

TEZ DE ABILITARE

Conf. Univ. Dr. Ionu -Valentin LEDE I

Universitatea Politehnica Timișoara
Facultatea de Chimie Industrială și Ingineria Mediului
2017

TEZ DE ABILITARE

ÎN DOMENIUL CHIMIE

**Tehnici de screening fizico-chimic complex a unor
compuși de interes farmaceutic și cu potențial activitate
biologic**

Conf. Univ. Dr. Ionu -Valentin LEDEȘ

Universitatea Politehnica Timișoara
Facultatea de Chimie Industrială și Ingineria Mediului
2017

CUPRINS

Lista abrevierilor utilizate în teza de abilitare	i
Rezumat	ii
Summary	iv
Lista celor 10 lucrări reprezentative care susțin conținutul tezei	vi
PARTEA I. Principalele realizări profesionale, academice și științifice	1
I.1. Principalele realizări profesionale și academice	1
I.2. Principalele realizări științifice	5
I.3. Contextul științific actual privind importanța domeniilor de cercetare abordate	14
I.3.1. Importanța obținerii și a screening-ului complex (fizico-chimic și biologic) a unor noi compuși organici de sinteză sau semisinteză, respectiv a unor combinații coordinative a acestora	14
I.3.1.1. Chimia derivaților 1,2,4-triazolului	14
I.3.1.2. Chimia compușilor triterpenici, derivații ai acidului betulonic	41
I.3.2. Importanța studiilor de stabilitate termică în stare solidă a unor substanțe de interes farmaceutic sau cu potențială activitate biologică folosind metode cinetice clasice și izoconversionale, respectiv stabilirea mecanismului de descompunere a acestora	53
I.3.2.1. Studiul cinetic de descompunere a unor compuși cu potențială activitate biologică din clasa 1,2,4-triazolului și a derivaților triterpenici	61
I.3.2.2. Studiul cinetic de descompunere a unor compuși de interes farmaceutic	75
I.3.3. Studii de compatibilitate a unor substanțe de interes farmaceutic cu diverși excipienți în stare solidă (studii de preformulare)	103
PARTEA a II-a. Planuri de evoluție și dezvoltare a carierei profesionale, științifice și academice	114
II.1. Planuri de evoluție și dezvoltare a carierei profesionale și științifice	114
II.1.1. Perspectiva de dezvoltare a carierei profesionale în plan didactic	114
II.1.2. Perspectiva de dezvoltare a carierei profesionale în plan științific	116
II.2. Planuri de evoluție și dezvoltare a carierei academice	121
PARTEA a III-a. Referințe bibliografice	122

Lista abrevierilor utilizate în teza de abilitare

	Gradul de conversie (avansul reacției)
	Viteza de încălzire
(m)	Variație (de masă)
	Lugimea de undă
i	Varianța explicită
	Randament de obținere
x	Număr de moli sau
(AB)	Vibrație de întindere (a legăturii A-B)
A	Factorul preexponențial
ADN	Acidul dezoxiribonucleic
CFU	Unitate formatoare de colonii (Colony-forming unit)
CSS	Cromatografie planară (în strat subțire)
¹³ C-RMN	Rezonanță magnetică nucleară de carbon
DMF	Dimetilformamid
DMSO	Dimetilsulfoxid
DSC	Calorimetrie cu scanare diferențială (Differential scanning calorimetry)
DTG	Termogravimetrie diferențială (Differential Thermogravimetry)
EGA	Analiza gazelor emanate (Evolved gas analysis)
Et	etil
FR	Friedman
FTIR	(Spectroscopie în) Infraroșu cu transformată Fourier (Fourier transform infrared spectroscopy)
FWO	Flynn-Wall-Ozawa
GC	Gaz-cromatografie (gas chromatography)
¹ H-RMN	Rezonanță magnetică nucleară de proton
H.B.Ex.S	Hotărârea Biroului Executiv al Senatului
HF	Flux termic (Heat Flow)
HPLC	Cromatografie lichid de înaltă performanță (High Performance Liquid Chromatography)
ICTAC	Confederația Internațională pentru Analiză Termică și Calorimetrie (International Confederation for Thermal Analysis and Calorimetry)
IFA	Ingredient farmaceutic activ (substanță activă)
ISI	Lucrări științifice publicate în reviste cu factor de impact (International Scientific Indexing)
KAS	Kissinger-Akahira-Sunose
m	Ordin de reacție (datorat unei transformări fizice)
Me	metil
MECTS	Ministerul Educației, Cercetării, Tineretului și Sportului
MIC	Concentrația minimă inhibitorie (Minimum Inhibitory Concentration)
MS	Spectrometrie de masă (mass spectrometry)
MTT	bromură de [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazoliu]
n	Ordin de reacție (datorat unui proces chimic)
NPK	(Metoda) cinetic non-parametric (Non-parametric kinetics)
p.t.	Punct de topire
PXRD	Difracție de raze X pe pulbere (Powder X-Ray Diffraction)
R	Constanta universală a gazelor
RMN	Rezonanță magnetică nucleară
SNC	Sistem nervos central
t	timpul
T	temperatura
TG	Termogravimetrie (Thermogravimetry)
UMFVBT/UMF	Universitatea de Medicină și Farmacie „Victor Babeș” din Timișoara
UPT	Universitatea Politehnică Timișoara
UV	ultraviolet
UVT	Universitatea de Vest din Timișoara
v/v	Amestec volum la volum

REZUMAT

Teza de abilitare „Tehnici de screening fizico-chimic complex a unor compuși de interes farmaceutic și cu potențial activitate biologică” prezintă sintetic rezultatele activității de cercetare științific pe care am desfășurat-o în ultimii 6 ani, ulterior obținerii titlului științific de Doctor în științe exacte, în anul 2011.

Ulterior susținerii tezei de doctorat, activitatea de cercetare științifică a fost orientată în trei mari direcții, interconectate, demonstrând un puternic caracter inter- și transdisciplinar. Prezenta teză de abilitare vizează toate cele trei direcții, și anume:

1) Obținerea, caracterizarea fizico-chimică (tehnici spectroscopice și analiză termică) și screening-ul activității biologice a unor noi compuși organici de sinteză sau semisinteză, respectiv a unor combinații coordinative cu ioni tranziționali a acestora;

2) Studii de stabilitate termică în stare solidă a unor substanțe de interes farmaceutic sau cu potențial activitate biologică folosind metode cinetice clasice și izoconversionale, respectiv stabilirea mecanismului de descompunere;

3) Studii de compatibilitate a unor substanțe de interes farmaceutic cu diverși excipienți în stare solidă (studii de preformulare) prin tehnici instrumentale.

Teza de abilitare este structurată în trei părți, având la bază **10 lucrări considerate reprezentative** din cele **78 de articole științifice personale publicate în fluxul ISI Web of Science după susținerea tezei de doctorat**: 47 în calitate de autor principal (23 prim autor și 24 autor corespondent), respectiv 31 în calitate de coautor.

Partea I a tezei de abilitare prezintă în cele trei subcapitole principalele realizări profesionale, academice și științifice, respectiv contextul științific actual privind importanța domeniilor de cercetare abordate, cu trimiteri la publicațiile proprii, dar și la numeroase studii publicate recent de alte grupuri de cercetare.

Prima direcție de cercetare a vizat sinteza și caracterizarea prin screening complex (fizico-chimic și biologic) a noi derivați din clasa heterociclicilor (1,2,4-triazoli), respectiv a unor compuși de semisinteză triterpenoidici, derivați ai betulinei – și anume acidul betulonic. Chimia 1,2,4-triazolilor este considerată tema de cercetare care continuă studiile întreprinse în cadrul tezei de doctorat, urmărind în special optimizarea condițiilor de reacție prin care se poate realiza cât mai facil sinteza produselor funcționalizate. Totodată, compușii sintetizați au fost caracterizați din punct de vedere al stabilității termice, ca atare respectiv în formă complexată în combinații coordinative cu metale tranziționale.

Activitatea biologică a compușilor sintetizați (atât derivații 1,2,4-triazolici cât și acidul betulonic și derivații săi) a fost evaluată în două direcții – și anume testarea efectului antiproliferativ și a potențialului citotoxic al compușilor, respectiv testarea activității

antibacteriene.

Evaluarea stabilităii termice în mediu solid, realizat sub formă de studiu cinetic privind mecanismele de termoliză a fost realizat în atmosferă oxidativă (deoarece cele mai multe procese în care sunt implicate substanțele cu potențial bioactiv, respectiv cele deja utilizate curent în practica farmaceutică au loc în aer) s-a efectuat în conformitate cu prevederile *International Confederation for Thermal Analysis and Calorimetry* (ICTAC) 2000, care prevede folosirea mai multor viteze de încălzire, respectiv utilizarea metodelor izoconversionale pentru estimarea tripletei cinetice. Astfel, în cele mai multe studii, am folosit două metode izoconversionale integrale (Flynn–Wall–Ozawa și Kissinger-Akahira-Sunose) și una diferențială (Friedman), respectiv o a patra metodă, elaborată de Ramon Serra, Rosa Nomen și Julià Sempere, și dezvoltată și modificată ulterior de Titus Vlase, Gabriela Vlase și Nicolae Doca, metoda cinetică non-parametrică, NPK. Principalele avantaje ale utilizării metodei NPK sunt reprezentate de faptul că permite o identificare și separare clară a proceselor individuale paralele care apar în procesul global de degradare al unui compus, precum și faptul că oferă informații legate de natura transformării (o reacție chimică sau o tranziție fizică).

În ceea ce privește studiile de compatibilitate între substanțe active farmaceutice și excipienți, tehnicile de screening fizico-chimic complex au câștigat un loc fruntaș în tehnologia modernă a medicamentului, fiind tot mai des implementate în fazele de preformulare, deoarece furnizează rezultate rapide, fiabile și reproductibile. Astfel, în teza de abilitare este prezentat un exemplu de studiu de preformulare ce vizează compusul activ farmaceutic simvastatin și opt excipienți (amidon, celuloză microcristalină, lactoză monohidrat, polivinilpirolidon, silice coloidală, talc, citrat de magneziu și sorbitol) frecvent utilizați în tehnica farmaceutică, cu diverse roluri în formularea finală. Prin coroborarea rezultatelor obținute prin screening fizico-chimic complex, precum analiză termogravimetrică și termogravimetrică diferențială, analiză de flux termic, spectroscopie în infraroșu cu transformată Fourier și difracție de raze X pe pulbere), au putut fi selectați excipienții cu care substanța activă prezintă incompatibilitate.

Partea a II-a a tezei de abilitare prezintă în cele două subcapitole planurile de evoluție și dezvoltare a carierei profesionale și științifice, respectiv a celei academice.

Partea a III-a a tezei de abilitare este reprezentată de lista celor 309 de referințe bibliografice consultate.

SUMMARY

The habilitation thesis "Complex Physical and Chemical Screening Techniques of Pharmaceutical Interests and Potential Bioactive Compounds" presents synthetically the results of the scientific research activity that I have carried out over the last 6 years, after obtaining the scientific title of Doctor of Exact Sciences - Chemistry in 2011.

Subsequent defending the PhD thesis, the scientific research activity was oriented in three main directions, interconnected, demonstrating a strong inter- and transdisciplinary character. This habilitation thesis is focused on all three directions, namely:

1) Synthesis, physicochemical characterization (spectroscopic techniques and thermal analysis) and screening of the biological activity of new organic synthetic or semi-synthetic compounds, respectively of some metal complexes with transitional ions;

2) Studies of solid-state thermal stability of some active pharmaceutical ingredients or potentially bioactive compounds using classical and isoconversional kinetic methods, with the establishment of the decomposition mechanism;

3) Studies regarding the solid-state compatibility of some active pharmaceutical ingredients with excipients (preformulation studies) using instrumental techniques.

The habilitation thesis is structured in three parts, based on **10 papers that I considered representative** out of the **78 personal scientific articles published in ISI Web of Science after defending the PhD thesis**: 47 as main author (23 first author and 24 correspondent author) and 31 as co-author.

Part I of the habilitation thesis presents in the three subchapters the main professional, academic and scientific achievements, namely the current scientific context regarding the importance of the approached domains, with reference to personal publications, but also to the numerous studies recently published by other research groups.

The first research direction focused on the synthesis and characterization by complex (physicochemical and biological) screening of new derivatives belonging to the class of heterocycles (1,2,4-triazoles) and triterpenoid semisynthetic compounds, derivatives of betulin – betulonic acid.

Chemistry of 1,2,4-triazoles is considered the research topic that continues the studies undertaken within the doctoral thesis, aiming in particular at optimizing the reaction conditions by which the synthesis of the functionalized products can be made as easy as possible. At the same time, for the synthesized compounds the thermal stability was investigated, following their use as ligands and study of their complexes with transition metals.

The biological activity of the synthesized compounds (both 1,2,4-triazole

derivatives and betulonic acid and its derivatives) was evaluated in two directions - by testing the antiproliferative effect and cytotoxic potential of the compounds, respectively testing the antibacterial activity by using some standardized protocols.

The evaluation of thermal stability in solid-state by employing kinetic methods on thermolysis mechanisms was carried out in an oxidative atmosphere (because most processes involving potentially bioactive substances or active pharmaceutical ingredients are taking place in air), and was performed in accordance with the recommendations of the International Confederation for Thermal Analysis and Calorimetry (ICTAC) 2000 protocols, which indicate the use of several heating rates and the use of isoconversional methods for the estimation of kinetic triplet. Following these considerations, in the majority of our studies, we employed two isoconversional integral methods (Flynn–Wall–Ozawa and Kissinger-Akahira-Sunose) a differential one (Friedman), respectively a fourth method, elaborated by Ramon Serra, Rosa Nomen and Julià Sempere, and later developed by Titus Vlase, Gabriela Vlase and Nicolae Doca, the non-parametric kinetic method, NPK. The main advantages of using the NPK method are that it allows a clear identification and separation of the individual parallel processes occurring in a compound's overall degradation process and that it provides information about the nature of the transformation (a chemical reaction or a physical transition).

Concerning compatibility studies between active pharmaceutical ingredients and excipients, complex physico-chemical screening techniques have gained a leading edge in modern drug technology, being increasingly implemented in preformulation studies, as it provides rapid, reliable and reproducible results. Thus, in the habilitation thesis is presented an example of a preformulation study of the pharmaceutical active compound simvastatin and eight excipients (starch, microcrystalline cellulose, lactose monohydrate, polyvinylpyrrolidone, colloidal silica, talc, magnesium citrate and sorbitol) frequently used in the solid formulations, with various roles in the final formulation. By corroboration of the results obtained by complex physico-chemical screening, such as thermogravimetric and differential thermogravimetric analysis, heat flux analysis, Fourier transform infrared spectroscopy and powder X-ray diffraction, the incompatibility of the active pharmaceutical ingredient with some excipients was revealed.

Part II of the habilitation thesis presents in the two subchapters the plans for evolution and development of the professional and scientific career, respectively of the academic one.

Part III of the habilitation thesis presents the list of the 309 bibliographic references consulted.

LISTA CELOR 10 LUCR RI REPRESENTATIVE CARE SUS IN CON INUTUL TEZEI

1. **Ionu Lede i**, Adriana Fulia ☒, Gabriela Vlase, Titus Vlase, Vasile Bercean, Nicolae Doca, Thermal behaviour and kinetic study of some triazoles as potential anti-inflammatory agents, *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 2013, 114(3): 1295-1305, DOI 10.1007/s10973-013-3123-2. IF=2,206/2013; <https://link.springer.com/article/10.1007/s10973-013-3123-2>
2. **Ionu Lede i**, Vasile Bercean☒, Anda Alexa, Codruta Soica, Lenuta-Maria Suta, Cristina Dehelean, Cristina Trandafirescu, Delia Muntean, Monica Licker, Adriana Fulias, Preparation and Antibacterial Properties of Substituted 1,2,4-Triazoles, *Journal of Chemistry*, 2015, Article no. 879343, 1-5, DOI: 10.1155/2015/879343. IF=0,996/2015; <https://www.hindawi.com/journals/jchem/2015/879343/>
3. **Ionu Lede i**, Anda Alexa, Vasile Bercean, Gabriela Vlase, Titus Vlase, Lenuta-Maria Suta, Adriana Fulia ☒, Synthesis and Degradation of Schiff Bases Containing Heterocyclic Pharmacophore, *International Journal of Molecular Sciences*, 2015, 16 (1) 1711-1727, DOI: 10.3390/ijms16011711. IF=3,257/2015; <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4307329/>
4. **Ionu Lede i**, Gabriela Vlase☒, Titus Vlase, Vasile Bercean, Adriana Fulia , Kinetic of solid state degradation of transitional coordinative compounds containing functionalized 1,2,4 -triazolic ligand, *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 2015, 121(3): 1049-1057, DOI: 10.1007/s10973-015-4520-5. IF=1,781/2015; <https://link.springer.com/article/10.1007/s10973-015-4520-5>
5. **Ionu Lede i**, Vasile Bercean, Gabriela Vlase, Titus Vlase, Adriana Ledeti☒, Lenuta Maria Suta, Betulonic Acid - Study of Thermal Degradation by Kinetic Approach, *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* 2016; 125(2): 785-791, DOI: 10.1007/s10973-016-5299-8, IF=1,781/2015; <https://link.springer.com/article/10.1007/s10973-016-5299-8>
6. **Ionu Lede i**, tefana Avram☒, Vasile Bercean, Gabriela Vlase, Titus Vlase, Adriana Lede i*, Istvan Zupko, Marius Mioc, Lenuta-Maria Suta, Codruta Soica, Cristina Dehelean, Solid-State Characterization and Biological Activity of Betulonic Acid Derivatives, *Molecules*, 2015, 20(12): 22691-22702, DOI: 10.3390/molecules201219876. IF=2,465/2015. <http://www.mdpi.com/1420-3049/20/12/19876>
7. **Ionu Lede i**, Adriana Ledeti☒, Gabriela Vlase, Titus Vlase, Petru Matusz, Vasile Bercean, Lenuta Maria Suta, Doina Picu, Thermal stability of synthetic thyroid hormone L-thyroxine and L-thyroxine sodium salt hydrate both pure and in pharmaceutical formulations, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2016; 125: 33–40. IF=3,169/2015; <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0731708516301443>
8. **Ionu Lede i**, Gabriela Vlase, Titus Vlase, Adriana Fulias☒, Kinetic analysis of solid-state degradation of pure pravastatin versus pharmaceutical formulation, *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* 06/2015; 121(3):1103-1110, DOI:10.1007/s10973-015-4842-3. IF=1,781/2015; <https://link.springer.com/article/10.1007/s10973-015-4842-3>
9. **Ionu Lede i**, Gabriela Vlase, Titus Vlase, Adriana Fulias☒, Lenuta-Maria Suta, Comparative thermal stability of two similar-structure hypolipidemic agents – Simvastatin and Lovastatin. Kinetic Study, *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* 2016; 125(2): 769-775, DOI:10.1007/s10973-015-5071-5. IF=1,781/2015; <https://link.springer.com/article/10.1007/s10973-015-5071-5>
10. **Ionu Lede i**, Gabriela Vlase, Titus Vlase, Lenuta-Maria Suta, Anamaria Todea, Adriana Fulias☒, Selection of solid-state excipients for simvastatin dosage forms through thermal and nonthermal techniques, *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* 06/2015; 121(3):1093-1102, DOI:10.1007/s10973-015-4832-5. IF=1,781/2015; <https://link.springer.com/article/10.1007/s10973-015-4832-5>

PARTEA I. PRINCIPALELE REALIZ RI PROFESIONALE, ACADEMICE I TIIN IFICE

I.1. PRINCIPALELE REALIZ RI PROFESIONALE I ACADEMICE

Teza de abilitare „Tehnici de screening fizico-chimic complex a unor compu i de interes farmaceutic i cu poten ial activitate biologic ” prezint succint activitatea de cercetare tiin ific pe care am desf urat-o ulterior ob inerii titlului tiin ific de doctor în anul 2011 (sus inere teze de doctorat în 26 noiembrie 2010, confirmare prin Ordinul MECTS nr. 4387/06.06.2011) în domeniul tiin e exacte - Chimie.

Activitatea de cercetare tiin ific am început-o o dat cu admiterea ca doctorand cu frecven în domeniul tiin e exacte - Chimie, în cadrul Universit ii Politehnica Timi oara, sub îndrumarea regretatului Prof.univ.dr.chim. Carol Csunderlik. Teza de doctorat a vizat sinteza i caracterizarea fizico-chimic a mercapto-triazolilor func ionaliza i ca i compu i cu poten ial activitate biologic . Principalele competen e tiin ifice dobândite pe parcursul stagiului doctoral au fost sinteza organic fin a heterociclicilor cu con inut de azot i func ionalizarea acestora, precum i o aprofundare teoretic i practic a metodelor instrumentale moderne de analiz , incluzând tehnicile spectroscopice FTIR, RMN, dar i cromatografice (GC-MS). Întreaga parte experimental a tezei de doctorat a fost realizat în cadrul Facult ii de Chimie Industrial i Ingineria Mediului din Timi oara, în colectivul laboratorului de cercetare condus de domnul ef de lucr ri dr. ing. Vasile Bercean.

Scopul tezei de doctorat l-a constituit:

- Studiul reac iilor de func ionalizare pentru 1*H*-5-mercapto-1,2,4-triazolii-3-substitui i (4) i 4*H*-4-amino-3-mercapto-1,2,4-triazolii-5-substitui i, pentru a stabili dac reac ia de alchilare decurge la atomul de sulf exociclic sau la unul din atomii de azot endociclici. Studiile realizate au ar tat c reac ia de alchilare decurge exclusiv i cantitativ la atomul de sulf exociclic.

