare a fost observat și în cazul grupării NH (1575 cm^{-1}) și C=O (1693 cm^{-1}). Pe de altă parte, pentru vibrațiile de deformare ale legăturilor C-H din structura β-CD (1412, 1335, 1302, 1239 cm^{-1}) se poate observa o deplasare la numere de undă mai mari. Benzile de absorbție caracteristice grupărilor amină primară și secundară din structura ACV care se regăsesc pe domeniul spectral (3312–3175) cm^{-1} sunt acoperite de banda foarte intensă corespunzătoare grupării OH din structura β-CD.

În cazul spectrului complexului de incluziune format între FA și β-CD, în comparație cu spectrul FA ca atare, se observă că banda corespunzătoare grupării OH este de asemenea deplasată spre frecvențe mai mici. Pe de altă parte, banda de absorbție corespunzătoare legăturii C=O din structura FA, este deplasată ușor către numere de undă mai mari (de la 1707 cm^{-1} la 1709 cm^{-1}) ceea ce indică participarea la formarea legăturilor slabe de hidrogen iar vibrațiile de deformare corespunzătoare legăturilor C-H din structura β-CD, sunt deplasate la frecvențe mai mari, ceea ce

indică existența interacțiilor nespecifice de tip van der Waals. Aceste rezultate confirmă faptul că vibrațiile corespunzătoare legăturilor din structurile moleculelor „oaspete” sunt influențate de procesul de incluziune în cavitatea ciclodextrinei.

În spectrele înregistrate pentru amestecurile ternare cu β-CD se poate observa că benzile caracteristice de absorbție ale grupărilor amină primară și secundară, de la (3312–3175) cm^{-1} respectiv 1575 cm^{-1}, sunt prezente sub formă de umăr, banda de absorbție corespunzătoare legăturii C=C este deplasată la numere de undă mai mari iar benzile corespunzătoare vibrațiilor de deformare ale legăturilor C-H din structura β-CD sunt deplasate la numere de undă mai mari. Aceste observații susțin formarea complecșilor, proces observat deja în curbele DSC, însă nu se poate preciza cu exactitate poziția moleculelor principiilor active în cavitatea β-CD.

Între spectrele FT-IR ale amestecurilor ternare obținute prin activare mecanică sau metoda evaporării solventului, cu un raport molar între componeți de 1:1 și respectiv 1:2 diferențele sunt foarte mici. Spectrele înregistrate pentru amestecurile cu β-CD în exces, indiferent de metoda de obținere a amestecului, sunt foarte asemănătoare cu cel al β-CD, după cum era de așteptat. În urma acestor rezultate s-a ajuns la concluzia că și semnalele datorate amestecului binar ACV-FA sunt suprimate de semnale β-CD, ceea ce confirmă procesul de complexare.

Concluzii generale

Obiectivul tezei a fost caracterizarea fizico-chimică a unor amestecuri binare și ternare de principii active și excipienți pentru determinarea compatibilității între elementele constituente în scopul dezvoltării produselor farmaceutice combinate.

Caracterizarea completă a sistemelor s-a realizat utilizând o serie de metode teoretice și experimentale care au condus la obținerea unor concluzii generale:

- formarea unui amestec eutectic este foarte probabilă în procesul de amestecare a pulberilor farmaceutice, după cum a fost observat din studiul sistemelor prezentate în cadrul tezei;
- deoarece în topitura eutectică au fost evidențiate interacții (van der Waals sau legături de hidrogen) se recomandă ca în procesul de fabricație sau stocare temperatura să nu depașească temperatura eutectică;
- cu excepția formării amestecului eutectic, studiul sistemului Clorhidrat de Propafenonă-Tartrat de Metoprolol a evidențiat grade diferite de compatibilitate a celor două principii active sau a amestecului eutectic cu doi excipienți frecvent utilizați cu rol de diluant: α-lactoză monohidrat și amidon din porumb;
- în cadrul studiul sistemului Captopril-Tartart de Metoprolol a fost observat un amestec eutectic la o temperatură joasă, 332 K, ceea ce poate conduce la dificultăți în timpul procesului de prelucrare sau stocare a produsului farmaceutic care conține cele două principii active. De asemenea, a fost observată topirea parțială a probelor ca urmare a formării amestecului eutectic la temperatura camerei după aplicarea energiei mecanice și izomerizarea trans-cis a Caproprilului la o temperatură mai joasă ca urmare a prezenței Tartratului de Metoprolol în sistem;
- studiul sistemului Norfloxacină-Metronidazol a evidențiat formarea unui amestec eutectic simplu la 419 K și că moleculele de apă din structura Norfloxacinei nu influențează comportamentul termic al amestecului binar care conține ambele principii active;