- Ob inerea unor produ ii de S-alchilare ce prezint capacitate m rit de complexare i posibil activitate biologic . Au fost ob inu i 38 de compu i, majoritatea fiind noi sau sintetiza i printr-o metod nou .

- Studiul comparativ al reactivit ii amino-triazolilor S-func ionaliza i fa de cei nefunc ionaliza i în sinteza unor deriva i azometinici la gruparea amino exociclic ;

- Sinteza i caracterizarea preliminar a unor complec i ai unor ioni metalici tranzi ionali bivalen i cu deriva i S-alchila i ai 1,2,4-triazolilor;

- Evaluarea activit ii biologice a unora dintre compu ii sintetiza i, pe baza unor teste *in vitro*.

Pe lâng tehnicile de screening analitic instrumental, în cadrul tezei de doctorat am studiat i activitatea biologic a unora dintre compu ii sintetiza i, prin colaborare cu Facultatea de Farmacie din cadrul Universit ii din Szeged. Compu ii au fost testa i *in vitro* pentru activitatea antiproliferativ pe trei linii celulare umane de cancer, i anume: adenocarcinomul cervical (de col uterin) (HeLa), adenocarcinomul mamar (MCF7), respectiv carcinomul celular scuamos (cancer de piele) A431. Toate substan ele au fost testate la 2 concentra ii (10 μM , respectiv 30 μM) i s-au dovedit a fi moderat-activi sau inactivi. S-a demonstrat faptul c compu ii testa i sunt mai activi pe linia celular HeLa i practic inactivi pe linia celular MCF7, cu excep ia a doi compu i.

Teza de doctorat a fost publicat ca i monografie cu ISBN în editur na ional , conform cerin elor H.B.Ex.S 14/14.07.2006 a Universit ii Politehnica din Timi oara:

1. **Lede i Ionu -Valentin**, *Studiul sintezei mercapto-triazolilor func ionaliza i, compu i cu poten ională activitate biologic* , Editura Politehnica Timi oara, Seria Teze de doctorat 2(14), 2010, ISBN 978-606-554-217-4, 258 pagini.

În perioada februarie 2009-septembrie 2011 am ocupat prin concurs postul de preparator universitar la Universitatea de Medicin i Farmacie „Victor Babe ” din Timi oara, Facultatea de Farmacie, Catedra I Farmacie, Disciplina Chimie Fizic , unde am coordonat lucr rile practice din cadrul disciplinei (*Chimie fizic I i II*, anul II specializarea Farmacie). În perioada septembrie 2011-martie 2013 am ocupat postul de asistent universitar doctor în cadrul aceleia i discipline, respectiv conducerea lucr rilor practice de *Chimie fizic I i II*, i a seminarelor de *Metodologia cercet rii tiin ifice farmaceutice* (anul IV, specializarea Farmacie).

În perioada martie 2013-septembrie 2015 am ocupat prin concurs postul de ef de lucr ri doctor la Universitatea de Medicin i Farmacie „Victor Babe ” din Timi oara, Facultatea de Farmacie, Departamentul I Farmacie, Disciplina Chimie Fizic , dobândind calitatea de titular de curs (*Chimie fizic II*, anul II specializarea Farmacie) i conducerea lucr rilor de laborator la disciplinele *Chimie fizic I i II* (anul II, specializarea Farmacie) i *Principii de Chimie fizic I i II* (anul I, specializarea Asisten de Farmacie).

Din septembrie 2015 i pân în prezent sunt Conferen iar universitar doctor în cadrul disciplinei de Chimie Fizic , Facultatea de Farmacie, UMF „Victor Babe ” Timi oara, fiind titular al cursurilor de *Chimie fizic II* (anul II, specializarea Farmacie), *Principii de Chimie fizic I* (anul I, specializarea Asisten de Farmacie), *Proiectarea medicamentului* (curs

op ional, anul III, specializarea Farmacie), respectiv *Polimorfismul substan elor medicamentoase* (curs op ional, anul V, specializarea Farmacie).

În aceast perioad , am participat în calitate de prim autor sau coautor la publicarea a 7 c r i, i anume:

1. Georgeta Maria Simu, **Ionu -Valentin Lede i**, *Lucr ri practice i probleme de Chimie fizic pentru farmaci ti*, Lito U.M.F.T., 2008, 164 pagini;
2. Georgeta Maria Simu, **Ionu -Valentin Lede i**, *Chimie Physique Appliquée pour Pharmaciens*, Editura Mirton, Timi oara, 2009, ISBN 978-973-52-0703-8, 126 pagini;
3. **Ionu -Valentin Lede i**, Georgeta Maria Simu, *Chimie fizic aplicat pentru farmaci ti (I)*, Editura Mirton, Timi oara, 2010, ISBN 978-973-52-0908-7, 122 pagini;
4. Georgeta Maria Simu, **Ionu -Valentin Lede i**, *Chimie fizic aplicat pentru farmaci ti (II)*, Editura Mirton, Timi oara, 2011, ISBN 978-973-52-1006-9, 120 pagini;
5. Georgeta Maria Simu, **Ionu -Valentin Lede i**, *Chimie Physique Appliquée – Thermodynamique classique, Propriétés structurales des molécules*, Editura Mirton, Timi oara, 2011, ISBN 978-973-52-1103-5, 110 pagini;
6. **Ionu -Valentin Lede i**, Georgeta Maria Simu, *Chimie Physique Appliquée – Spectroscopie, Electrochimie, Cinétique chimique, Systèmes disperses*, Editura Mirton, Timi oara, 2012, ISBN 978-973-52-1207-0, 128 pagini;
7. Georgeta Maria Simu, Ludovic Kurunczi, **Ionu -Valentin Lede i**, *Chimie Physique Notes de Cours, Tome Second : Spectroscopie, Cinétique et Colloïdes*, Editura Victor Babe , Timi oara, 2014, ISBN 978-606-8456-01-0, 224 pagini.

În perioada octombrie 2010-septembrie 2011 am urmat, în paralel cu studiile doctorale, studii de master în domeniul Farmacie, în cadrul Universit ii de Medicin i Farmacie „Victor Babe ” din Timi oara, Facultatea de Farmacie. În cadrul programului masteral *Formularea i evaluarea produsului dermato-cosmetic* coordonat de doamna prof.univ.dr. Anca-Octavia Dragomirescu am studiat o serie de discipline de specialitate din domeniul farmaceutic, care mi-au permis o mai bun în elegere i aprofundare a importan ei chimiei în domeniul medical-farmaceutic. Lucrarea de diserta ie *Modelarea prin rela ii QSAR a permeabilit ii pielii la diver i agen i chimici* elaborat sub coordonarea tiin ific a domnului prof.univ.dr. Ludovic Kurunczi a deschis un nou orizont didactic i de cercetare, i anume Chimia computa ional .

Ulterior studiilor masterale și doctorale, am urmat studii postdoctorale în perioada mai 2015 - septembrie 2015 în cadrul Universității de Vest din Timișoara, Facultatea de Fizică. Bursa de cercetare a fost obținută în urma depunerii unui proiect de cercetare câștigat prin competiție, și anume *Studiul interacțiunilor induse termic la compuși bioactivi prin tehnici hibridate și complementare*. Sursa de finanțare a bursei postdoctorale a fost proiectul POSDRU/159/1.5/S/137750 unde am participat ca membru al grupului de lucru. Pe lângă rezultatele științifice obținute în cadrul cercetărilor efectuate, am dobândit și o serie de competențe transversale, ca urmare a participării la diverse cursuri și workshop-uri în cadrul proiectului respectiv.

Pe întreg parcursul carierei universitare (2008-2017), m-am preocupat continuu de perfecționarea activității didactice, implicându-mă activ în cadrul disciplinei alături de eful de disciplină în modernizarea programelor analitice ale disciplinelor existente (*Chimie fizică, Principii de Chimie fizică, Fenomene fizico-chimice la interfețe, Proiectarea medicamentului*), precum și în elaborarea fișelor de disciplină pentru materii nou introduse în planurile de învățământ (*Polimorfismul substanțelor medicamentoase*). Îmbunătățirea continuă a conținutului cursurilor dar și a lucrărilor practice de *Chimie fizică* este necesară, actualizând periodic conținutul și aducându-l cât mai aproape de nevoile studentului farmacist, în acord cu cerințele disciplinelor de specialitate (*Tehnologie farmaceutică, Chimie farmaceutică și terapeutică, Toxicologie, Farmacocinetică și Biofarmacie* etc.).

Din punct de vedere didactic, studenții au acces la o serie de surse de documentare suplimentare atât pentru curs, cât și pentru elaborarea lucrării de licență. Pe lângă cărțile în format tipărit din cadrul Bibliotecii UMF, studenții au acces și la versiunea electronică a prelegerilor de la curs. Lucrările practice se desfășoară pe grupe de lucru în sistem rotațional și au fost, pe cât posibil, adaptate necesităților studentului farmacist. Totodată, lucrările practice sunt alese în acord cu conținutul cursurilor și familiarizează studentul cu tehnicile de lucru instrumentale.

Implicarea activă în desfășurarea procesului didactic este susținută de o serie de activități realizate în cadrul colectivului în care activez:

- sunt responsabil cu întocmirea orarelor la anii I și II de studiu, seria Farmacie în limba română și seria Farmacie în limba franceză, precum și cu întocmirea orarului la anul I, seria Asistență de Farmacie, extensie Lugoj;
- sunt responsabilul departamentului Farmacie I cu centralizarea datelor de cercetare științifică, atât pentru raporturile interne (din cadrul Universității de Medicină și Farmacie Victor Babeș), cât și pentru raporturile externe, instituționale;

- am participat activ, anual, la programul *coala altfel*, prezentând elevilor de gimnaziu i liceu laboratoarele i specificul Facult ii de Farmacie;
- am colaborat cu Liga Studen ilor Farmaci ti Timi oara i am r spuns solicit rilor lor în diverse ocazii, precum organizarea Galei Studentului Farmacist, edi ia a VI-a, decembrie 2015, cu prezentarea unei conferin e *Lucrarea tiin ific – de la idee la diseminare*, precum i ca evaluator al lucr rilor tiin ifice prezentate de studen i în cadrul galei;
- am fost nominalizat la titlul de *Profesor Bologna*, edi iile 2016 i 2017, de c tre studen ii de la specializarea Farmacie;
- am participat activ la coordonarea lucr rilor tiin ifice prezentate de studen ii farmaci ti la diverse manifest ri tiin ifice na ionale i interna ionale: *MEDIS Timi oara* (24-27.04.2014), *Gala Studen ilor Farmaci ti din România 2015, Edi ia a VI-a Timi oara* (3-6.12.2015), *Congresul na ional al studen ilor farmaci ti Edi ia a XIII-a, Implicarea farmacistului în tratamentul oncologic*, Cluj-Napoca (1-5.04.2015), *Congresul Na ional al Studen ilor Farmaci ti din România, Craiova* (30.03-3.04.2016), *Evi Tudomanyos Diakkori Konferencuaja*, Szeged, Ungaria (10-14.02.2015).
- am participat la o serie de cursuri pentru utilizarea unor echipamente i programe utilizate în activitatea de cercetare: analiz termic (termobalan Perkin Elmer Diamond), calorimetru cu scanare diferen ial (Mettler-Toledo DSC1), program de estimare a parametrilor cinetici privind descompunerea eterogen (AKTS Thermokinetics) etc.
- am participat activ la concursurile de admitere, la examenele de licen i de reziden iat anual în perioada 2009-2017, fiind supraveghetor sau ef de sal ;
- am fost lector la o serie de cursuri postuniversitare pentru farmaci ti, în perioada 2012-2017;

I.2. PRINCIPALELE REALIZ RI TIIN IFICE

În perioada 2007-2011, per parcursul stagiului de doctorat, am publicat în calitate de prim-autor dou lucr ri tiin ifice ISI [1, 2], respectiv o lucrare ISI ca i coautor [3] din teza de doctorat i am participat cu 5 lucr ri tiin ifice la dou conferin e na ionale cu participare interna ional : *New Trends and Strategies in the Chemistry of Advanced Materials*, 5-6 noiembrie 2009, Timi oara, respectiv *XXX-th Romanian Chemistry Conference*, 8-10 octombrie 2008 C lim ne ti-C iulata, Vâlcea.

Ulterior sus inerii tezei de doctorat în noiembrie 2010, am continuat i dezvoltat activitatea de cercetare în domeniul Chimie, dar i Farmacie, în urm toarele direc ii:

- 1) Ob inerea, caracterizarea fizico-chimic (tehnici spectroscopice i analiz termic) i screening-ul activit ii biologice a unor noi compu i organici de sintez sau semisintez , respectiv a unor combina ii coordinative cu ioni tranzi ionali a acestora;
- 2) Studii de stabilitate termic în stare solid a unor substan e de interes farmaceutic sau cu poten ial activitate biologic folosind metode cinetice clasice i izoconversionale, respectiv stabilirea mecanismului de descompunere a acestora.
- 3) Studii de compatibilitate a unor substan e de interes farmaceutic cu diver i excipien i farmaceutici în stare solid (studii de preformulare) prin diverse tehnici instrumentale (analiz termic , difrac ie de raze X pe pulbere, spectroscopie FTIR etc.);

Din cele 3 domenii de cercetare interdisciplinare pe care le-am abordat, prima a vizat preponderent activit i de cercetare ulterioare în domeniul studiilor doctorale, ultimele dou fiind dezvoltate ca domenii de cercetare noi, corelate i cu specificul locului de munc actual (Facultatea de Farmacie). Totu i, cercet rile realizate au avut un puternic caracter inter- i transdisciplinar, neputând delimita clar domeniile de cercetare, cel pu in în ceea ce prive te diseminarea rezultatelor cercet rii în articole ISI.

Informa ii din baza de date Scopus [4]

Pân în prezent, am publicat în calitate de autor principal sau coautor un num r de 84 de lucr ri ISI, din care indexate în baza de date Scopus se reg sesc pân în clipa de fa 81 (Figura 1).



Figura 1. Rezultatul c ut rii dup autor „Ledeti Ionuț” în baza de date Scopus (6 iunie 2017)[4]

În ceea ce prive te distribu ia lucr rilor pe reviste de specialitate (Figura 2), 35 de lucr ri au fost publicate în Revista de Chimie Bucure ti [1, 3, 5–36], 26 de lucr ri în Journal of Thermal Analysis and Calorimetry [37–64], restul de 26 de lucr ri fiind publicate în Revue Roumaine De Chimie – 4 lucr ri [65–68], Chemistry Central Journal – 3 lucr ri [69–71], Digest Journal Of Nanomaterials And Biostructures – 2 lucr ri [72, 73], International Journal Of Molecular Sciences – 2 lucr ri [74, 75], Journal Of Pharmaceutical And Biomedical

Analysis – 2 lucr ri [76, 77], Journal Of The Serbian Chemical Society – 1 lucrare [78], Materiale Plastice – 2 lucr ri [26, 79], Experimental And Clinical Cardiology – 1 lucrare [80], Journal Of Chemistry – 1 lucrare [81], Journal Of Organometallic Chemistry – 1 lucrare [82], Journal Of Spectroscopy – 1 lucrare [83], Macromolecular Symposia – 1 lucrare [84], respectiv Molecules – 1 lucrare [85].

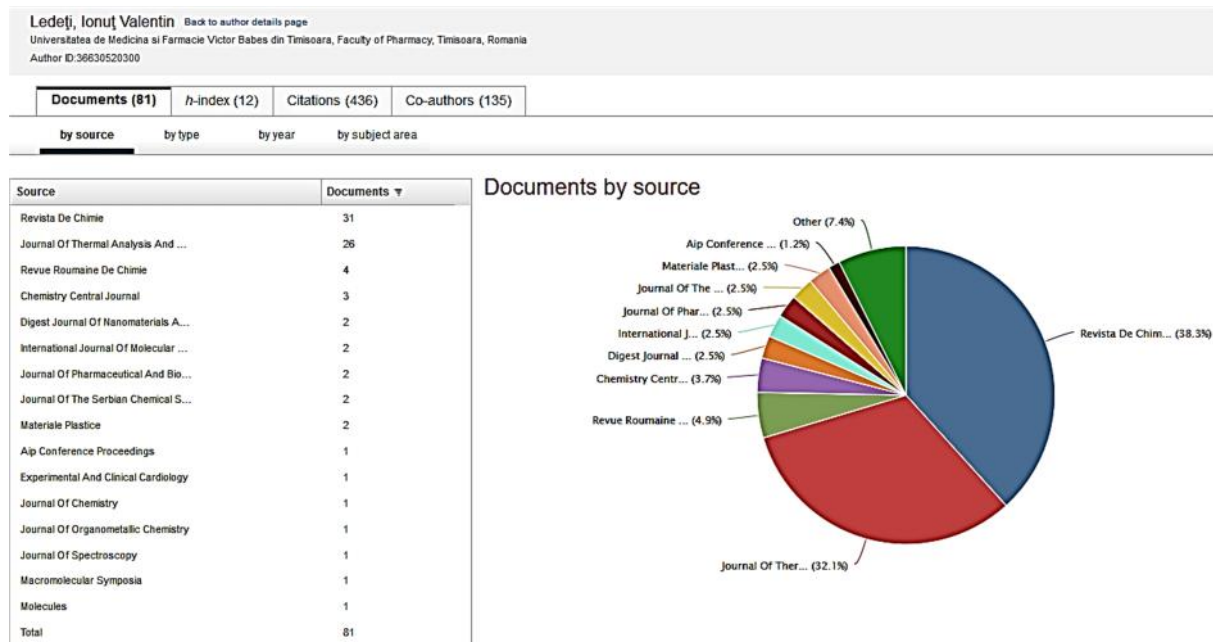


Figura 2. Distribu ia lucr rilor ISI pe reviste conform Scopus în perioada 2010-2017 [4]

În ceea ce prive te evolu ia num rului de publica ii pe ani, în Figura 3 sunt prezentate rezultatele furnizate de baza Scopus, variind de la o singur publica ie ISI în 2011 i 2012, la 22 de publica ii ISI în 2014 (Figura 3).

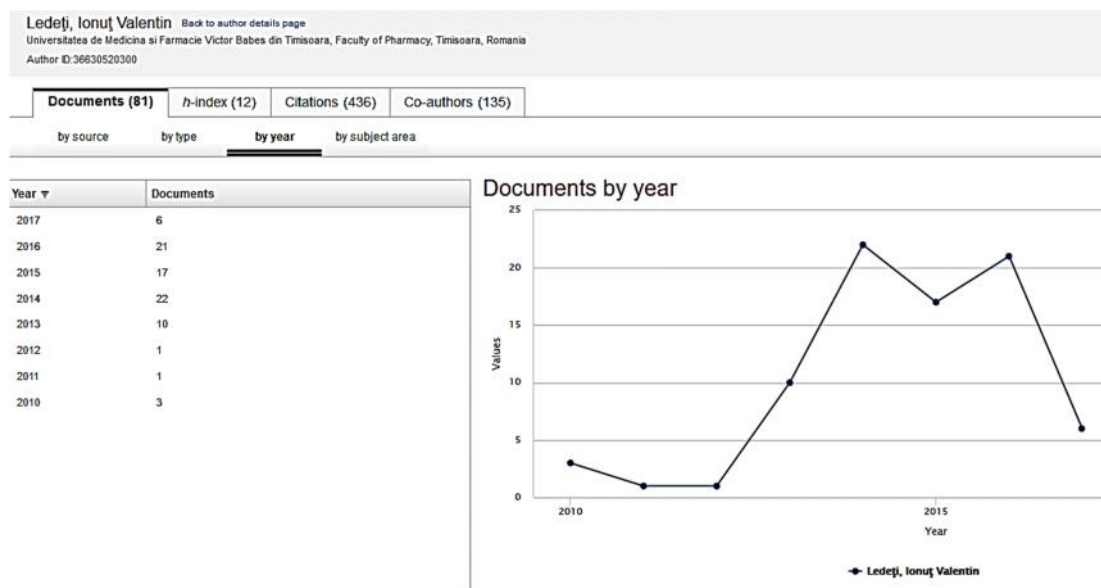


Figura 3. Distribu ia lucr rilor ISI pe ani (2010- iunie 2017) conform Scopus [4]

Legat de distribu ia materialelor publicate pe categorii de lucr ri, conform Scopus, 78 sunt articole ISI in extenso de tip „original article” iar 3 articole sunt încadrate ca lucr ri asociate conferin elor ISI (Figura 4).

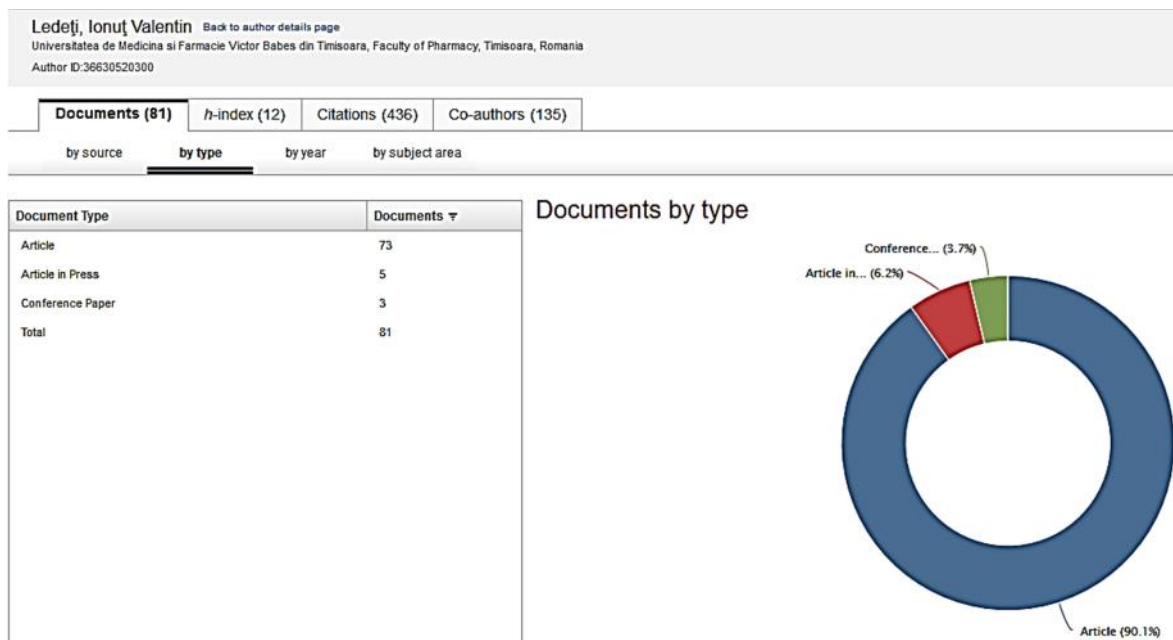


Figura 4. Distribu ia lucr rilor ISI publicate pe categorii de lucr ri, conform Scopus [4]

Articolele publicate au fost citate de 436 de ori în perioada 2010-2017, conform distribu iei prezentate în Figura 5. Conform datelor furnizate de baza de date Scopus, indicele **h-index** calculat este 12.

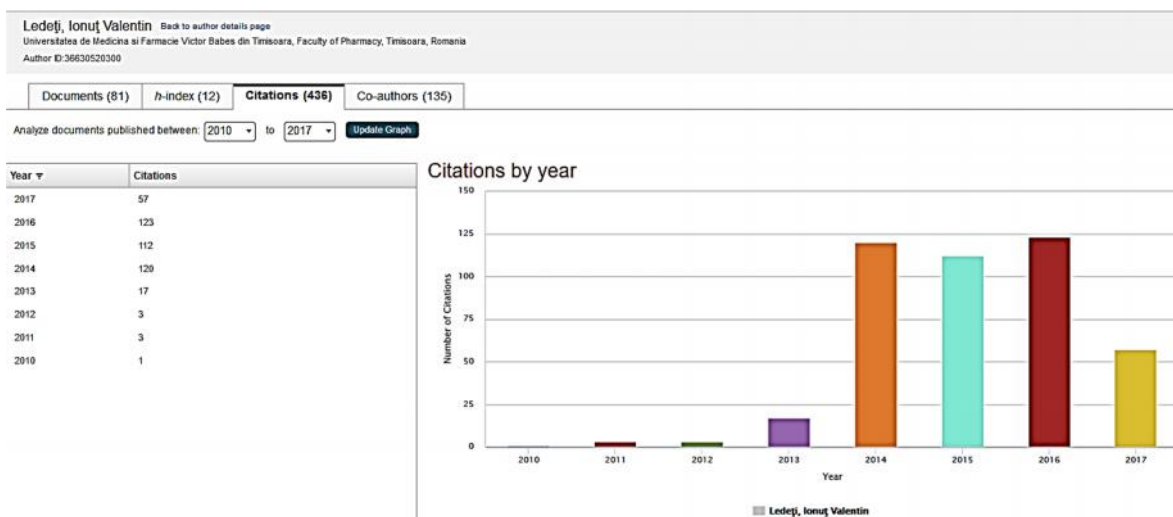


Figura 5. Distribu ia cit rilor în sistem ISI pentru articolele publicate în perioada 2010-2017, conform Scopus [4]

Informa ii din baza de date Isi Web of Science [86]

Conform bazei de date ISI Web of Science, num rul de articole indexate este 76. Diferen a între cele dou baze de date apare din cauza faptului c baza de date Scopus indexeaz inclusiv articolele „in press” sau „online first”, pe când Web of Science indexeaz articolele doar dup apari ia formei „print”.

Articolele publicate au acumulat un num r de 233 de cit ri, f r autocit ri, iar indicele **h-index** calculat este **15**. Figura 6 prezint de asemenea distribu ia pe ani a cit rilor, respectiv a materialelor publicate.

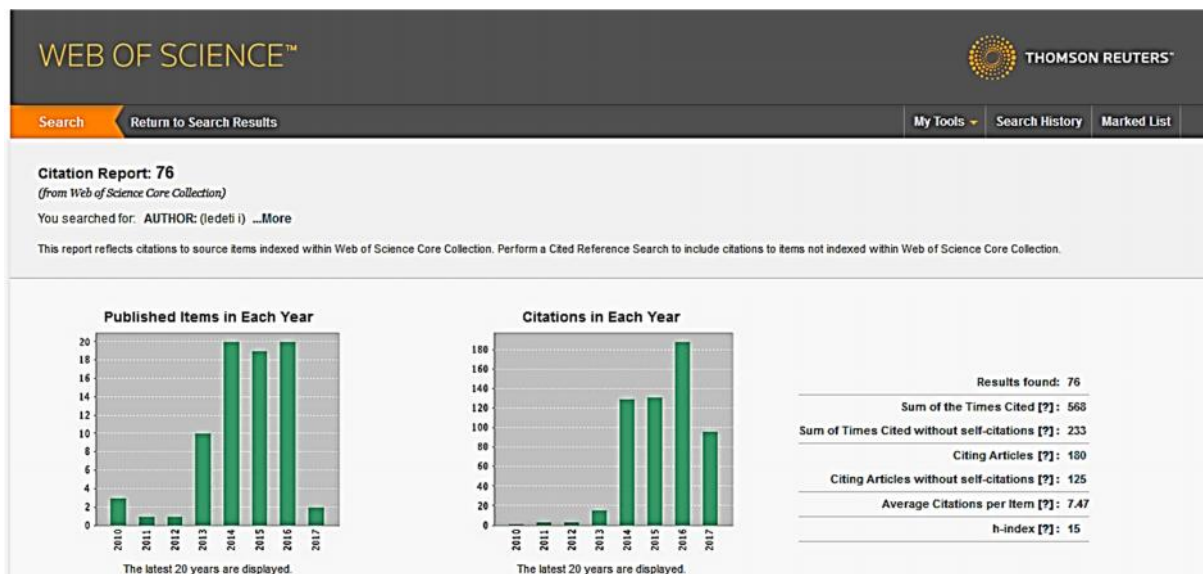


Figura 6. Rezultatul c ut rii dup autor „Ledeti Ionu” în baza Web of Science (6 iunie 2017) [86]

Informa ii din baza de date Google Scholar [87]

Baza de date Google Scholar (Figura 7) indic un num r de 491 de cit ri în sistem ISI i BDI, din care 481 de cit ri în perioada 2012-2017, un **h-index 11**, respectiv un i10-index egal cu 18.



Figura 7. Rezultatul c ut rii dup autor „Ledeti Ionu” în baza Google Scholar (6 iunie 2017) [87]

Rezultatele privind distribu ia lucr rilor ISI pe tipul de autor (autor principal vs. coautor) i factorul de impact cumulat sunt prezentate în **Tabelul 1**.

Tabelul 1. Rezultate (sintetic) privind contribu ia la lucr rile tiin ifice publicate

Anul	Total lucr ri	Prim autor	Coresp	Ultim	Coautor	Total IF	IF prim autor	IF coresp	IF ultim	IF coautor
2010	3	2	0	0	1	2.079	1.386	0	0	0.693
2011	1	0	0	0	1	0.599	0	0	0	0.599
2012	1	0	0	0	1	3.281	0	0	0	3.281
2013	10	3	3	1	3	13.100	3.276	3.615	1.663	4.546
2014	20	4	6	5	5	23.222	4.472	6.956	6.784	5.010
2015	19	8	6	0	5	26.935	13.973	7.343	0	5.619
2016	22	4	8	4	6	35.26	10.346	10.107	4.474	10.333
2017	5	4	1	0	0	11.718	7.812	3.906	0	0
TOTAL	81	25	24	10	22	116.194	41.265	31.927	12.921	30.081

Articolele ISI publicate sunt fie rezultatul unor teme proprii de cercetare, pe plan intern, fie sunt rezultate ob inute în cadrul proiectelor de cercetare în care am participat. Astfel, în cadrul activit ii de cercetare desf urat în Universitatea de Medicin i Farmacie, dar i în cadrul bursei postdoctorale POSDRU/159/1.5/S/137750 din cadrul Universit ii de Vest din Timi oara, am participat la 4 proiecte de cercetare-dezvoltare ob inute prin competi ie, respectiv ca membru al grupului int , burs postdoctoral în cadrul proiectului POSDRU/159/1.5/S/137750 i anume:

- Director de proiect, Programul Tineri cercet tori II-C2-TC-2014-08, contract nr. 16498-08/20.12.2013: *Studii privind sinteza, caracterizarea, comportarea fizico-chimic i evaluarea bioactivit ii prin screening complex a unor deriva i triazolici i triterpenici*, volum finan are: 22500 RON (5000 euro);
- Director de proiect, Programul Parteneriate în Cercetarea Fundamental Inovativ III-C4-PCFI-2016/2017-02, contract nr. 68/04.01.2016: *Cercet ri fundamentale interdisciplinare privind monitorizarea, evaluarea i corelarea proceselor litogenice cu aspectele etiopatogenice prin screening instrumental inovativ*, volum finan are 135000 RON (30000 euro);
- Responsabil de proiect partener P1, Programul Parteneriate în Cercetarea Fundamental Inovativ III-C1-PCFI-2014/2015, contract nr. 33-03/06.01.2014: *Sinteza unor compu i cu poten ial activitate antitumoral prin reac ii de derivatizare i caracterizarea acestora prin tehnici hifenate. Evaluarea activit ii antiangiogenice, antineoplazice i antiinflamatoare*, volum finan are 135000 RON (30000 euro);
- Cercet tor postdoctoral, proiectul PN-II-RU-TE-2014-4-0515, contract nr. 189/01.10.2015: *Neurodegenerarea i bolile cerebrale: o nou abordare instrumental*

de analiză și dezvoltare a unor forme farmaceutice, volum finanțare: 495000 RON (110000 euro).

- Membru al grupului de lucru, bursă postdoctorală în cadrul proiectului POSDRU/159/1.5/S/137750 „Programe doctorale și postdoctorale - suport pentru creșterea competitivității cercetării în domeniul științelor exacte”, Universitatea de Vest din Timișoara, Facultatea de Fizică : *Studiul interacțiunilor induse termic la compuși bioactivi prin tehnici hibridate și complementare.*

Lista proiectelor de cercetare din care am făcut parte poate fi consultată online pe site-ul UMFVBT la secțiunea „Proiecte de cercetare” [88].

Capacitatea individuală a candidatului de a coordona echipe de cercetare, de a organiza și gestiona activități formative, de explicare și facilitare a învățării și cercetării este relevată de:

- Începând cu anul 2012 și până în prezent, am coordonat 29 de lucrări de licență ale studenților din anul V Farmacie, seriile Română și Franceză .
- În prezent, sunt membru în două comisii de îndrumare a doctoranzilor, atât în cadrul UMF (student doctorand Cîrcioban Denisa-Laura, conducător științific prof. dr. Cristina Dehelean, domeniul Farmacie), cât și în cadrul UPT (student doctorand Mihaela Cristea, conducător științific prof. dr. chim. Mircea Teftescu, domeniul Chimie).
- Coordonarea unui proiect de cercetare transdisciplinar în calitate de director de proiect (3 echipe de cercetare partenere formate din câte 3 responsabili de proiect și 2 membri în echipă);
- Coordonarea unei echipe de cercetare în calitate de responsabil de proiect (2 membri în echipă);

În ceea ce privește apartenența la organizații sau asociații profesionale naționale și internaționale, în prezent sunt membru în Societatea de Chimie din România, respectiv IAPC (International Association of Physical Chemists). Sunt totodată membru activ al *Centrului de cercetare - Analize termice în probleme de mediu* din cadrul Universității de Vest din Timișoara.

Pe lângă cele **81 de articole originale ISI publicate** (Tabelul 1), în perioada 2011-2016 am participat la o serie de conferințe naționale și internaționale unde am prezentat o serie de lucrări științifice pe baza datelor experimentale obținute, concretizate prin publicarea a **56 de rezumate internaționale**, astfel:

- 1st Central and Eastern European Conference on Thermal Analysis and Calorimetry,

- 7-10 septembrie 2011, Craiova, România (1 rezumat coautor);
- 11th Conference on Calorimetry and Thermal Analysis (CCTA 11); 9-13 septembrie 2012; Zakopane, Polonia (1 rezumat coautor);
 - 15th International Congress on Thermal Analysis and Calorimetry (ICTAC) 20-24 august 2012; Osaka, Japonia (1 rezumat prim autor);
 - 3rd World Conference on Physico Chemical Methods in Drug Discovery and Development, 20-26 septembrie 2013; Dubrovnik, Croaia (8 rezumate, din care 4 prim autor);
 - 2nd Central and Eastern European Conference on Thermal Analysis and Calorimetry (CEEC-TAC2), 27-30 august 2013, Vilnius, Lituania (6 rezumate, din care 2 prim autor);
 - 22st Annual International Conference on Composites/Nano Engineering (ICCE-22), 13-19 iulie 2014, Saint Julian, Malta (1 rezumat coautor);
 - 5th EuCheMS Chemistry Congress, 31 august- 4 septembrie 2014, Istanbul, Turcia (2 rezumate, din care 1 prim autor);
 - 15th International Conference „Polymers and Organic Chemistry”, 10-13 iunie 2014, Timișoara, Romania (1 rezumat prim autor și o lucrare in extenso);
 - XXXVI National Congress on Calorimetry, Thermal Analysis and Applied Thermodynamics AICAT 2014, 8-13 septembrie 2014, Cagliari (Sardinia), Italia (5 rezumate, din care 3 prim autor);
 - 2nd International Conference on Analytical Chemistry – Analytical Chemistry for a Better Life, 17-21 septembrie 2014, Târgoviște, România (2 rezumate, din care 1 prim autor);
 - Molecular Modeling in Chemistry and Biochemistry, 13-15 noiembrie 2014, Cluj-Napoca, România (2 rezumate, din care 1 prim autor);
 - Workshop: Integrarea colilor doctorale în rețelele europene, 27-28 martie 2015, Timișoara, România (1 rezumat coautor);
 - International Conference and Expo on Drug Discovery and Designing, 11-13 august 2015, Frankfurt, Germania (1 rezumat prim autor);
 - 12th Mediterranean Conference on Calorimetry and Thermal Analysis (MEDICTA 2015), 17-19 Iunie 2015, Girona, Spania (4 rezumate, din care 2 prim autor);
 - 3rd Central and Eastern European Conference on Thermal Analysis and Calorimetry, 25-28 August 2015, Ljubljana, Slovenia (3 rezumate prim autor);
 - 12th Conference On Calorimetry And Thermal Analysis Of The Polish Society Of

Calorimetry And Thermal Analysis (PTKAT) and 5th Joint Czech - Hungarian - Polish – Slovakian Thermoanalytical Conference, 6-10 septembrie 2015, Zakopane, Polonia (8 rezumate, din care 3 prim autor);

- Joint Event 4th World Conference on Physico-Chemical Methods in Drug Discovery and Development & 1st World Conference on ADMET and DMPK, 21-24 septembrie 2015, Red Island, Croaia (3 rezumate, din care 2 prim autor);
- XXXVIII National Congress on Calorimetry, Thermal Analysis and Applied Thermodynamics - AICAT-GICAT 2016, 25-28 septembrie 2016, Ischia (NA), Italia (6 rezumate, din care 2 prim autor).

Pân în prezent, am fost invitat să recenziez, în calitate de referent științific o serie de articole trimise spre publicare la mai multe reviste indexate în Web of Science precum: *Journal of Cleaner Production* (IF 5.715), *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* (IF 1.953), *Carbohydrate Polymers* (IF 4.811), *Current Pharmaceutical Analysis* (IF 0.750), *Journal of Organometallic Chemistry* (IF 2.184), pentru care am realizat **10 recenzii**, respectiv reviste indexate în baze de date internaționale, precum: *The Natural Products Journal*, *Scientia Pharmaceutica*, *Journal of Bioanalysis & Biomedicine*, *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, *Chemistry International* și *Journal of Bioinformatics and Sequence Analysis*.

Dintre ramurile de cercetare menționate anterior, prezenta teză de abilitare vizează toate cele trei direcții:

- 1) Obținerea, caracterizarea fizico-chimică (tehnici spectroscopice și analiză termică) și screening-ul activității biologice a unor noi compuși organici de sinteză sau semisinteză, respectiv a unor combinații coordinative cu ioni tranziționali a acestora (**Lucrările ISI 1-6**);
- 2) Studii de stabilitate termică în stare solidă a unor substanțe de interes farmaceutic sau cu potențial activitate biologică folosind metode cinetice clasice și izoconversionale, respectiv stabilirea mecanismului de descompunere (**Lucrările 1, 2, 4-9**);
- 3) Studii de compatibilitate a unor substanțe de interes farmaceutic cu diverși excipienți în stare solidă (studii de preformulare) prin tehnici instrumentale (analiză termică, difracție de raze X pe pulbere, spectroscopie FTIR etc.) (**Lucrarea 10**);

I.3. CONTEXTUL TIIN IFIC ACTUAL PRIVIND IMPORTAN A DOMENIILOR DE CERCETARE ABORDATE

I.3.1. Importan a ob inerii i a screening-ului complex (fizico-chimic i biologic) a unor noi compu i organici de sintez sau semisintez , respectiv a unor combina ii coordinative a acestora

Compu ii organici, naturali, de sintez , respectiv de semisintez constituie în clipa de fa o „libr rie” mondial care con ine, conform Reaxys [89], în jur de 10 milioane de molecule. Pe lâng acestea, exist un num r infinit de posibilit i de concatenare, ceea ce conduce la un num r infinit de compu i organici, cel pu in la nivel teoretic.

Din numeroasele clase de compu i, în grupurile de cercetare din care fac parte, au existat preocup ri tiin ifice axate preponderent pe dou direc ii:

- 1) Chimia nucleelor heterociclice, în special deriva ii de 1,2,4-triazol;
- 2) Chimia compu ilor triterpenici, deriva i ai acidului betulonic.

I.3.1.1. Chimia deriva ilor 1,2,4-triazolului

Triazolii sunt compu i pentaatomici heterociclici aromatici, cu con inut de azot, care exist sub dou forme izomere, i anume 1,2,3-triazolii (*v*-triazolii) (1), respectiv 1,2,4-triazolii (*s*-triazolii) (2). Structurile de baz sunt prezentate în Figura 8.

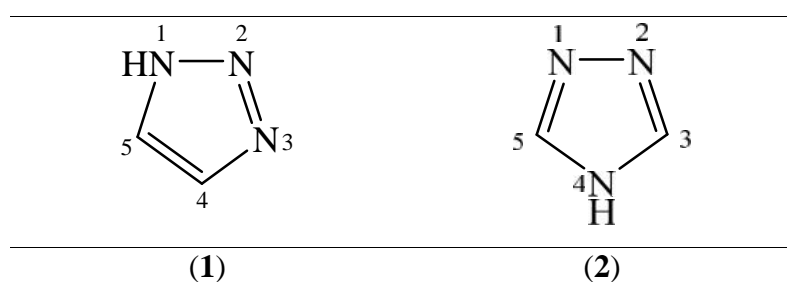


Figura 8. Structurile de baz ale 1,2,3-triazolilor (1), respectiv 1,2,4-triazolilor (2)

Interesul pe plan interna ional pentru chimia i activitatea biologic a deriva ilor de 1,2,4-triazol este relevat de num rul mare de publica ii în acest domeniu, pân în clipa de fa , baza de date ISI Web of Science indexeaz 10705 publica ii la c utarea dup cuvânt cheie “1,2,4-triazole”. Cele mai multe studii sunt publicate de grupuri de cercetare din China (2463 lucr ri), India (1328 lucr ri), SUA (1044 lucr ri), Rusia (613 lucr ri) i Egipt (583 lucr ri). La nivel na ional exist un interes pentru deriva ii din această clas , fiind indexate pân în clipa de fa 159 de publica ii ale grupurilor de cercetare în domeniu [90].

Principalele grupuri de cercetare la nivel na ional care studiaz chimia i activitatea biologic a deriva ilor 1,2,4-triazolici sunt reg site n centre universitare, precum Bucure ti – 40 de lucr ri (C. Dr ghici, S.F. B rbuceanu, I. aramet, G.L. Alm jan etc.) i Timi oara – 17 lucr ri (grupul de cercetare din cadrul UPT, coordonat de V.N. Bercean) [90].

Deoarece structurile de baz prezint posibilit i limitate de func ionalizare, s-a urm rit ob inerea unor compu i heterociclici modifica i structural prin reac ii de func ionalizare/derivatizare. Astfel, modificarea scheletului 1,2,4-triazolic poate fi realizat n special prin grefarea pe structur a unor grupe func ionale reactive (mercapto, amino, hidroxii etc.), care pot forma compu i chimici func ionaliza i, apar inând diverselor clase, cu utiliz ri i activit i biologice extrem de diverse i diferite. n cadrul chimiei organice, n special n cadrul chimiei medicinale, chimia compu ilor heterociclici de tip 1,2,4-triazolic ocup un loc esen ial datorit numeroaselor activit i biologice, respectiv efecte terapeutice cu care ace ti compu i sunt asocia i; astfel, literatura recent indic faptul c ace ti compu i prezint activitate antibacterian [91][92][93], antiproliferativ [94][95][96], antitumoral [97, 98], antifungic [99][95,96][102], antiviral împotriva HIV-1 [103], antituberculoas [104][105], antioxidant [106–108], antiinflamatoare[109, 110], antihiperlipidemic [111], respectiv anti-ulcer [112].