- pentru sistemul Aciclovir - Fluocinolon Acetonid a fost evidențiat un amestec eutectic simplu a cărui temperatură este influențată de tranziția solid-solid a Fluocinolonului Acetonid pentru amestecurile care prezintă acest component în exces. De asemenea, studiul amestecurilor binare sau ternare cu β-Ciclodextrină au evidențiat formarea complecșilor de incluziune stabili termic care pot conduce la profile de solubilitate îmbunătățite ale celor două principii active studiate cunoscute ca având o solubilitate redusă.
- formarea complecșilor de incluziune între ciclodextrine și principii active are largi aplicații în industria farmaceutică deoarece prin complexare se mărește solubilitatea în apă a principiilor active incluse;
- determinarea interacțiilor între elementele constituente ale unui posibil produs farmaceutic combinat este o etapă cheie în dezvoltarea produsului respectiv;
- formarea și determinarea caracteristicilor amestecurilor eutectice existente între constituenții unui produs farmaceutic combinat are o importanță deosebită în procesul de obținere și dezvoltare a unui nou produs farmaceutic;
- pentru determinarea infulenței pozitive sau negative a amestecului eutectic format sunt necesare studii in vitro și in vivo.

.

Bibliografie selectivă

56. B.L., Sharma, S., Tandon, R., Kant, R., Sharma, *Thermochim. Acta*, 421, 161-169, 2004
111. W., Chongcharoen, S.R., Byrn, N., Sutanthavibul, *J. Pharm. Sci*., 97, 1, 473-89, 2008
115. T., Masuda, Y., Yoshihashi, E., Yonemochi, K., Fujii, H., Uekusa, K., Terada, *Int. J. Pharm*., 17, 422, 1-2, 160-169, 2012
147. K., Khimeche, A., Dahmani, *J. Chem. Thermod.*, 38, 1192 – 1198, 2006
148. M.C., Costa, L.A.D., Boros, J.A.P., Coutinho, M.A., Krahenbuhl, A.J.A., Meirelles, *Energy Fuels*, 25, 3244–3250, 2011
163. S., Roy, N.R., Goud, N., Babu Jagadeesh, J., Iqbal, A.K., Kruthiventi, A., Nangia, *Cryst. Growth & Design*, 8, 12, 4343-4346, 2008
167. B.B., Bhowmik,B.S., Nayak,A., Chatterjee, *Int. J. Pharm. Pharm. Sci*., 1, 1, 240-257, 2009
177. C.P., Rossel, J.S., Carreno, M., Rodríguez-Baeza, J.B., Alderete, *Quím. Nova*, 23, 749–752, 2000

Listă de lucrări

Lucrări științifice publicate sau în curs de publicare:

1. *„Thermodynamic study of binary system Propafenone Hydrocloride with Metoprolol Tartrate: Solid–liquid equilibrium and compatibility with α-lactose monohydrate and corn starch*”**,** Daniela-Crina Marinescu, Elena Pincu, Viorica Meltzer, *International Journal of Pharmaceutics*, 448, 366–372, **2013** (F.I.= 3.458);

2. *„Thermal and spectral characterization of a binary mixture (acyclovir and fluocinolone acetonide): Eutectic reaction and inclusion complexes with β-cyclodextrin*”, Daniela-Crina Marinescu, Elena Pincu, Ioana Stanculescu, Viorica Meltzer, *Thermochimica Acta*, 560, 104–111, **2013** (F.I.= 1.989);

3. *„Thermal analysis of binary liquid crystals eutectic system cholesteril p-phenoxi phenyl carbamate–cholesteril p-biphenylcarbamate”*, Daniela-Crina Marinescu, Elena Pincu, Viorica Meltzer, *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 110, 2, 985-990, **2012** (F.I.= 1.982)**;**

4. *„Solid state study of Captopril and Metoprolol Tartrate binary system*”, Daniela-Crina Marinescu, Elena Pincu, Petruta Oancea, Giovanna Bruni, Amedeo Marini, Viorica Meltzer, *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, - trimis spre publicare.

Comunicări științifice:

1. *„The DSC study of binary mixtures of captopril and metoprolol tartrate*”, Daniela-Crina Marinescu, Elena Pincu, Viorica Meltzer, “New Trends in Materials Science” Workshop, ID: POSDRU/89/1.5/S/58852, Academia Română, București Romania, 28-31 martie, **2012**;

2. *„The DSC study of binary mixtures of acyclovir and fluocinolone acetonide*”, Daniela-Crina Marinescu, Elena Pincu, Viorica Meltzer, *Second International Conference on Analytical and Nanoanalytical Methods for Biomedical and Environmental Sciences IC-ANMBES,* Brașov *România,* 24-27 mai, **2012**;

3. *„The DSC study of excipients binary mixtures–tartaric acid and adipic acid*”, Daniela-Crina Marinescu, Elena Pincu, Viorica Meltzer, *Second International Conference on Analytical and Nanoanalytical Methods for Biomedical and Environmental Sciences IC-ANMBES,* Brașov *România,* 24-27 mai, **2012**.