Pentru deriva ii din clasa 1,2,4-triazolilor, o preocupare atât la nivel na ional cât i local o constituie func ionalizarea compu ilor de tip mercapto-triazolic (3) sau amino-mercapto-triazolic (4), cu structurile de baz prezentate n Figura 9. Compu ii din această categorie prezint o capacitate m rit de func ionalizare datorit prezen ei grupelor func ionale mercapto, respectiv mercapto i amino, care pot genera clase variate de compu i organici.

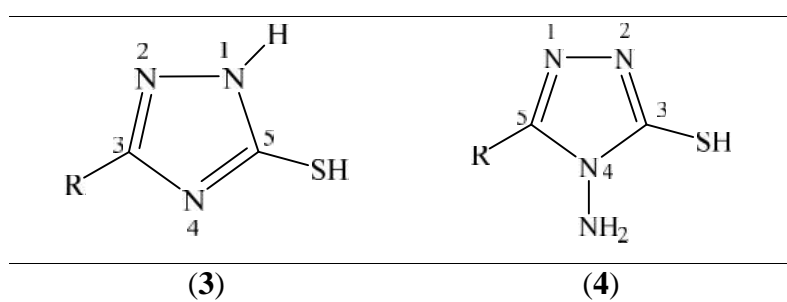


Figura 9. Structurile de baz ale mercapto-triazolilor (3), respectiv amino-mercapto-1,2,4-triazolilor (4)

Ob inerea deriva ilor S-func ionaliza i a constituit domeniul prioritar al tezei de doctorat, materializat prin publicarea a 3 lucr ri ISI, n anul 2010 [1–3]. Ulterior, studiile au fost reluate, o parte din compu i fiind resintetiza i pentru o serie de studii fizico-chimice, respectiv pentru evaluarea activit ii biologice. Compu ii sintetiza i fac parte din clasa

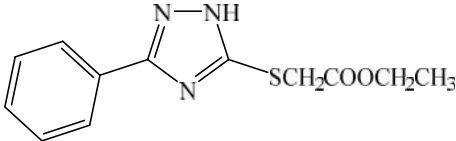
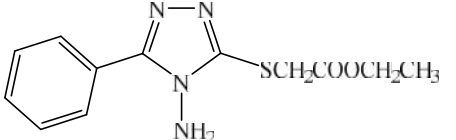
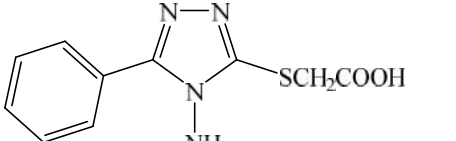
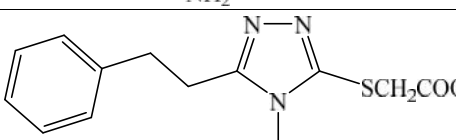
deriva ilor de acid acetic, compu i cunoscu i pentru activitate anti-inflamatoare, din grupul compu ilor nesteroidieni, studia i de asemenea i pentru activitate stimulant sau sedativ asupra SNC, respectiv activitate antimicotic , antimicobacterial , anxiolitic , diuretic i hipoglicemic [113–117].

Pe lâng metodele spectroscopice utilizate în scopul confirm rii identit ii i purit ii compu ilor sintetiza i, studiul comport rii i stabilit ii termice a acestora furnizeaz informa ii pre ioase legate de stabilitatea acestora, respectiv timpul de via . Analiza termic este o tehnic instrumental rapid i reproductibil care furnizeaz informa ii legate de puritatea probelor, stabilitatea acestora, respectiv tranzi iile polimorfe ce pot avea loc în timpul tratamentului termic. Totodat , comportarea termic trebuie investigat înainte de a ob ine o formulare farmaceutic final , deoarece studiile biologice conduse asupra compu ilor cu poten ial bioactiv implic utilizarea acestora de cele mai multe ori sub form de amestecuri, rareori sub forma unui compus pur. Studiile termodinamice privind mecanismul i cinetica reac iilor ce au loc în faz solid prezint adesea complexitate, ce rezult din existen a a numero i factori cu diverse contribu ii, precum reconstruc ia re elei cristaline din stare solid , formarea i cre terea nucleilor de cristalizare, difuzia gazelor ce rezult ca produ i de reac ie etc. [118–121].

Astfel, în lucrarea „**Thermal behaviour and kinetic study of some triazoles as potential anti-inflammatory agents**” [38], este discutat sinteza i caracterizarea fizico-chimic a unor deriva i S-alchila i, compu i ce con in în molecul rest de acid acetic, i care au fost ob inu i printr-un procedeu adaptat fa de lucr rile anterioare [1–3], caracteriza i prin metode spectroscopice (FTIR, ¹H-RMN), respectiv prin metode termice de analiz (TG/DTG/DSC, EGA), inclusiv tehnici hifenate (TG-FTIR), în vederea stabilirii mecanismului de descompunere termic . Ulterior, a fost realizat un studiu cinetic privind mecanismul descompunerii termice al acestor compu i, prezentat îns în prezenta tez de abilitare în subcapitolul I.3.2.

Structurile celor patru compu i investiga i sunt prezentate în Tabelul 2 [38].

Tabelul 2. Formulele structurale și masele molare ale celor patru compuși investigați

C_1 (M=263.3 g mol ⁻¹)	
C_2 (M=278.3 g mol ⁻¹)	
C_3 (M=250.3 g mol ⁻¹)	
C_4 (M=278.3 g mol ⁻¹)	

Reactivii utilizați au fost produși de puritate analitic (Merck, Fluka, Sigma-Aldrich) și au fost utilizați ca atare, fără purificare prealabilă. Heterociclii precursori au fost sintetizați anterior în cadrul laboratorului de Chimie organică din cadrul UPT și puși la dispoziție de către domnul .l. dr. ing. Vasile Bercean. Punctele de topire au fost determinate cu ajutorul unui aparat Bötius PHMK (Veb Analytik Dresden), iar CSS a fost realizat folosind plăci de silicagel Merck Kieselgel 60F₂₅₄ folosind ca eluenți amestecuri de solvenți, în anumite benzen:metanol=7:3 (v/v), benzen:metanol=3:7 (v/v), respectiv benzen:acetat de etil=1:1(v/v).

Spectrele FTIR au fost înregistrate folosind metoda clasică cu dispersare în KBr de puritate spectroscopică, pe un aparat Jasco FT/IR-410. Spectrele ¹H-RMN au fost înregistrate pe un spectrometru Bruker Avance III 400, conform [1].

Curbele termoanalitice TG/DTG/HF pentru toți cei patru derivați au fost realizate în atmosferă oxidativă în condiții dinamice neizoterme, la patru viteze de încălzire: = 7, 10, 12 și 15 °C·min⁻¹, folosind o termobalană Perkin-Elmer DIAMOND. Curbele DSC au fost înregistrate utilizând un calorimetru cu scanare diferențială Netzsch DSC-204, la o viteză de încălzire = 7 °C·min⁻¹. Au fost utilizate probe cu mase aproximativ egale, ~5 mg. Analiza s-a realizat în creuzete de aluminiu, de la temperatura ambientală până la 500 °C.

Analiza gazelor emanate (EGA) a fost realizată prin tehnică hifenată TG-FTIR, folosind un spectrometru Perkin Elmer SPECTRUM 100, prevăzut cu o cameră de captare a gazelor degajate, conectat printr-o linie de transfer la cuptorul termobalană ei DIAMOND. Un debit de aer de 100 mL·min⁻¹ și o viteză de încălzire = 20 °C·min⁻¹ au fost folosite.

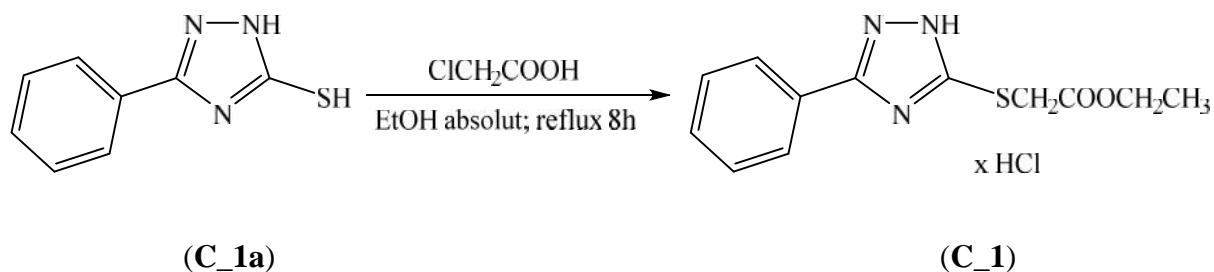
Spectrele FTIR ob inute pentru amestecul gazos în func ie de timp au fost procesate folosind baza de date Sadtler Gas Vapor Library.

Sinteza deriva ilor de triazol C_1 – C_4

Sinteza a fost realizat adaptând protocoalele de lucru studiate i publicate în cadrul tezei de doctorat.

Astfel pentru **sinteza 1H-5-etoxicarbonil-metilsulfanil-3-fenil-1,2,4-triazolului (C_1)**, în cadrul studiilor doctorale, s-a utilizat un timp de reflux de 7h i agent de alchilare cloroacetatul de etil, produsul ob inându-se cu un randament de 96.4% [1]. În studiile ulterioare, s-a m rit timpul de reflux la 8h, îns s-a utilizat ca agent de alchilare acidul cloroacetic. La o suspensie de 1H-3-fenil-5-mercapto-1,2,4-triazol (**C_1a**) (0.8g, 4.16 mmol) în etanol absolut (10 mL), se adaug acid cloroacetic (0.40 g, 4.16 mmol), amestecul de reac ie se înc lize te la reflux timp de 8 ore, dup care se r ce te sub agitare pân la temperatur ambiental , când se observ precipitarea în mas a acestuia. Produsul de alchilare brut se separ de solvent prin filtrare la presiune redus , produsul brut a fost uscat la 80 °C timp de 24h, apoi purificat prin recristalizare din etanol. Randamentul de ob inere a fost similar, dup purificare prin recristalizare, fiind 96%.

Reac ia de func ionalizare a precursorului **C_1a** este prezentat în Schema 1 [38].



Schema 1. Reac ia de alchilare a precursorului C_1a la derivatul C_1 (adaptare dup [38])

Sinteza **4H-4-amino-5-etoxicarbonil-metilsulfanil-3-fenil-1,2,4-triazolului (C_2)** a pornit de la precursorul 4H-4-amino-3-fenil-5-mercapto-1,2,4-triazol (**C_2a**), prin suspendarea acestuia, sub agitare, într-o solu ie etanolic de cloroacetat de etil. Astfel, (1.92g, 10 mmol) compus **C_2a** a fost suspendat într-o solu ie ce con ine 25 mL EtOH absolut i 1.2 mL (10 mmol) cloroacetat de etil. Amestecul de reac ie a fost înc lzit la reflux timp de 4h, r cit la temperatura ambiental , apoi turnat în ap distilat (150 mL) r cit la 4 °C, când are loc precipitarea sub form de suspensie a produsului de alchilare brut. Suspensia alb format a fost filtrat la tromp de vid, sp lat cu ap distilat , uscat timp de 24h la 80 °C i purificat prin recristalizare din etanol.

i acest sintez a fost realizat prin adaptarea procedurilor raportate anterior în cadrul studiilor doctorale, astfel:

- triazolul a fost suspendat în solu ia agentului de alchilare, pe când în studiile anterioare, agentul de alchilare se introduce peste suspensia triazolului în solvent [1].

- în cadrul studiilor doctorale, au fost realizate trei protocoale de sintez a derivatului **C_2**, acesta fiind ob inut cu randament de 87% dup un protocol în 3 etape de lucru distincte (de aproximativ 6h), cu un randament de 14% dup un protocol în 2 etape i un timp de reflux de 14h, respectiv cu un randament de 25% dup un protocol în 3 etape (de aproximativ 8h), pe când în studiul actual, compusul se ob ine cu un randament intermediar (62%), în dou etape de lucru i în timp de 4h.

Sinteza deriva ilor **4H-4-amino-5-carboxi-metilsulfanil-1,2,4-triazol 3-substitui i** (**C_3** i **C_4**) s-a realizat prin hidroliza bazic a esterilor precursori alchila i, urmat de acidulare i purificare. O cantitate de 5 mmoli din fiecare triazol S-alchilat corespunz tor (esteri) a fost suspendat în solu ie apoas de NaOH 0.5M (40 mL), urmat de înc lzure la reflux timp de 1h. Solu ia ob inut este acidulat cu solu ie diluat de HCl pân la un pH~2 (nu mai sc zut, pentru a evita dizolvarea triazolului prin formarea clorhidratului solubil), apoi supus evapor rii solventului la presiune redus (10 mm Hg, 40 °C) pân la un volum final de ~15 mL. Suspensia alb format a fost filtrat la presiune redus , iar produsul a fost purificat prin recristalizare din etanol absolut, ob inându-se compu ii de puritate cromatografic **C_3** (4H-4-amino-3-fenil-5-carboxi-metilsulfanil-1,2,4-triazol) i **C_4** (4H-4-amino-3-fenetil-5-carboxi-metilsulfanil-1,2,4-triazol).

Astfel, cei patru deriva i heterociclici au fost ob inu i printr-un procedeu modificat fa de cel men ionat în studii anterioare, având îns propriet i fizice i spectroscopice identice cu cele anterior publicate [1–3]. Astfel, datele ob inute în acest studiu au fost corelate cu datele spectroscopice deja publicate de grupul nostru de cercetare anterior [1–3]. Totu i, pentru a confirma puritatea i identitatea compu ilor ob inu i, s-au realizat determin ri de punct de topire, comportare cromatografic în strat sub ire i spectroscopie FTIR – toate cele trei tehnici confirmând atât identitatea cât i puritatea compu ilor ob inu i. CSS a fost utilizat pentru toate cele patru probe, dizolvând cantit i adecvate de prob în MeOH la temperatura ambiental ; dup eluare conform celor men ionate anterior i analiza pl cilor în lumin UV la 254 nm i revelare cu vapori de iod, în fiecare caz se ob ine un spot cromatografic unitar, cea ce sus ine puritatea compu ilor ob inu i.

A a cum s-a men ionat anterior în literatur [1], nucleul triazolic prezint o bazicitate crescut datorit prezen ei atomilor de azot endociclici (în cazul compusului **C_1**), respectiv datorit grup rii -NH₂ exociclice (în cazul compu ilor **C_2**, **C_3** i **C_4**). Ca urmare a acestui

lucru, triazolii pot forma clorhidra i chiar i în mediu apos sau etanolic, prin legarea HCl generat *in situ* din reac ia de alchilare, respectiv în etapa de izolare a formei acide din sarea sodic , la hidroliza esterilor. Legarea acidului clorhidric a fost confirmat i în studiile anterioare [1–3] de spectroscopie $^1\text{H-RMN}$, analiza semnalelor RMN indic protonarea fie la atomul de azot endociclic sau la cel exociclic din gruparea amino, sub forma unor semnale singlet largi, conform Tabelului 3 [38].

Comportarea termic i studiul descompunerii termice prin tehnica hifenat EGA

Cei patru compu i investiga i prezint comportare termic similar , în fiecare caz curbele termice indic existen a a trei procese distincte. Rezultatele ob inute din curbele TG/DTG/HF la înc lizarea cu o vitez = $7\text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ în atmosfer de aer sunt prezentate în Figura 10, iar datele DSC sunt prezentate în Figura 11.

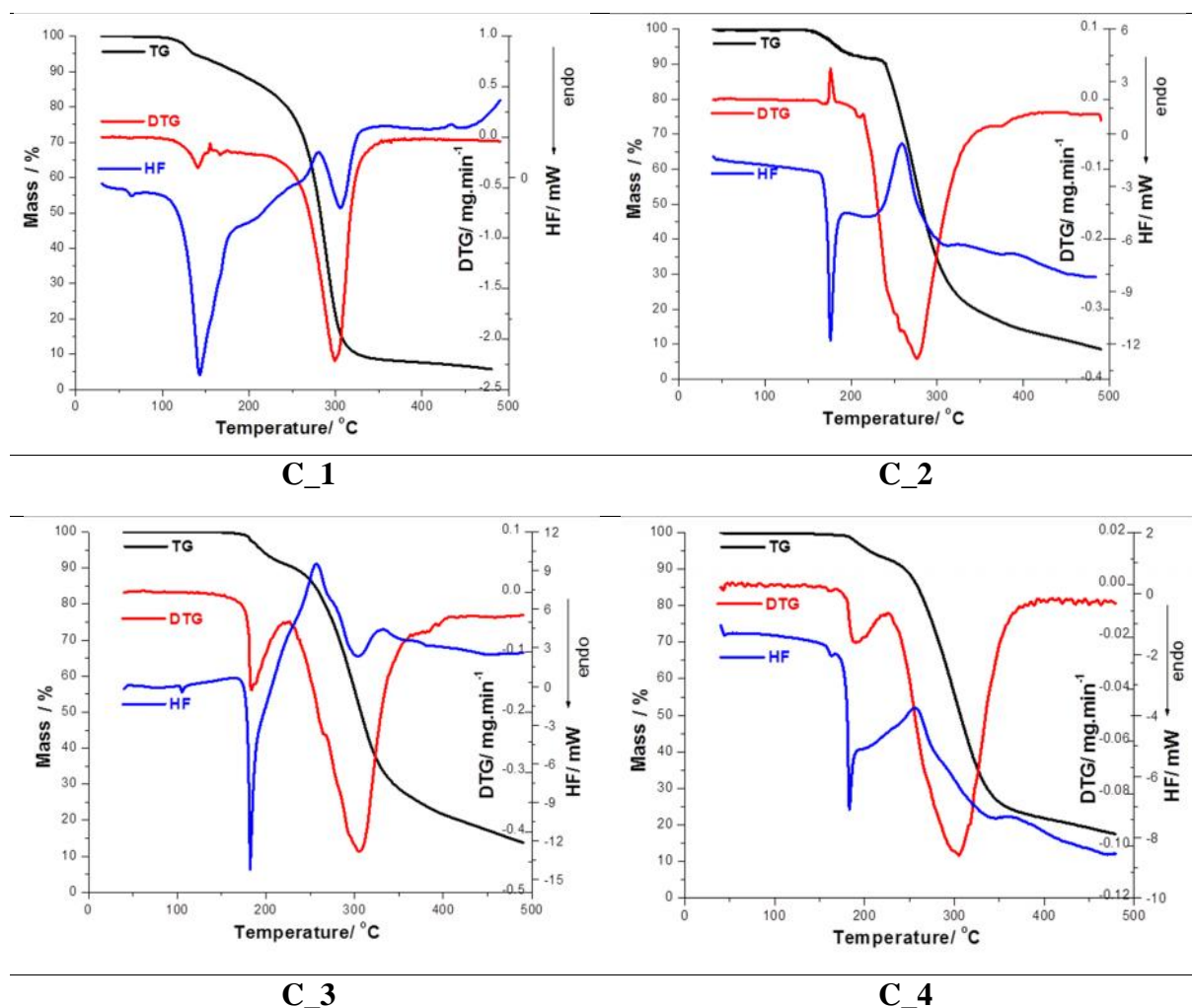


Figura 10. Curbele termoanalitice TG/DTG/HF ob inute în aer la $=7\text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ pentru deriva ii de triazol C_1-C_4 (Lede i et al., 2013, [38]).

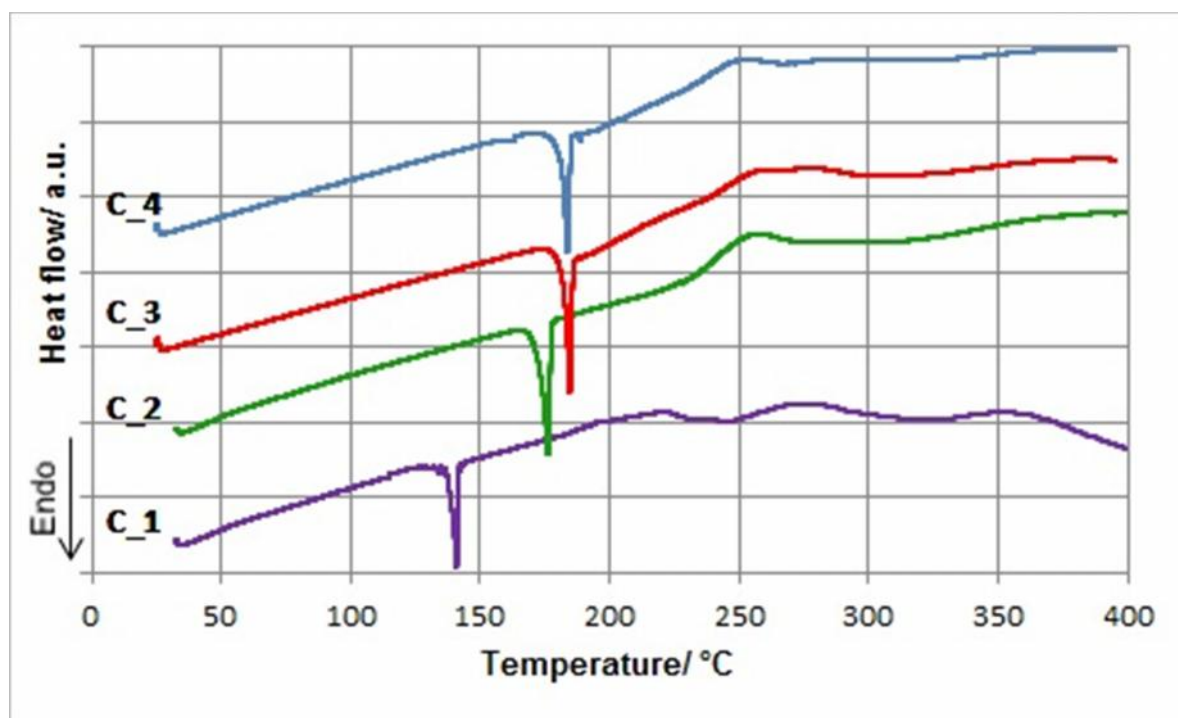


Figura 11. Curbele DSC ob inute în aer la $\dot{T} = 7 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ pentru deriva ii de triazol C_1-C_4 (Lede i I et al., 2013, [38]).

Primul proces care are loc cu pierdere de masă corespunde descompunerii termice a clorhidra ilor de triazol, cu eliminare de HCl și formarea bazei libere. Pierderea de HCl are loc la temperaturi de până la $170 \text{ }^\circ\text{C}$ (în intervalul $110\text{-}170 \text{ }^\circ\text{C}$), fiind urmat de topirea bazei libere, respectiv de procese de descompunere termic avansat (termooxidări) la temperaturi mai mari ($200\text{-}400 \text{ }^\circ\text{C}$).

Pentru derivatul C_1, în prima etapă de descompunere, este observat o pierdere de masă de 12%, care corespunde pierderii unui mol de acid clorhidric per mol de clorhidrat de triazol (pierderea de masă calculat teoretic fiind 12.16%). Acest prim etap de eliminare de HCl este însoțit pe curba de flux termic HF de un proces endoterm, cu un maxim la $128 \text{ }^\circ\text{C}$, respectiv la $135 \text{ }^\circ\text{C}$. Rezultatele ob inute prin spectroscopie $^1\text{H-RMN}$ sunt prezentate în Tabelul 3, alături de pierderile de masă datorate eliminării de HCl, calculate teoretic (ρ_{teoretic}) și ob inute experimental în urma descompunerii clorhidra ilor (ρ_{practic}). Punctele de topire determinate pentru compușii analiza i prin tehnica DSC sunt în concordanță cu cele determinate utilizând aparatul Bötius [14] (Tabelul 3).

Rezultatele analizei termice realizate în condiții neizoterme pe cei patru compuși, la cele patru viteze de încălzire sunt prezentate în Tabelul 4.

Tabelul 3. Caracteristicile compu ilor ob inu i (dup Lede i I et al., 2013 [38])

	C_1	C_2	C_3	C_4	
Aspectul compu ilor	Pulbere alb	Pulbere alb	Pulbere alb	Pulbere alb	
	96%	62%	94%	63%	
p.t. (°C) (recristalizat din)	137-139 °C (EtOH)	174-176 °C	182-184 °C	179-182 °C	
p.t. DSC (°C)	138.5	176.2	184.6	183.7	
Spoturi CSS	unic	unic	unic	unic	
Rezultatele FTIR (dispersie KBr)	2845 (-CH ₂ -), 2651 (larg, -NH ₂ ⁺), 1730 (i, C=O), 1614,	3258 (-NH ₃ ⁺), 3137, 2985, 2940(CH ₂), 1738 (C=O), 1645,	3621 (OH), 3543, 3338, 3262, 3196, 2934 (CH ₂), 1714	3344, 3362, 3267, 3029, 2945, 2862, 2418, 1718(C=O),	
Num r de und /cm ⁻¹	1502, 1311, 1181, 1024, 867, 694	1455, 1310, 1180, 1033, 692, 530	(C=O), 1617, 1402, 1250 (OH), 695, 566	1637, 1264(OH), 1174, 752, 702, 576	
Rezultatele ¹ H-RMN în DMSO-d ₆ η /ppm [1-3]	9.89 (s, larg 2H, NH ₂ ⁺); 8.00-7.98 (m, 2H, 2'-H, 6'-H); 7.53 (m, 3H, 6'-H); 7.53 (m, 3H, 3'-H, 4'-H, 5'-H) 4.12 (q, 2H, J=7.1Hz, -O-CH ₂ -CH ₃); 4.07 (s, 2H, -S-CH ₂ -) 1.18 (t, 3H, J=7.1Hz, -O-CH ₂ -CH ₃)	8.01-7.97 (m, 2H, 2'-H, 6'-H); 7.50-7.48 (m, 3H, 3'-H, 4'-H, 5'-H) 6.20 (s, 3H, NH ₃ ⁺) 4.15 (q, 2H, J=7Hz, -O-CH ₂ -CH ₃) 4.08 (s, 2H, -S-CH ₂ -) 1.21 (t, 3H, J=7.1Hz, -O-CH ₂ -CH ₃)	8.02-7.98 (m, 2H, 2'-H, 6'-H); 7.50-7.49 (m, 3H, 3'-H, 4'-H, 5'-H); 6.49 (larg, s, 3H, NH ₃ ⁺); 4.15 (q, 2H, J=7Hz, -O-CH ₂ -CH ₃) 3.96 (s, 2H, -S-CH ₂ -) Ph-CH ₂ -CH ₂ -)	12.87 (s, 1H, -OH); 7.32-7.20 (m, 5H, 2'-H, 3'-H, 4'-H, 5'-H, 6'-H); 5.94 (s, 3H, -NH ₃ ⁺); 3.96 (s, 2H, -S-CH ₂ -); 3.01-2.95 (m, 4H, Ph-CH ₂ -CH ₂ -)	
	$= 7^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$	0.329	0.314	0.328	0.301
	$= 10^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$	0.331	0.319	0.338	0.319
practic	$= 12^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$	0.348	0.326	0.352	0.328
	$= 15^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$	0.351	0.332	0.356	0.336
teoretic	independent de	100/(263.3+36.5)= 0.333	100/(278.33+36.5)= 0.318	100/(250.28+36.5)= 0.349	100/(263.3+36.5)= 0.333

Tabelul 4. Datele termoanalitice obținute pentru compu ii analiza i, la cele patru viteze de încălzire (dup Lede i I et al., 2013 [38])

	$^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$	Procesul	$T_i/^\circ\text{C}$	$T_f/^\circ\text{C}$	$T_{max\text{DTG}}/^\circ\text{C}$	$T_{max\text{HF}}/^\circ\text{C}$	$T_{max\text{DSC}}/^\circ\text{C}$	$m/\%$
C_1	7	I	100	160	130	128	138.5	12
		II	200	320	280	290	265	88
	10	I	115	180	140	139	138.9	12.1
		II	200	350	300	305	285	81.9
	12	I	105	170	141	140	138.3	12.7
		II	205	350	299	302	289	86.8
15	I	100	175	142	143	140.3	13	
	II	200	350	300	302	293	87	
C_2	7	I	100	200	170	175	176.2	11.5
		II	200	350	225	265	252	81
	10	I	106	200	173	175	176.8	11.7
		II	200	352	221	267	255	79.7
	12	I	103	200	178	179	177.1	11.9
		II	200	360	225	275	270	83.1
15	I	110	204	170	175	177.5	12.1	
	II	204	375	278	265	272	82.9	
C_3	7	I	170	220	180	182	184.6	12
		II	220	390	290	280	255.2	68
	10	I	175	222	181	184	183.9	12.3
		II	220	400	302	300	258.9	68.2
	12	I	175	220	183	181	184.3	12.8
		II	220	400	299	305	260.7	67.3
15	I	170	225	190	183	184.9	13	
	II	225	400	302	300	263.0	70.2	

	$^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$	Procesul	$T_i/^{\circ}\text{C}$	$T_f/^{\circ}\text{C}$	$T_{max\,DTG}/^{\circ}\text{C}$	$T_{max\,HF}/^{\circ}\text{C}$	$T_{max\,DSC}/^{\circ}\text{C}$	$m/\%$
C_4	7	I	160	220	177	180	183.7	11
		II	220	390	299	325	249.4	69
	10	I	170	220	182	182	182.9	11.6
		II	220	400	305	310	252.1	67.4
	12	I	162	225	180	185	183.2	12
		II	225	400	307	325	252.0	66
15	I	160	223	190	180	184.2	12.3	
	II	223	400	310	320	253.9	68.7	

Analiza termic evideniaz o stabilitate termic ridicat a compu ilor, chiar dup eliminarea de HCl, adic descompunerea bazelor libere nu are loc n timpul descompunerii clorhidratului. Pentru a putea identifica care sunt reac iile care duc la degradarea termic a triazolilor S-alchila i n atmosfer oxidativ , s-a realizat analiza gazelor degajate (EGA), utilizând o tehnic de analiz cuplat TG-FTIR – o cuv FTIR pentru colectarea gazelor, conectat la cuptorul termobalan ei printr-o linie de transfer, componentele amestecului gazos putând fi identificate i monitorizate pe baza spectrelor FTIR. Spectrul FTIR determinat prin tehnica EGA nregistrat n momentul pierderii de mas asociate cu eliminarea de HCl prezint benzile de vibra ie caracteristice ale acestei molecule diatomice n stare gazoas , coninând o serie de benzi ascu ite grupate n domeniul spectral $3100\text{-}2600\text{ cm}^{-1}$ (Figura 12)[38].

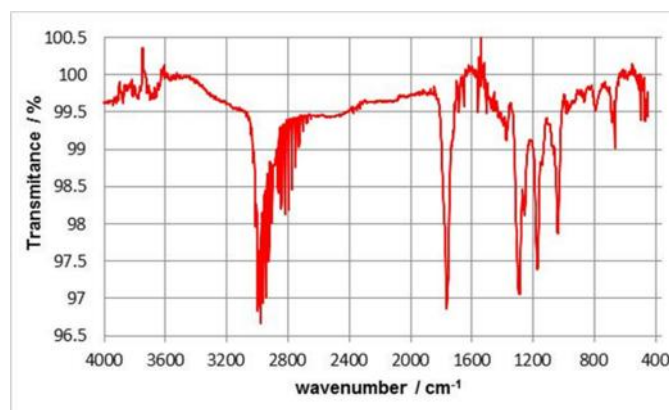


Figura 12. Spectrul FTIR al amestecului gazos nregistrat prin tehnica EGA n aer (masa probei ~6 mg, $\dot{T} = 20\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ pentru compusul C_1 la 8 minute ($155\text{ }^{\circ}\text{C}$) [38]

n mod similar, au fost investiga i toi cei patru produ i de func ionalizare, spectrele FTIR ob inute n urma analizei EGA n regiunea spectral $3100\text{-}2600\text{ cm}^{-1}$ sugerând prezena HCl (Figura 13).

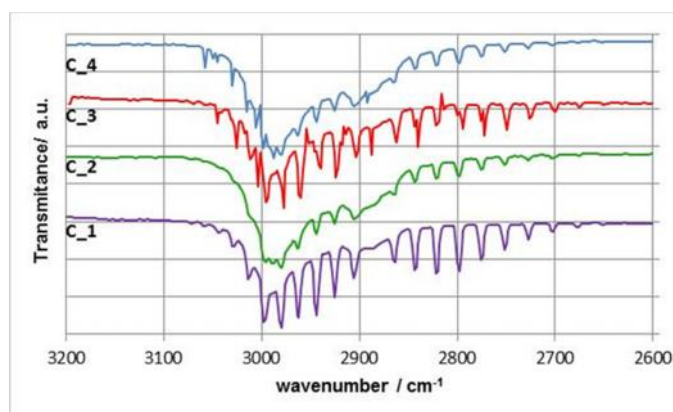


Figura 13. Spectrele FT-IR în domeniul 3100-2600 cm^{-1} , pentru deriva ii C_1-C_4 [38].

Argumente care susțin termoxidarea rapidă a celor patru derivați sunt evidențiate în urma utilizării tehnicii EGA, prin identificarea compuşilor care sunt eliminați din distrugerea catenelor laterale ale compuşilor, dar și a nucleelor aromatice. Profilul Gram-Schmidt și curbele termogravimetrice înregistrate la $\dot{T} = 20 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ indică faptul că acumularea maximă de gaze apare după aproximativ 15 minute de la începerea tratamentului termic, la această valoare a timpului fiind înregistrate spectrele EGA pentru toți cei patru compuşii (Figura 14).

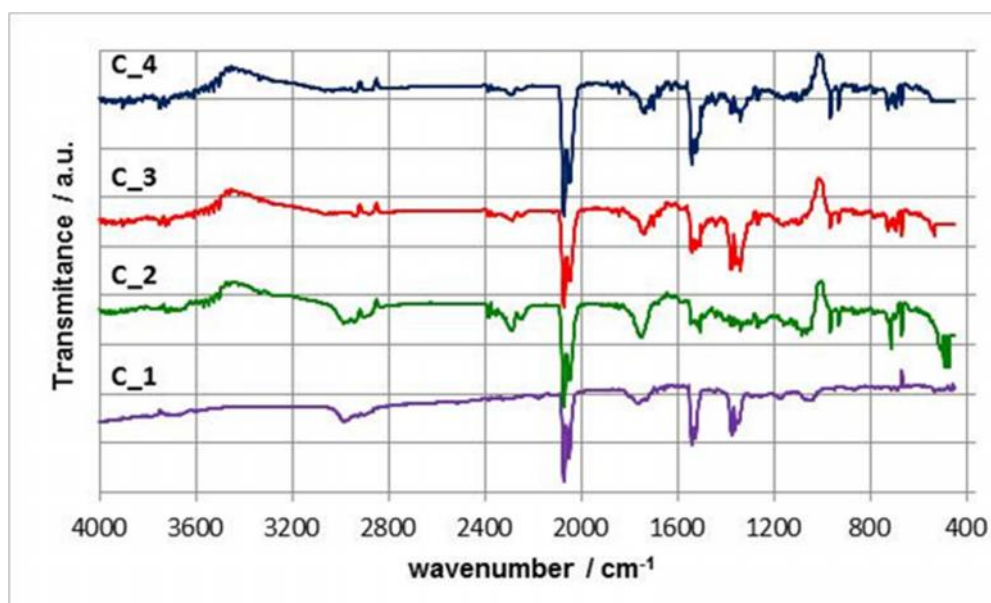


Figura 14. Spectrele FTIR-EGA înregistrare pentru amestecul gazos din celuloză la tratamentul termic în atmosferă de aer al derivaților triazolici sintetizați la 15.4 minute (320 $^\circ\text{C}$) pentru C_1; 14.2 minute (275 $^\circ\text{C}$) pentru C_2; 15.0 minute (315 $^\circ\text{C}$) pentru C_3 respectiv 16.1 minute (325 $^\circ\text{C}$) pentru C_4 (masa inițială de probă $\sim 6.5 \text{ mg}$, $\dot{T} = 20 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$) [38]

Pentru compusul C_1, schimbările observabile în spectrul FTIR apar la momentul de timp $t=15.4$ minute, când se poate observa o bandă bine individualizată, ascuțită și intensă la 2300 cm^{-1} , caracteristică pentru vibrația asimetrică a legăturii CO din molecula de CO_2 ,

respectiv deformarea angulară la 750 cm^{-1} . Oxidarea grupării amino la nitro este evidențiată de banda caracteristică intensă care apare la 1550 , respectiv la 1350 cm^{-1} . În spectrul EGA înregistrat la $t=16.4$ minute, o bandă intensă dublă apare în domeniul spectral $700\text{--}600\text{ cm}^{-1}$, caracteristică pentru CS_2 (vibrația de întindere a legăturii CS). Similar, pentru compușii C_2, C_3 și C_4, spectrele EGA indică prezența aceluiași compus gazoși ca și în cazul derivatului funcționalizat C_1 (Figura 14). Produsii gazoși identificați prin tehnica EGA sunt în acord cu scheletul molecular al compușilor investigați și demonstrează termoliza avansată a acestora, odată cu avansul tratamentului termic.

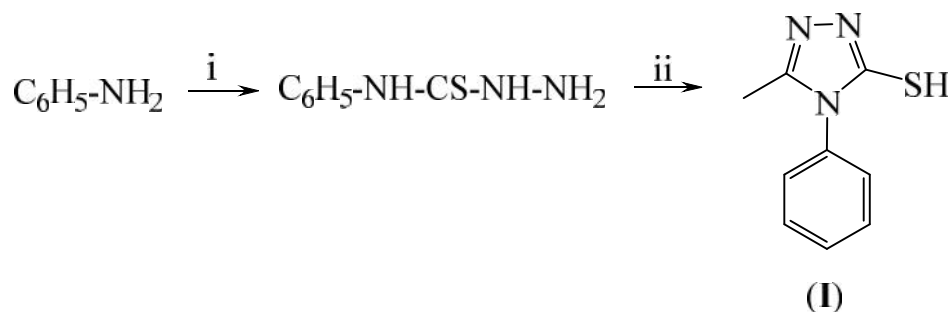
Concluzii parțiale

- Patru compuși de funcționalizare din clasa 1,2,4-triazolilor au fost obținuți printr-un procedeu modificat față de studiile anterioare și au fost caracterizați prin tehnici spectroscopice și analiză termică (tehnici DSC, TG/DTG/HF și EGA);
- A fost analizată influența vitezei de încălzire asupra stabilității termice a compușilor analizați;
- Prin utilizarea tehnicii cuplate TG-FTIR, s-a arătat că procesul de descompunere termică a derivaților sintetizați este multistadial, incluzând pierderea de HCl din descompunerea clorhidratului, urmată de topirea bazei libere și decarboxilare;
- Tehnica EGA este o tehnică reproductibilă ce permite detecția și identificarea gazelor degajate în urma descompunerii termice a celor patru noi compuși sintetizați.
- Rezultatele EGA vor fi discutate în comparație și cu analiza cinetică a degradării în stare solidă a compușilor, utilizând metode cinetice izoconversionale (Capitolul I.3.2.)

Lucrarea „**Preparation and Antibacterial Properties of Substituted 1,2,4-Triazoles**” [81] prezintă obținerea și caracterizarea a trei derivați din clasa 1,2,4-triazolilor, precum și evaluarea activității lor antibacteriene împotriva a trei tulpini, și anume: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Escherichia coli* (ATCC 25922) și *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), utilizând metoda difuzimetrică și metoda diluțiilor prin determinarea CMI (concentrația minimă inhibitoare).

În prima parte a studiului, compușii au fost sintetizați și caracterizați prin metode fizice și spectroscopice (p.t., FTIR, RMN, GC-MS). Testarea biologică pentru activitatea antibacteriană s-a realizat prin colaborare cu Disciplina de Microbiologie, din cadrul UMFVBT, în acord cu indicațiile din literatura recentă, prin care derivații din această clasă prezintă acest tip de activitate biologică [122–125].

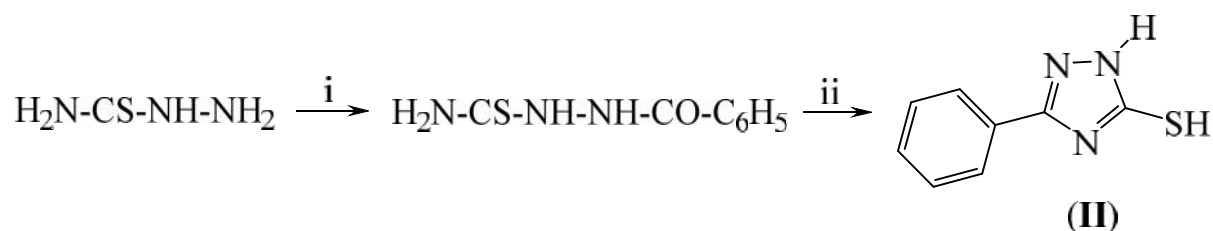
Protocolul experimental pentru sinteza 4*H*-3-mercapto-4-fenil-5-metil-1,2,4-triazolului (I) [126, 127] utilizeaz 4-fenil-tiosemicarbazida drept precursor, în reac ie cu acetatul de etil i metoxidul de sodiu în metanol, la reflux, urmat de neutralizare. Sinteza 4-feniltiosemicarbazidei s-a realizat într-o singur etap , prin tratarea anilinei cu CS₂ i solu ie alcoolic de KOH, cloroacetat de sodiu i hidrat de hidrazin la reflux [128].



i= 1) CS₂ / KOH / C₂H₅OH; t ~ 20 °C; 2) ClCH₂COONa / H₂O; t ~ 20 °C; 3) H₂N-NH₂·H₂O reflux
ii= 1) CH₃COOC₂H₅ (b) / CH₃ONa / CH₃OH reflux 2) HCl diluat

Schema 2. Protocolul de sintez pentru ob inerea 4*H*-3-mercapto-4-fenil-5-metil-1,2,4-triazolului (I) (adaptare dup [81])

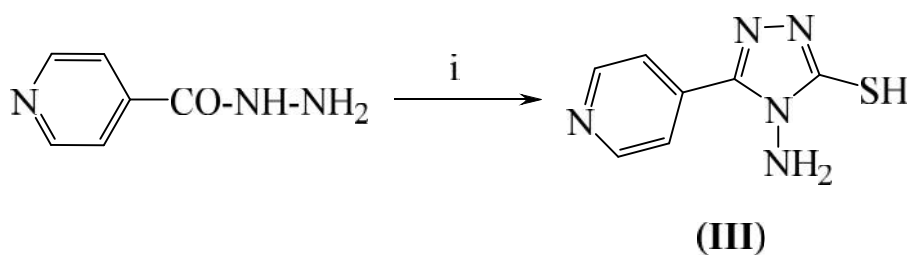
1*H*-5-mercapto-3-fenil-1,2,4-triazolul (II) a fost ob inut prin benzoilarea tiosemicarbazidei cu clorur de benzoil, urmat de ciclizarea 1-benzoil-tiosemicarbazidei cu NaOH în mediu apos-alcoolic, utilizând o metod raportat anterior de către grupul de cercetare din cadrul UPT (Schema 3) [129].



i= C₆H₅-COCl / Py / DMF t ~50°C;
ii= 1) NaOH / H₂O-C₂H₅OH reflux; 2) HCl diluat

Schema 3. Sinteza 1*H*-5-mercapto-3-fenil-1,2,4-triazolului (II) (adaptare dup [81])

Derivatul (III), 4*H*-4-amino-5-(4-piridil)-3-mercapto-1,2,4-triazolul a fost ob inut utilizând ca precursor hidrazida acidului izonicotinic, printr-o metod pus la punct în cadrul grupului de cercetare din cadrul UPT (Schema 4) [130].



i= 1) CS₂ / KOH / H₂O-C₂H₅OH; 2) H₂N-NH₂·H₂O, 2h, t. cam.; 3) reflux 4h; 4) HCl diluat

Schema 4.Sinteza 4H-4-amino-5-(4-piridil)-3-mercapto-1,2,4-triazolului **(III)** (adaptare dup [81])

To i compu ii au fost caracteriza i complet prin CSS, p.t., analiz FTIR, ¹H-RMN, respectiv i prin spectroscopie ¹³C-RMN (compu ii **II**, **III**) i GC-MS (compusul **III**). Compu ii au fost ob inu i cu randamente medii (15-43%), dar cu puritate ridicat , confirmat de tehnicile de analiz utilizate.

Activitatea antibacterian a compu ilor a fost evaluat în conformitate cu recomand rile ghidurilor Comitetului Național pentru Standardele Laboratorului Clinic (National Committee for Clinical Laboratory Standards - NCCLS, 1997) folosind metoda difuzimetric . Astfel, NCCLS recomand utilizarea unei suspensii bacteriene cu o concentrație apropiată de 0.5 pe scala MacFarland (ducând în final la o concentrație bacterian de 1-2·10⁸ CFU/mL). Mediul de cultur solid Mueller-Hinton, a fost utilizat pentru îns mântarea suspensiei bacteriene, folosind un tampon de bumbac steril.

Folosind DMSO s-au preparat o serie de soluții ale compu ilor testați, cu următoarele concentrații: 0.01%, 0.1%, 0.5% i 1%. La 15 minute de la îns mântarea mediilor de cultur , pe suprafața acestora au fost distribuite în mod egal discuri formate din hârtie de filtru Whatman nr. 1 (cu un diametru de 6 mm), cu o distanță de cel puțin 25 mm între ele (centru de centru). Aceste discuri au fost impregnate cu soluțiile compu ilor de testat în DMSO (20 μL soluție/disc, care corespunde la 2, 20, 100 i 200 μg compus pe disc, pentru cele 4 soluții preparate, pentru fiecare compus testat). Discurile cu gentamicin (furnizate de Bio-Rad) s-au folosit pentru controlul pozitiv al activității antibacteriene, iar pentru controlul negativ s-au utilizat discuri impregnate cu dimetilsulfoxid (DMSO).

Pl cile îns mântate cu suspensiile bacteriene au fost incubate la 37 °C timp de 24 ore. Diametrul zonelor de inhibiție au fost m surate în milimetri, folosind un liniar. Pentru toate tulpinile bacteriene, testarea a fost realizat în triplicat i a fost luat în considerare citirea medie.

Valorile CMI (concentrație minimă inhibitorie) au fost determinate numai pentru compușii activi care au prezentat o zonă de inhibiție > 10 mm. Valorile CMI au fost evaluate în intervalul de 1.56-50 $\mu\text{g/mL}$. CMI ($\mu\text{g/mL}$) a fost determinat prin metoda microdiluției binare. S-au preparat soluții stoc ale compușilor testați în DMSO, cu concentrații de 100 $\mu\text{g/mL}$. Pornind de la aceste soluții, au fost preparate diferite diluții ale compușilor (50, 25, 12.5, 6.25, 3.12 și 1.56 $\mu\text{g/mL}$), iar acestea au fost aduse, în condiții aseptice, la volumul final de 200 μL .

În toate tuburile au fost adăugate câte 50 μL de suspensie bacteriană, cu o concentrație apropiată de 0.5 pe scala MacFarland. Toate tuburile au fost incubate la 37 °C timp de 24 ore. CMI a fost determinat ca și concentrația minimă de compus testat care a inhibat vizibil dezvoltarea microorganismelor testate. Pentru controlul negativ s-au folosit 50 μL de DMSO, acest volum fiind introdus într-un tub cu 50 μL suspensie bacteriană și 100 μL mediu nutritiv.

S-au realizat teste în triplicat pentru toate tuburile folosite pentru citirile CMI. Pentru a verifica rezultatele, s-au realizat culturi pe mediul Columbia agar suplimentat cu sânge de oaie 5 %. Rezultatele analizelor antimicrobiene sunt prezentate în Tabelul 5.

Tabelul 5. Activitatea antimicrobiană a compușilor analizați [81]

Compușul analizat	Zona de inhibiție (mm)/ CMI ($\mu\text{g/mL}$)		
	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>
I	0.5% -14 mm 1% -17 mm	-	-
II	1% -12 mm	25 $\mu\text{g/mL}$	-
III	1% -11 mm	25 $\mu\text{g/mL}$	-
Gentamicin (10 μg /disc)	20 mm	20 mm	19mm

Rezultatele prezentate în Tabelul 5 arată că numai doi compuși pot acționa ca agenți antiinfecțioși, inhibând creșterea *S. aureus* ATCC 25923 la concentrații cuprinse între 25-40 $\mu\text{g/mL}$. De remarcat este faptul că ambii compuși sunt activi împotriva bacteriilor gram-pozitive (*S. aureus*), în timp ce împotriva bacteriilor gram-negative (*E. coli*, *P. aeruginosa*) nu s-a înregistrat nicio activitate. Aceste rezultate demonstrează o activitate antimicrobiană specifică asupra infecțiilor produse de bacteriile gram-pozitive.

Gentamicina este un antibiotic puternic, cu spectru larg, utilizat frecvent în practica medicală, de obicei în asociere cu antibioticele β -lactamice, pentru tratamentul unui număr mare de infecții bacteriene. În această lucrare, gentamicina a fost utilizată drept referință pentru determinarea activității antimicrobiene a compușilor testați. După cum se poate

observa din Tabelul 5, cele dou substanțe testate au produs o zonă de inhibiție cu un diametru cuprins între 11 și 17 mm la o CMI de 25-40 $\mu\text{g/mL}$. Rezultatele obținute sunt comparabile cu cele produse de gentamicin (20 mm), demonstrând posibilitatea unei viitoare utilizări terapeutice ca agenți antibacterieni, a celor doi compuși testați.

Lucrarea „**Synthesis and Degradation of Schiff Bases Containing Heterocyclic Pharmacophore**” [74] a urmărit sinteza și caracterizarea a doi noi compuși de funcționalizare a amino-mercapto-triazolilor, și anume obținerea unor derivați de tip azometinici (baze Schiff). Spre deosebire de studiul precedent, care a vizat funcționalizarea prin alchilare a grupării mercapto (-SH), de această dată a fost realizat funcționalizarea grupării aminice exociclice. Cele două baze Schiff (SB1 și SB2) au fost caracterizate prin CSS, interval de topire, analiză elementală, metode spectroscopice și studii de stabilitate termică. Analiza comportării termice a vizat două direcții, și anume studiul stabilității termice la încălzire, respectiv o analiză cinetică completă privind natura proceselor fizico-chimice ce intervin în degradarea compușilor (Capitolul I.3.2.).

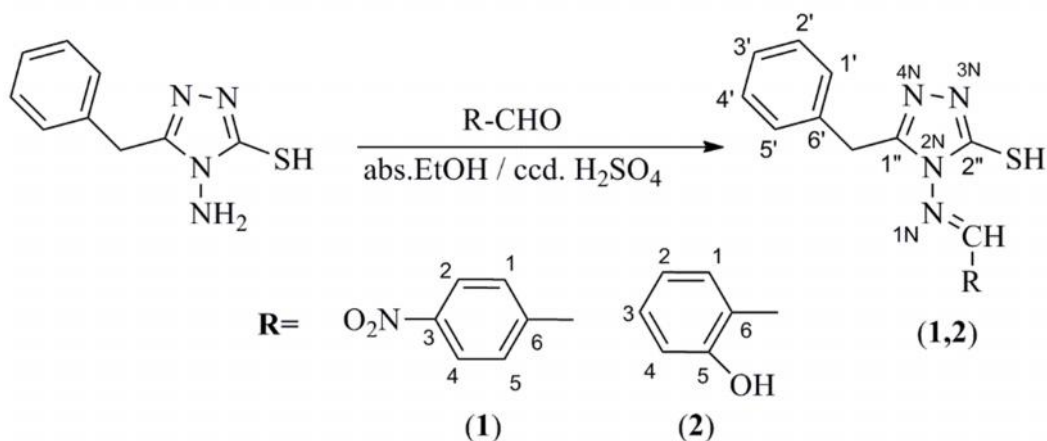
Studiile de stabilitate termică, respectiv analiză cinetică a proceselor de degradare termică sunt extrem de importante mai ales în situația în care sunt analizați compuși cu structură similară, facilitând astfel o serie de corelații între structură și proprietăți, respectiv aducând informații preliminare despre efectul stabilizant/destabilizant al greșurii anumitor grupe funcționale pe același schelet organic [74].

Bazele Schiff (sau derivații azometinici) derivate de la amino-mercapto-triazoli au fost investigate intens în ultima perioadă pentru o clasă largă de bioactivități, având proprietăți analgezice [131], antimicrobiene [132, 133], hipoglicemice [134], antioxidante [131, 135], anticancer [136], antiinflamatoare [137], antifungice [136, 138], antiproliferative [139] și anticonvulsivă [140].

Alături de activitatea biologică diversă pe care derivații azometinici ai triazolilor o manifestă, aceștia au fost folosiți și în domeniul tehnic, ca agenți de inhibare a coroziunii oelului în mediu acid [141–143] sau ca precursori pentru materiale magnetice [144].

Datele de literatură indică mai multe variante de sinteză a bazelor Schiff pornind de la precursori, și anume sinteza în prezența unor cantități catalitice de sururi ale unor tranziționale divalente ($\text{M}(\text{NO}_3)_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$, $\text{M} = \text{Cu}, \text{Ni}, \text{Mn}$) în solvenți organici (MeOH, EtOH, DMF, CH_3CN) la temperatură ambientală [145], utilizarea acidului acetic [146], a etanolului fără catalizator [147] sau în prezența câtorva picături de acid sulfuric concentrat [148], sau a unui exces de acid sulfuric concentrat [149], piperidină [150] sau acid clorhidric [151]. De asemenea, precursorul triazolic (4*H*-4-amino-5-benzil-3-mercapto-1,2,4-triazolul) este menționat în literatură pentru proprietățile sale antibacteriene și antifungice [152].

Protocolul experimental, precum i materialele i metodele utilizate pentru ob inerea bazelor Schiff este prezentat în articolul publicat de grupul nostru de cercetare în 2015 [74]. Sinteza bazelor Schiff a fost realizat în mediu de EtOH absolut, la rece (0–5 °C), folosind precursorul triazolic i aldehida aromatic în raport molar 1:1, în prezen a unui exces de acid sulfuric concentrat. Amestecul de reac ie a fost l sat la perfectare timp de 4 ore, dup care bazele Schiff formate au fost separate prin filtrare (Schema 5).



Schema 5. Procedura de sintez pentru ob inerea bazelor Schiff (SB1) i (SB2) [74].

Cele dou baze Schiff au fost ob inute în acord cu procedeul publicat anterior de grupul nostru de cercetare [1], ob inându-se 4*H*-4-(4-nitro-benziliden-amino)-5-benzil-3-mercapto-1,2,4-triazolul (SB1), respectiv 4*H*-4-(2-hidroxi-benziliden-amino)-5-benzil-3-mercapto-1,2,4-triazolul (SB2). Ambii compu i au fost ob inu i cu puritate ridicat , utilizând drept catalizator un exces de acid sulfuric concentrat (15:1 mol/mol acid:triazol). Caracterizarea fizico-chimic complet a celor doi compu i este prezentat pe larg în lucrarea publicat [74].

Spectrele ¹H-RMN, ¹³C-RMN i ¹⁵N-RMN înregistrate pentru cele dou baze Schiff confirm structura acestora. Astfel, formarea compusului SB1 este confirmat prin semnalul din spectru care corespunde atomilor lega i în gruparea N=CH, atât pentru carbon, hidrogen i azot. Prezen a celor dou grup ri fenil în structur este confirmat de semnalele protonilor aromatici în domeniul spectral 7.14–7.29 (ce corespund la 5 protoni, i anume 1'-H până la 5'-H), la 8.33 ppm i 8.09 ppm (corespunzând la dou perechi de protoni, i anume 1-H, 5-H i respectiv 2-H, 4-H). Acest aspect confirm , de asemenea, modul de substitu ie *para* pentru gruparea din pozi ie azometinic . Prezen a atomilor de azot în structur este relevat prin spectroscopia ¹⁵N-RMN, care confirm prezen a a cinci tipuri de atomi de azot: trei atomi de azot endociclici din nucleul triazolic, unul implicat în leg tura azometinic , respectiv un atom de azot din gruparea func ional nitro. O discu ie similar poate fi realizat i pentru derivatul SB2: i în acest caz, semnalele protonilor aromatici dar i a atomilor de carbon

corespunz tori confirm prezen a a dou resturi fenil; se observ semnarele corespunz toare atomilor din gruparea azometinic , precum i substitu ia în pozi ia *orto* din restul aldehydic. Spectroscopia ^{15}N -RMN confirm prezen a atomilor de azot endociclici, dar i a celui implicat în gruparea azometinic .

Spectrele FTIR ale compu ilor sunt prezentate în Figura 15 [74]. Analiza acestor spectre relev existen a în molecul a câtorva grupe func ionale, prin apari ia unor benzilor caracteristice la anumite numere de und . Pentru compusul SB1, o band larg este observat în domeniul spectral $3689\text{--}3252\text{ cm}^{-1}$, cu un maxim la 3496 cm^{-1} , i care se datoreaz prezen ei apei adsorbite superficial. Prezen a apei este de asemenea dovedit prin analiza termogravimetric , când curba TG indic o pierdere de mas la temperatur joas . Pentru a confirma prezen a apei, compusul SB1 a fost înc lzit la $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ i a fost reluat investiga ia FTIR. Pentru compusul tratat termic la $70\text{ }^{\circ}\text{C}$, spectrul FTIR nu mai indic banda larg men ionat anterior, ceea ce confirm prezen a apei în baza Schiff netratat termic (Figura 15).

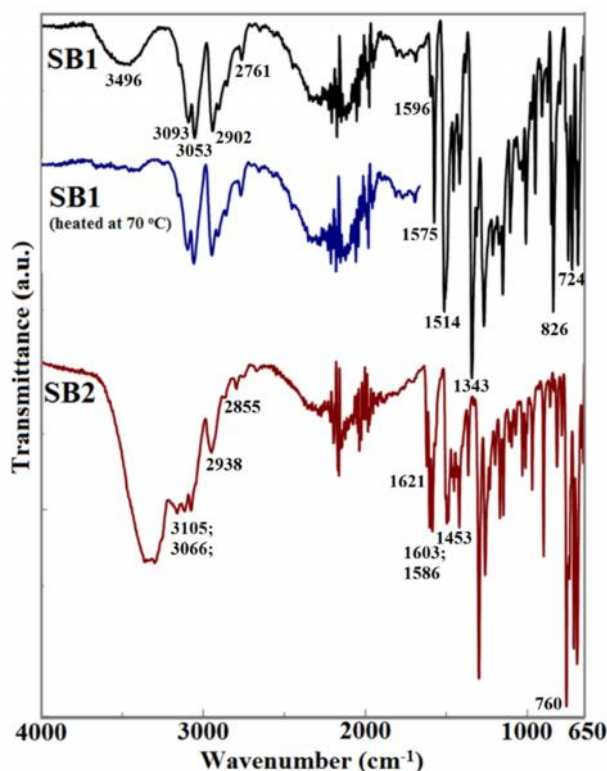


Figura 15. Spectrele FTIR ale bazelor Schiff: SB1, SB1 înc lzit la $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ i SB2 [74].

La numere de und mari, în spectrul FTIR pot fi identificate benzile asociate vibra iilor de întindere ale leg turilor C-H aromatice ($3093\text{ i }3053\text{ cm}^{-1}$), precum i vibra iile simetrice i asimetrice corespunz toare grup rii CH_2 ($2902\text{ i }2761\text{ cm}^{-1}$). Alte benzi importante pot fi asociate cu vibra iile scheletului aromatic ($1596\text{ i }1575\text{ cm}^{-1}$), pe când pentru gruparea nitro sunt observate dou benzi intense la $1514\text{ i }1343\text{ cm}^{-1}$. Deformarea în

afara planului a scheletului aromatic poate fi asociat cu benzile de la numere de und mici, 826 i 724 cm^{-1} .

Analiza spectrului FTIR al compusului SB2 confirm ob inerea i identitatea bazei Schiff. Prezen a grupei func ionale $-\text{OH}$ în structur este confirmat de prezen a unei benzi intense i largi în domeniul spectral 3600–2800 cm^{-1} , corespunzând vibra iei de întindere a leg turilor O–H din grupe hidroxil asociate prin leg turi de hidrogen. Vibra iile de întindere ale leg turii C–H aromatice sunt observate la 3105, 3066 i 2938 cm^{-1} ca benzi de intensitate medie-slab ; vibra iile simetrice i asimetrice corespunz toare grup rii CH_2 pot fi observate la 2855, respectiv 1621 cm^{-1} . Alte benzi importante pot fi asociate cu vibra iile de schelet aromatic (1603, 1586 i 1453 cm^{-1}), pe când deformarea în afara planului a scheletului aromatic apare la 760 i 714 cm^{-1} .

Curbele termoanalitice ale compu ilor au fost ob inute prin înc lizarea cu o vitez = 15 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ în atmosfer de aer i relev un proces de descompunere multistadial. Baza Schiff SB1 pierde apa de adsorb ie pân la o temperatur de 62 $^{\circ}\text{C}$ ($m = 4.84\%$), proces înso it de un efect endoterm pe curba HF, cu maxim la 58 $^{\circ}\text{C}$. Compusul anhidru este apoi stabil pân la 160 $^{\circ}\text{C}$, când se observ apari ia unui proces de descompunere i care se finalizeaz la 310 $^{\circ}\text{C}$, cu o pierdere de mas corespunz toare $m = 61.31\%$. În acest domeniu de temperatur (160–310 $^{\circ}\text{C}$), pot fi observate dou maxime pe curba DTG (la 200.2 i 261.1 $^{\circ}\text{C}$). Analiza curbei de flux termic HF indic existen a unui proces endoterm ($HF_{\text{max}} = 224^{\circ}\text{C}$), clar asociat cu topirea înso it de descompunere a bazei Schiff, urmat apoi de un proces exoterm cu $HF_{\text{max}} = 265^{\circ}\text{C}$, datorat proceselor de degradare oxidativ a structurii moleculare a compusului. Acest proces continu pân la temperatura de 550 $^{\circ}\text{C}$, f r îns a fi finalizat (masa final nu este constant) (Figura 16a).

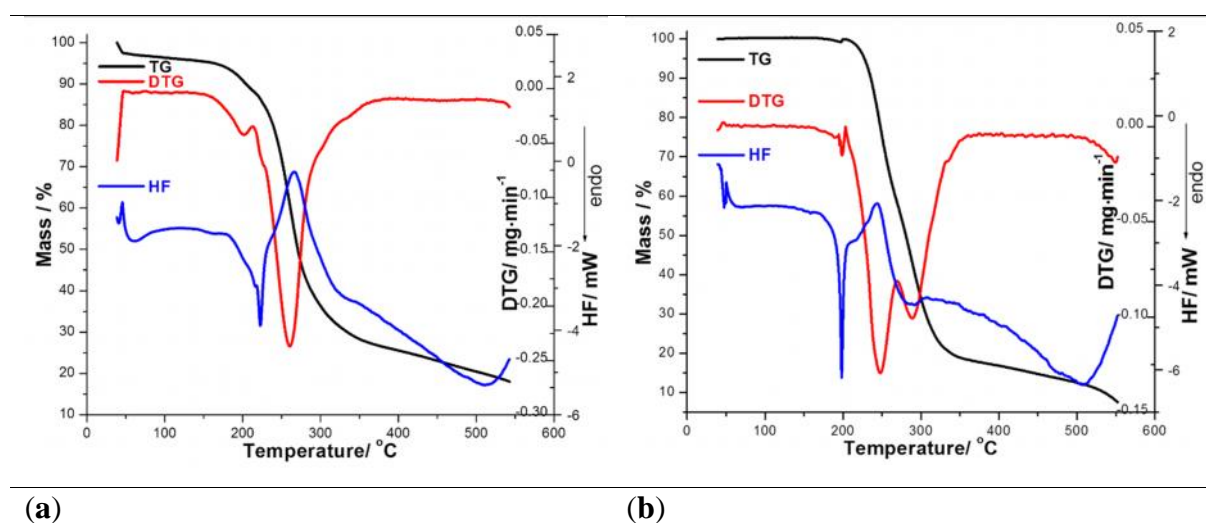


Figura 16. Curbele termoanalitice (TG/DTG/HF) înregistrate pentru derivatul SB1 (a), respectiv SB2 (b), în atmosfer oxidativ , cu o vitez de înc lizare = 15 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ [74].

În ceea ce prive te derivatul SB2, analiza curbelor termooanalitice (Figura 16b) indic o stabilitate termic mai bun a compusului, acesta având mas constant pân la 204 °C. Curba HF indic un proces endoterm cu maximul la 198 °C, asociat cu topirea, fiind în concordan cu punctul (intervalul) de topire determinat cu ajutorul aparatului Bötius. Curba TG indic o degradare în dou etape, în domeniul de temperatur 204–273 °C (cu o pierdere de masa $m= 44.44\%$ i un peak $DTG_{max}= 247$ °C), respectiv în domeniul de temperatur 273–357 °C (cu o pierdere de mas $m= 37.07\%$ i un peak $DTG_{max}= 288$ °C). Procesele ce prezint cele dou maxime pe curba HF la 244 i 286 °C sunt datorate unor fenomene de termooxidare avansat i distrugere a scheletului molecular.

Concluzii par iale

- Au fost sintetizate i caracterizate dou baze Schiff, i anume 4*H*-4-(4-nitro-benziliden-amino)-5-benzil-3-mercapto-1,2,4-triazolul (SB1), respectiv 4*H*-4-(2-hidroxi-benziliden-amino)-5-benzil-3-mercapto-1,2,4-triazolul (SB2), ambele fiind derivate din precursori aromatici;
- Cei doi deriva i au fost ob inu i cu randamente bune i puritate mare, fiind caracteriza i prin interval de topire, CSS, analiz elemental , spectroscopie RMN i FTIR, respectiv analiz termic ;
- În scopul evalu rii efectului de substituent (4-nitro-benziliden-amino vs. 2-hidroxi-benziliden-amino) grefat pe nucleul triazolic, analiza termic furnizeaz doar informa ii preliminare, de aceea studiul a fost ulterior completat cu analiza cinetic a degrad rii în stare solid (Capitolul I.3.2);

Lucrarea „**Kinetic of solid state degradation of transitional coordinative compounds containing functionalized 1,2,4 -triazolic ligand**” [49] a avut ca scop studiul ob inerii i caracteriz rii a trei compu i coordinativi ai Ni(II), Cd(II) i Zn(II) cu un ligand 1,2,4-triazolic func ionalizat, prin metode fizico-chimice (analiz elemental , titrare complexometric), spectroscopice (FTIR) i termice (TG/DTG/HF), respectiv investigarea mecanismului de descompunere termic folosind tehnica cuplat EGA (TG-FTIR). De asemenea, studiile de stabilitate termic preliminar (TG/DTG/HF) au fost completate cu analiza cinetic a descompunerii în mediu eterogen (Capitolul I.3.2).

Compu ii coordinativi au captat interesul, la rândul lor, pe lâng liganzi, în numeroase domenii tiin ifice i tehnice, inclusiv în domeniul medical [153, 154]. Numeroase lucr ri tiin ifice au fost publicate în domeniul chimiei coordinative cu liganzi triazolici, cu sau f r precizarea activit ii lor biologice [155–159].

Astfel, complec ii metalici ai deriva ilor de triazol sunt utiliza i ca precatalizatori în hidroaminarea olefinelor [160, 161], ca precursori de compu i cu propriet i magnetice [162], sunt compu i ce induc hidroliza ADN-ului [163], prezint activitate non-apoptotic i citotoxic [164–168], capacitate de legare la nivel de ADN [169], propriet i anticancer [170], dar i efect antibacterian sau antifungic [168, 171, 172].

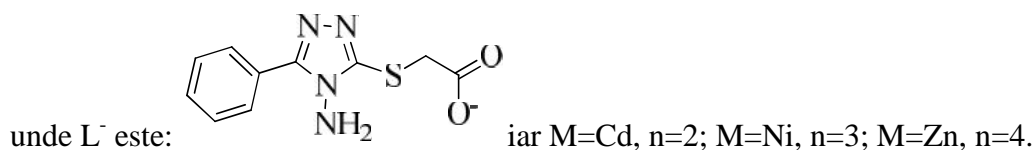
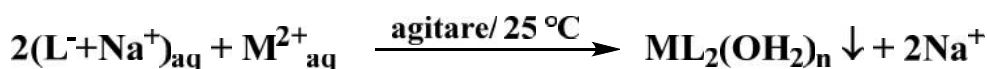
Chimia compu ilor coordinativi este, în clipa de fa , un domeniu de cercetare cu dezvoltare extraordinar , în special în direc ia ob inerii unor compu i cu activitate biologic , respectiv ca agen i de diagnostic. Activit ile biologice ale compu ilor coordinativi au generat o nou clas de agen i chemoterapeutici, cu activitate biologic intit [173].

Formarea compu ilor coordinativi ce con in ca ligand nucleul 1,2,4-triazolic func ionalizat i geometria acestora sunt în strâns leg tur cu modalitatea de derivatizare a scheletului de baz , putând forma mai multe geometrii de coordinare. Astfel, este bine cunoscut faptul c nucleul 1,2,4-triazolic, prin cei trei atomi de azot endociclici, dar i prin existen a formelor tautomere poate conduce la ob inerea diverselor structuri supramoleculare [174]. Modificarea posibilit ilor de complexare ale nucleului 1,2,4-triazolic se poate realiza prin grefarea unor grupe func ionale ce posed capacitate complexant , ob inând astfel serii de liganzi care pot genera, cel pu in virtual, un num r infinit de complec i metalici. În studii anterioare [1–3], am prezentat câteva metode de func ionalizare a nucleului amino-mercapto-triazolic, prin introducerea în scheletul acestuia a unor grup ri cu capacitate m rit de complexare.

Ca urmare a acestor considerente, am realizat sinteza i caracterizarea comport rii în stare solid a trei complec i metalici cu ligand polifunc ionalizat, i anume sarea sodic a 4*H*-4-amino-5-carboxi-metilsulfanil-3-fenil-1,2,4-triazolului.

Ca precursori în sintez , am utilizat halogenuri metalice solubile: CdI_2 , $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ i ZnCl_2 de puritate analitic . Sinteza i caracterizarea complet a ligandului (în form acid) a fost publicat anterior [1], iar metoda de ob inere a s rii sodice a fost raportat în dou lucr ri anterioare ale grupului nostru de cercetare care au vizat sinteza unor combina ii coordinative ale Co(II) [11] i Cu(II) [65]. Complec ii au fost sintetiza i în mediu apos, prin amestecarea solu iilor ce con in ligandul, respectiv sarea metalic în raport molar 2:1. Ace tia au precipitat cantitativ dup ad ugarea întregii cantit i de ligand, separându-se sub forma unei materii amorfe. Verificarea consum rii integrale a ligandului în reac ia de complexare s-a verificat prin CSS folosind pl ci cromatografice Merck 60F₂₅₄, utilizând trei sisteme de eluare cu polaritate diferit i anume benzen:acetat de etil 1:1 (v/v), benzen:metanol 7:3 (v/v) i benzen:metanol 3:7 (v/v). În nicio situa ie nu a fost observat prezen a spotului cromatografic datorat ligandului, ceea ce confirm complexarea total a acestuia.

Complexii metalici au fost separa i prin filtrare la presiune sc zut , sp la i cu ap bidistilat i usca i timp de 48h la 30 °C, conform Schemei 6.



Schema 6. Sinteza compu ilor coordinativi i structura ligandului (adaptare dup [49])

Compozi ia complex ilor metalici a fost evaluat prin analiz termic , analiz elemental , respectiv con inutul de metal a fost stabilit prin titrare complexonometric dup dezagregarea complexului printr-o procedur analitic standard (Tabelul 6).

Tabelul 6. Rezultatele ob inute la investigarea complex ilor metalici (adaptare dup [49])

Rezultate g site / calculate	Complexul metalic		
	CdL ₂ (OH) ₂	NiL ₂ (OH) ₂	ZnL ₂ (OH) ₂
Aspectul	Pulbere alb	Pulbere albastru-pal	Pulbere gri
Analiza elemental (VarioEL Elementar Analysensysteme GmbH)	C:36.98/37.13 H:3.29/3.43 N:17.11/17.32	C: 38.96/39.30 H: 4.01/3.96 N: 18.42/18.33	C: 37.14/37.77 H: 4.31/4.12 N: 17.56/17.62
Con inut de metal (titrare complexonometric)	16.98/17.37	9.12/9.60	9.96/10.28
Mas molar (g·mol ⁻¹)	643.7/646.98	607.2/611.28	631.1/635.98
Formula compozi ional	C ₂₀ H ₂₂ CdN ₈ O ₆ S ₂	C ₂₀ H ₂₄ N ₈ NiO ₇ S ₂	C ₂₀ H ₂₆ N ₈ O ₈ S ₂ Zn

Spectrele FTIR ale complex ilor [49] au fost înregistrate folosind tehnica ATR (Perkin Elmer SPECTRUM 100) i indic faptul c în formarea complex ilor particip ligandul în form deprotonat , prin gruparea carboxilat. Spectrele FTIR ale ligandului în form protonat , respectiv în form deprotonat au fost publicate anterior [11, 65]. În domeniul spectral 4000-2000 cm⁻¹ apar benzile largi care confirm prezen a apei în structura complex ilor, astfel: pentru complexul cu Ni(II), banda apare în domeniul spectral 3620-2800 cm⁻¹, cu un maxim la 3334 cm⁻¹; pentru complexul cu Cd(II), banda apare în domeniul spectral 3600-2800 cm⁻¹, cu un maxim la 3235 cm⁻¹, iar pentru complexul cu Zn(II) între 3600-2750 cm⁻¹, cu un maxim la 3318 cm⁻¹. Con inutul de ap din structur este în acord cu rezultatele furnizate de celelalte tehnici investiga ionale, respectiv studiul EGA i analiza elemental . Benzile caracteristice vibra iilor de întindere ale leg turilor C-H din grup rile CH₂ apar între 2953 i 2870 cm⁻¹, pentru to i complex ii investiga i (Figura 17).

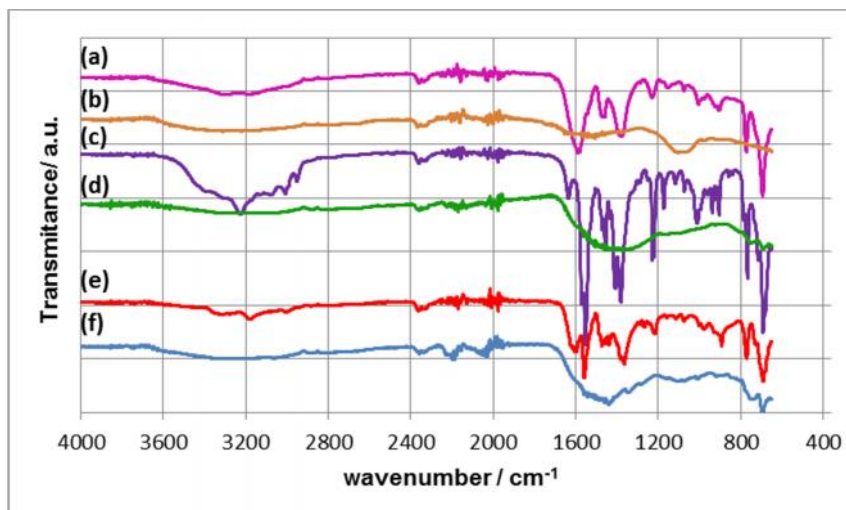


Figura 17. Spectrele UATR-FTIR pe domeniul spectral 4000-600 cm^{-1} înainte de tratamentul termic pentru complexii metalici: (a) Ni(II); (c) Cd(II) și (e) Zn(II) respectiv după termoliza la 550 °C: (b) Ni(II); (d) Cd(II) și (f) Zn(II), corespunzând oxizilor metalici [49]

Datele de literatură [175–177] indică faptul că gruparea funcțională $-\text{COOH}$ este caracterizată de două modalități majore de vibrație, și anume: $\nu(\text{C}=\text{O})$, respectiv $\nu(\text{C}-\text{OH})$, cea din urmă fiind reprezentată de două benzi distincte. Odată cu deprotonarea, gruparea carboxilată formată adoptă simetrie C_{2v} și prin urmare două vibrații distincte ar trebui observate, și anume $\nu^{\text{as}}(\text{COO})$, respectiv $\nu^{\text{s}}(\text{COO})$. Analiza UATR-FTIR indică deplasarea benzii caracteristice $\nu(\text{C}=\text{O})$ de la 1714 cm^{-1} în cazul ligandului necomplexat [11] la numere de undă mai mici, și anume: 1555 cm^{-1} pentru complexul Cd(II), 1591 cm^{-1} pentru complexul Ni(II), respectiv 1625 cm^{-1} pentru complexul Ni(II). Formarea combinațiilor complexe este susținută de apariția în spectrul FTIR a unor benzi noi în regiunea spectrală 600-450 cm^{-1} în comparație cu ligandul liber (Figura 18), benzi care pot fi asociate cu vibrațiile (Metal-O), respectiv (Metal-N) [11, 49, 65].

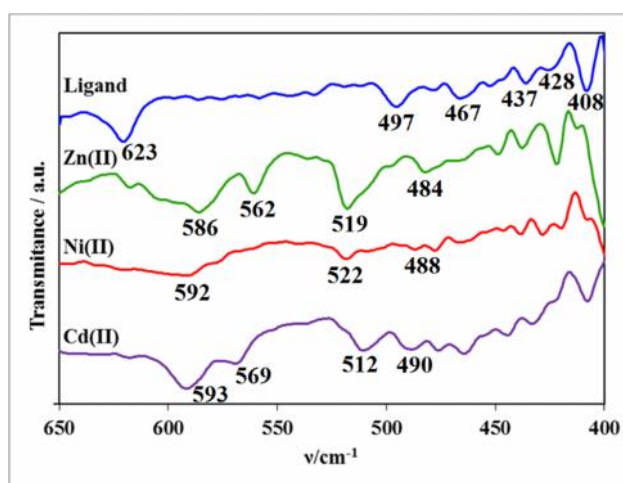


Figura 18. Spectrele UATR-FTIR ale ligandului și ale complexelor metalice pe domeniul spectral 650-400 cm^{-1} [49]

Studiul stabilit ii termice a complex ilor metalici a fost utilizat ca a doua tehnic investigativa ional . Experimentele au fost realizate în atmosfer oxidativ , în regim neizoterm, cu o vitez de înc lzire = $7\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$. Curbele termoanalitice TG/DTG/HF sunt prezentate în Figura 19.

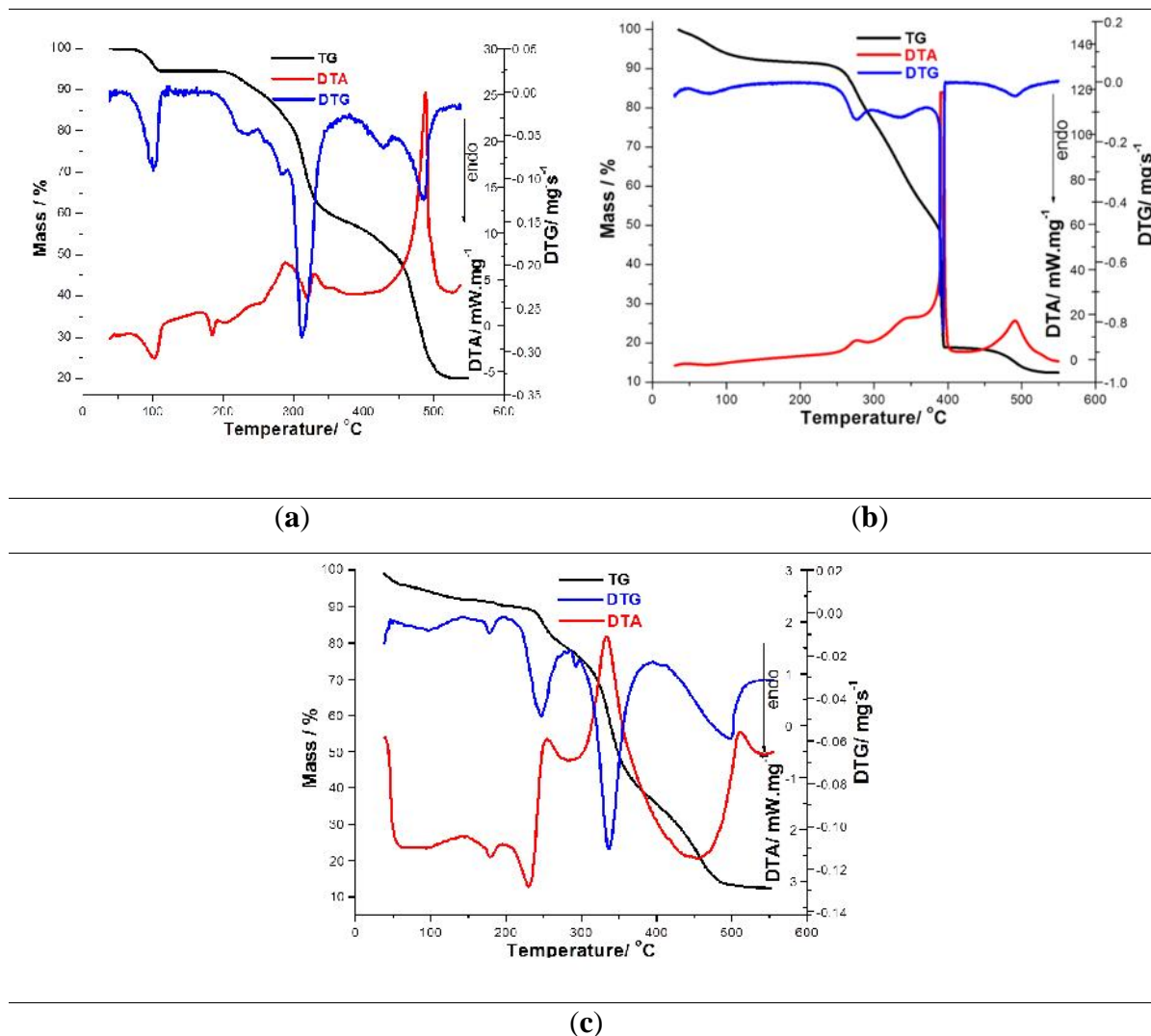


Figura 19. Curbele TG/DTG/HF înregistrate pentru complex ii cu (a) Cd(II); (b) Ni(II) i (c) Zn(II) în aer, cu o vitez de înc lzire = $7\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ [49]

Analiza curbelor termoanalitice ale complexului cu Cd(II) (Figura 19a) furnizeaz informa ii legate de deshidratarea acestuia - curba HF indic un proces endoterm bine definit cu maximul la $103.5\text{ }^{\circ}\text{C}$, asociat i cu o pierdere de mas $m=5.4\%$. Dup pierderea apei din structur , complexul anhidru al Cd(II) este stabil termic pân la $187\text{ }^{\circ}\text{C}$. La temperaturi mai mari, apar dou procese majore de descompunere, cu pierderi de mas considerabile, între $190\text{--}380\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($m=36.8\%$) i $380\text{--}550\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($m=37.8\%$). Curba DTG prezint un maxim la $312\text{ }^{\circ}\text{C}$, acompaniat de apari ia a dou maxime pe curba de flux termic, la 288 i $330\text{ }^{\circ}\text{C}$. În

ultima etap de degradare, apare un proces intens exoterm ($HF_{max} = 487 \text{ }^\circ\text{C}$), datorat proceselor de termodegradare a scheletului organic din structura complexului. Masa rezidului final ob inut în urma înc lzirii la $500 \text{ }^\circ\text{C}$ corespunde form rii oxidului metalic divalent, CdO (Figura 20a).

Descompunerea termic a complexului cu Ni(II) indic trei procese de pierdere de mas (Figura 19b), atribuite proceselor de degradare ale ligandului, pân la masa constant final la $550 \text{ }^\circ\text{C}$, ce corespunde produsului final de descompunere, i anume NiO (Figura 20b). Procesele termice ce au loc la temperaturi mici sunt datorate pierderii de ap , în domeniul de temperatur $40\text{-}120 \text{ }^\circ\text{C}$, când masa r mâne constant pân la $215 \text{ }^\circ\text{C}$, temperatur care corespunde pragului termic maxim de stabilitate a complexului anhidru. Pierderea de mas determinat experimental în etapa de deshidratare corespunde cu con inutul de ap estimat teoretic.

La analiza termic a complexului cu Zn(II) (Figura 19c), primul proces indus termic debuteaz la $\sim 45 \text{ }^\circ\text{C}$, fiind eviden iat de dou maxime pe curba HF, la $98 \text{ }^\circ\text{C}$ i $178 \text{ }^\circ\text{C}$, fiind eviden iate i de o pierdere de mas $m = 11.0\%$. Conform curbei de flux termic, primul proces este o deshidratare în dou trepte ce corespunde pierderii a 4 moli de ap per mol de complex.

Din analiza temperaturilor la care cele dou procese apar, se poate asuma tentativ c doi moli de ap corespund apei de re ea, respectiv doi moli de ap corespund apei de coordinare. Alte procese eviden iate pe curba HF observate sunt relevate de trei maxime consecutive, unul de natur endoterm i dou de natur exoterm , la 229 ; 252 i $332 \text{ }^\circ\text{C}$. Reziduul ob inut este reprezentat de ZnO, fiind identificat atât pe cale spectroscopic , cât i din pierderea de mas de pe curba TG (Figura 20f).

În cazul tuturor celor trei complec i, ultimul proces identificat pe curbele termoanalitice este atribuit proceselor de termooxidare avansat a ligandului, prin maximul exoterm intens de pe curba HF. Diferen ierea între procesele finale de degradare ale complec ilor se eviden iaz mai ales în cazul complexului cu Ni(II), unde procesul este puternic exoterm.

În Tabelul 7 sunt sumarizate datele ob inute pentru toate procesele separate pe curbele termoanalitice ale celor 3 complec i analiza i (intervalele de temperatur , peak-urile i pierderile de mas .

Degradarea termic a complec ilor în mediu oxidativ a fost, de asemenea, investigat prin analiz hifenat TG-FTIR, la o vitez de înc lzure $= 20 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$. Spectrele FTIR ob inute sunt prezentate în Figura 20A-C.

Tabelul 7. Datele termoanalitice ob inute la analiza complex ilor (adaptare dup [49])

Complexul	Procesul	$T_i / ^\circ\text{C}$	$T_f / ^\circ\text{C}$	$T_{max\ DTG} / ^\circ\text{C}$	$T_{max\ HF} / ^\circ\text{C}$	$m / \%$
$\text{ZnL}_2(\text{OH}_2)_4$	I	45	200	95; 177	98; 178	11.0
	II	200	280	247; 336	229; 252; 332	12.1
	III	280	400	336	334	41.7
	IV	400	550	502	510	22.2
$\text{NiL}_2(\text{OH}_2)_3$	I	40	120	101	102	9.0
	II	215	300	275	278	15.1
	III	300	370	330	345	22.2
	IV	370	400	395	397	34.7
	V	445	550	490	488	7.0
$\text{CdL}_2(\text{OH}_2)_2$	I	68	114	102.8	103.5	5.4
	II	187	380	312	184; 288; 330	36.8
	III	380	550	486	487	37.8

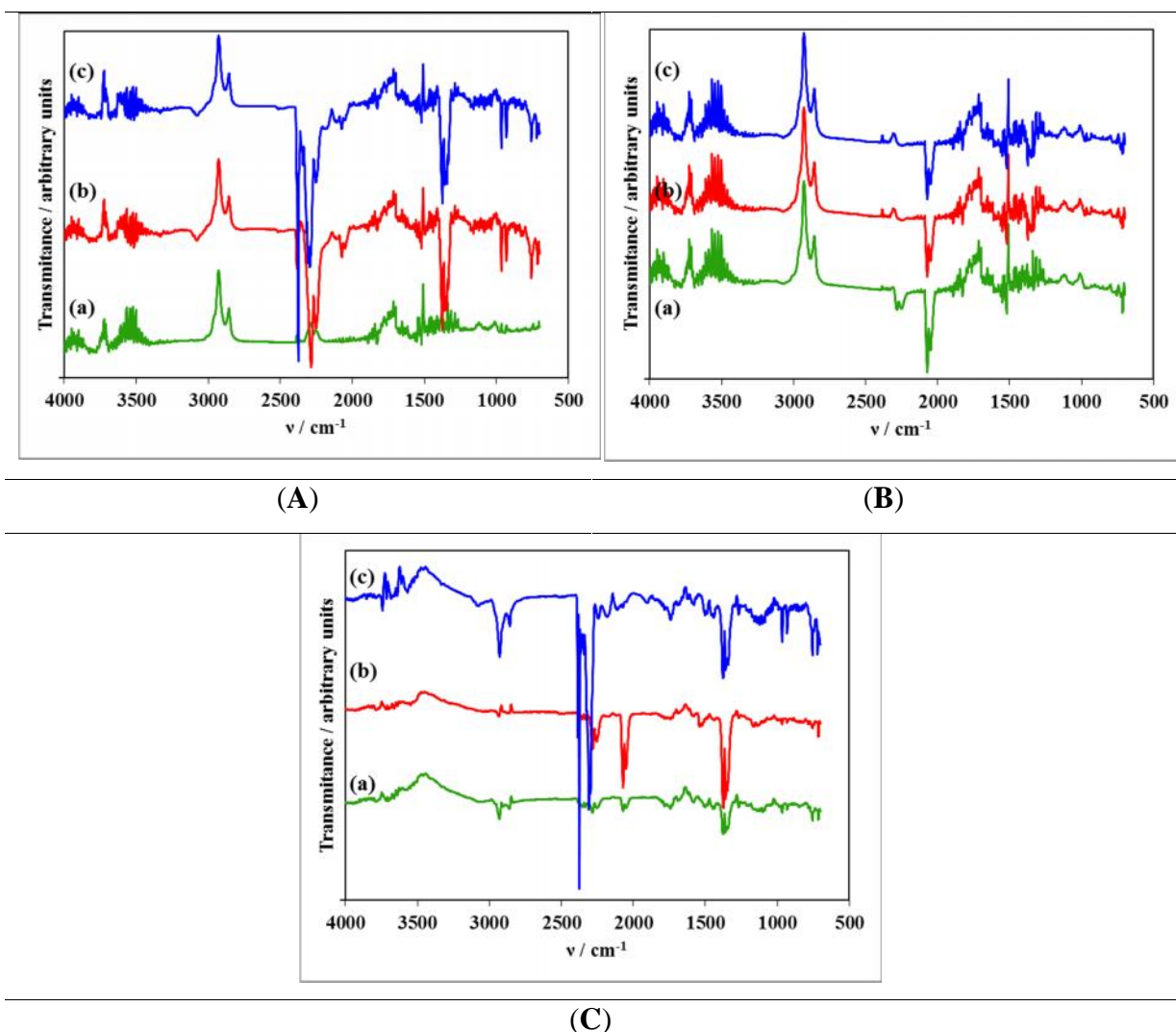


Figura 20. Profilele FTIR pentru amestecurile gazoase ob inute în urma descompunerii pentru: (A) complexul de Ni(II) la: (a) 11.7 min, (b) 13.3 min, (c) 13.9 min; (B) complexul de Cd(II) la (a) 13.7 min, (b) 15.2 min, (c) 15.7 min ; (C) complexul de Zn(II) la: (a) 11.2 min; (b) 12.0 min; (c) 12.6 min [49].

Principalele specii gazoase identificate în spectrele FTIR-EG sunt vaporii de apă ($\nu = 3750\text{--}3500$ și $1900\text{--}1300\text{ cm}^{-1}$) în toate situațiile, la temperaturi mai scăzute, confirmând astfel că pierderea de apă are loc ca primă etapă de pierdere de masă. Rezultatele obținute din studiul EGA sunt în concordanță cu cele sugerate de analiza termică, atât în ceea ce privește etapa de deshidratare, cât și natura rezidului final obținut (Tabelul 8).

Tabelul 8. Date experimentale vs. valori calculate pentru etapa de deshidratare și rezidul final (adaptare după [49]).

	$m_{\text{deshidratare}} / \%$		$m_{\text{reziduu final}} / \%$	
	experimental	calculat	experimental	calculat
$\text{ZnL}_2(\text{OH}_2)_4$	11.0	11.32	13.0	12.80
$\text{CdL}_2(\text{OH}_2)_2$	5.4	5.56	20.0	19.84
$\text{NiL}_2(\text{OH}_2)_3$	9.0	8.83	12.0	12.22

Din cauza faptului că viteza de încălzire în tehnica EGA este mai mare decât uzual, iar pe altă parte, există o diferență de timp între formarea gazelor în cuptor și acumularea acestora în celula FTIR prin intermediul liniei de transfer, la diverse momente de timp când se înregistrează spectrul FTIR al amestecului gazos, pot apărea un număr diferit de benzi față de cel estimat prin mecanismul probabilistic de descompunere. Un profil EGA similar a fost observat pentru produse de descompunere la temperaturi sub $400\text{ }^\circ\text{C}$. Odată cu creșterea temperaturii până la $490\text{ }^\circ\text{C}$, în spectrul IR apar benzi noi, compusul principal identificat este dioxidul de carbon ($\nu = 2372\text{ cm}^{-1}$).

Faptul că procesul de decarboxilare apare la temperaturi atât de ridicate poate fi explicat prin implicarea grupării carboxilat în legătura coordinativă, și prin urmare, gruparea heterociclică laterală este mai susceptibilă la oxidare, ca și în cazul altor complexe metalici [65]. Banda intensă de la aproximativ 3000 cm^{-1} este asociată cu vibrația legăturii aromatice C–H din benzen, care este eliminată după distrugerea grupelor funcționale laterale ale ligandului. Benzile situate între $1950\text{--}1800\text{ cm}^{-1}$, precum și cele de la $1650\text{--}1550\text{ cm}^{-1}$ ce prezintă o structură hiperfină sunt asociate cu prezența oxidului de azot (II), care este un produs de oxidare al azotului endociclic triazolic, respectiv exociclic aminic. Alte benzi care apar sunt asociate cu prezența dimetilsulfurii, la $1437, 1408, 1310, 1057$ și 955 cm^{-1} la temperaturi mai mari, și sugerează descompunerea nucleului triazolic în vecinătatea atomului de sulf [49].

Concluzii par iale

- To i complec ii analiza i prezint prima pierdere de mas la temperaturi joase: între 40 i 120 °C (complexul de Ni(II)), respectiv în jur de 180 °C (complec ii de Cd(II) i Zn(II), datorit proceselor de deshidratare;
- Analiza TG sugereaz c stabilitatea complec ilor anhidri este considerabil , prezentând masa constant pân la ~ 200 °C;
- Ulterior deshidrat rii, au loc procese cu pierdere de mas în cazul tuturor complec ilor, datorate descompunerii termice a ligandului în etape consecutive bine individualizate sau suprapuse par ial;
- Similaritatea spectrelor FTIR în regiunea 2000-650 cm^{-1} sugereaz c în cazul celor trei compu i coordinativi, ligandul prezint acela i mod de legare, iar diferen a observat în domeniul spectral 3600-2800 cm^{-1} se datoreaz prezen ei apei legate (fie ca ap de cristalizare, fie de coordinare), în cantit i diferite i bine definite pentru fiecare specie în parte;
- În cazul complexului cu Zn(II), cele patru molecule de ap determinate pot fi asociate cu ap de re ea (dou molecule), respectiv cu ap de coordinare (dou molecule). Pentru complec ii cu Ni(II) i Cd(II), suprapunerea proceselor de deshidratare îngreuneaz stabilirea rolului pe care moleculele de ap îl au în structura compu ilor respectivi.

I.3.1.2. Chimia compu ilor triterpenici, deriva i ai acidului betulonic

Chimia betulinei i a deriva ilor s i a fost intens investigat în ultima decad , dep ind 1500 de index ri în ISI Web of Science [90] pentru aceast perioad , ceea ce sugereaz poten ialul bioactiv al compu ilor apar inând acestei clase. Chiar dac pân în clipa de fa , acidul betulonic i deriva ii s i nu au fost la fel de intens investiga i precum al i deriva i de betulin (fiind indexate aproximativ 160 de lucr ri în ISI Web of Science), poten ialul bioactiv al acestei clase de compu i va deschide noi direc ii de cercetare.

Conform ISI Web of Science [90], pentru triterpenoidele pentaciclice derivate din acidul betulonic exist un interes pe plan interna ional în ceea ce prive te ob inerea unor deriva i func ionaliza i, cele mai multe studii de derivatizare fiind publicate de grupuri de cercetare din Rusia, cu cercet tori experimenta i precum G.A. Tolstikov, I.V. Sorokina, T.G. Tolstikova, I.A. Tolmacheva, V.V. Grishki, O.V. Savinova O.B. Flekhter i E.I. Boreko, care au publicat pân în clipa de fa 56 de lucr ri în sistemul ISI în domeniul acidului betulonic i al posibilit ilor acestuia de func ionalizare, în lucr ri precum cele men ionate în referin ele

[178–183]. De asemenea, alte grupuri de cercetare din SUA i China, cu un num r de 25 publica ii ISI în domeniu, dintre care se pot aminti [184–187].

La nivel na ional, conform ISI Web of Science [90], exist trei publica ii în domeniul ob inerii, caracteriz rii i func ionaliz rii acidului betulonic, publicate de c tre Lede i I *et al.*, i anume în 2014 [9], în 2015 [85] i în 2016 [53]. Prin aceast direc ie de cercetare, putem considera c grupul nostru de lucru a ini iat la nivel na ional investiga iile în domeniul func ionaliz rii acidului betulonic, aliniindu-se grupurilor de cercetare de la nivel interna ional.

Acidul betulonic (acidul 3-oxolup-20(29)-en-28-oic) este un compus bioactiv ce prezint o serie de activit i biologice ca atare sau dup func ionalizare, precum activitate citotoxic pe diverse linii celulare [188][189], antiviral [190], antimalaric [191], antibacterian [183], antiangiogenic [190], proapoptotic pentru celule canceroase din tumori solide [192], efect hepatoprotectiv i antiinflamator [193, 194], activitate spasmolitic [195], anti-HIV [178] etc. Structura acidului betulonic este prezentat în Figura 21.

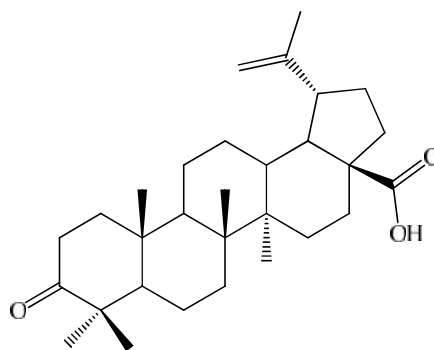
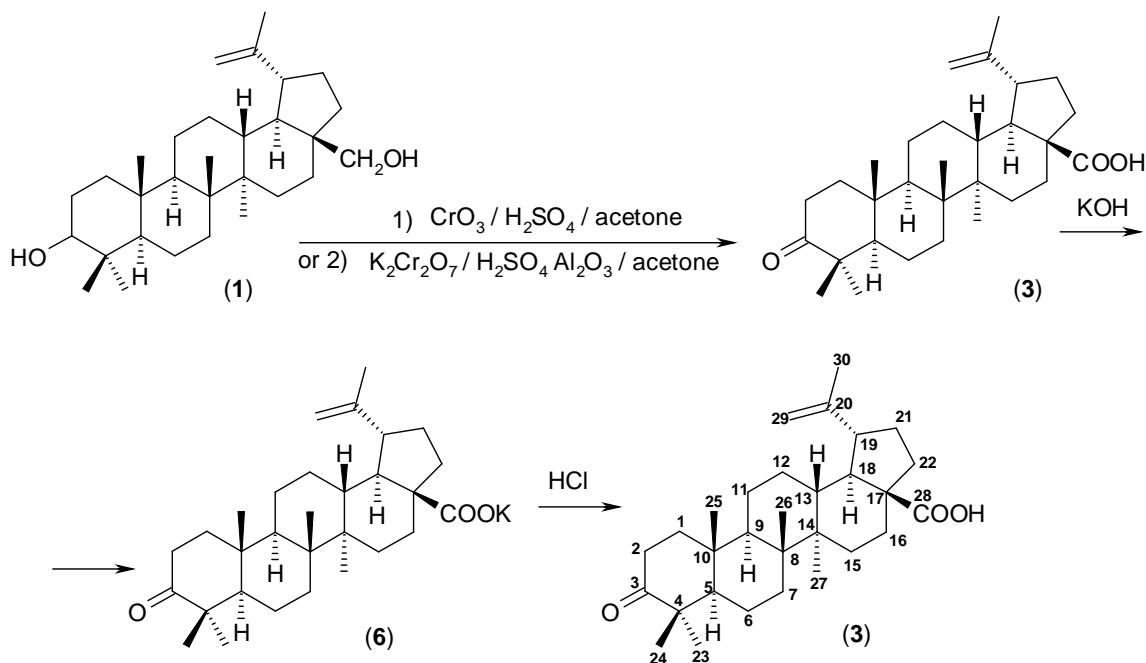


Figura 21. Formula structural a acidului betulonic

Studiul ini ial [9] a urm rit ob inerea acidului betulonic printr-un procedeu de oxidare optimizat al betulinei, folosind reactiv Jones ($\text{CrO}_3/\text{H}_2\text{SO}_4$) în acetone, respectiv $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ în mediu apos, în prezen a H_2SO_4 i a Al_2O_3 . Acidul betulonic sintetizat a fost caracterizat prin CSS i HPLC, respectiv prin spectroscopie FTIR, ^1H -RMN i ^{13}C -RMN. Procedeu de sintez prin care acidul betulonic a fost ob inut este prezentat sintetic în Schema 7:



Schema 7. Procedeu de sintez pentru obinerea acidului betulonic (3) prin oxidarea betulinei (1) i etapa de purificare prin intermediul sarii potasice (6) [9]

Indiferent de procedeu de sintez ales, acidul betulonic a fost obinut cu un randament maxim de 50%, cu o puritate de 96% (conform HPLC). Din cele dou metode de oxidare alese, cea mai avantajoas a fost cea care a utilizat reactiv Jones, cnd s-a obinut un randament dublu comparativ cu oxidarea folosind $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ n mediu apos, n prezena H_2SO_4 i a Al_2O_3 . Prin acest procedeu, s-a sintetizat materia prim pentru celelalte dou studii.

Din cele trei lucrri publicate n domeniul obinerii i funcionalizrii acidului betulonic, am inclus n teza de abilitare dou, cele pe care le-am considerat relevante, i anume [53, 85].

Lucrarea „Betulonic Acid - Study of Thermal Degradation by Kinetic Approach” [53] prezint studiul de stabilitate termic al acidului betulonic n condiii neizoterme, n mediu oxidativ (atmosfera sintetic de aer), n domeniul de temperatur 35-550 °C. Iniial, a fost nregistrat o singur curb termoanalitic la $\approx 5 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, ulterior fiind nregistrate i alte curbe termoanalitice la viteze de ncalzire mai mari, n vederea realizrii studiului cineticii de descompunere (prezentat pe larg n Capitolul I.3.2.).

Deoarece caracterizarea acidului betulonic prin tehnici instrumentale a fost publicat anterior studiului de stabilitate termic [9], n lucrarea [53] este prezentat doar comportarea termic a acestuia. Curbele termoanalitice (Figura 22) indic un proces de descompunere multistadial; totui, acidul betulonic este stabil termic pân la temperaturi mari, prima pierdere de mas fiind observat la 222 °C cu un maxim pe curba DTG la 273 °C ($m=12\%$), urmat de un al doilea proces care începe la 286.7 °C cu DTG_{max} la 307.6 °C ($m=41\%$).

Procesele cu pierdere de mas care au loc în domeniul de temperatur 200-400 °C sunt înso ite de efecte puternic exoterme, datorate probabil proceselor avansate de termoxidare astfel încât la 525 °C pierderea de mas este total .

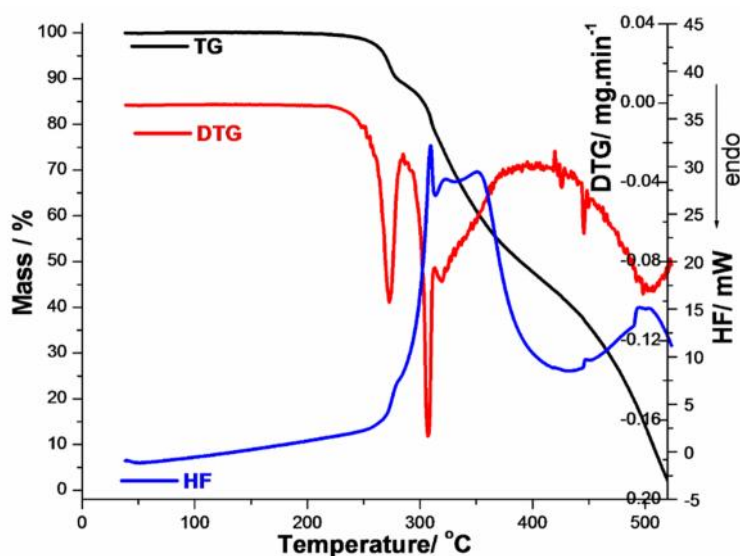


Figura 22. Curbele termoanalitice înregistrate pentru acid betulonic în aer, la $\dot{T} = 5 \text{ } ^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$

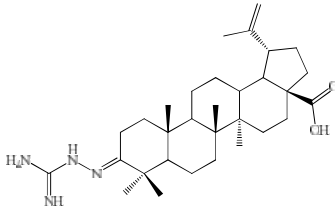
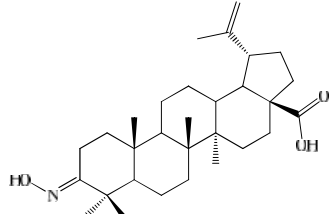
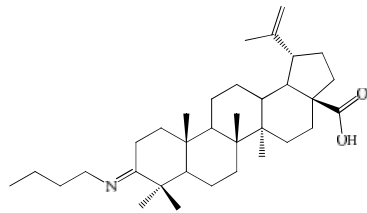
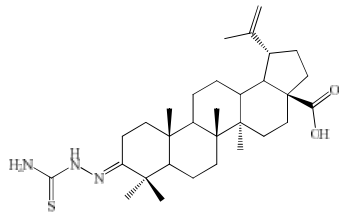
[53]

Studiul termic a fost realizat în vederea determinării intervalului de stabilitate termică a acidului betulonic, pentru stabilirea condițiilor de funcționalizare a acestuia prin reacții de condensare în prezența microundelor, în absența solvenților (Lede i I et al., rezultate nepublicate).

Ulterior studiului de stabilitate termică a acidului betulonic, am realizat sinteza și caracterizarea prin screening complex (fizico-chimic și evaluarea activității biologice) a unor derivați de acid betulonic.

Lucrarea „**Solid-State Characterization and Biological Activity of Betulonic Acid Derivatives**” [85] a avut ca scop obținerea, caracterizarea și evaluarea activității biologice a 4 compuși obținuți prin funcționalizarea prin condensarea acidului betulonic (a grupării carbonilice din poziția 3) cu derivați aminici, și anume aminoguanidin, hidroxilamin, *n*-butilamin și tiosemicarbazid. Compușii sintetizați și caracteristicile lor fizico-chimice, compoziția și rezultatele analizelor spectroscopice sunt prezentate în Tabelul 9.

Tabelul 9. Propriet ile compu ilor de derivatizare ob inu i (C1-C4) (adaptare dup [85]).

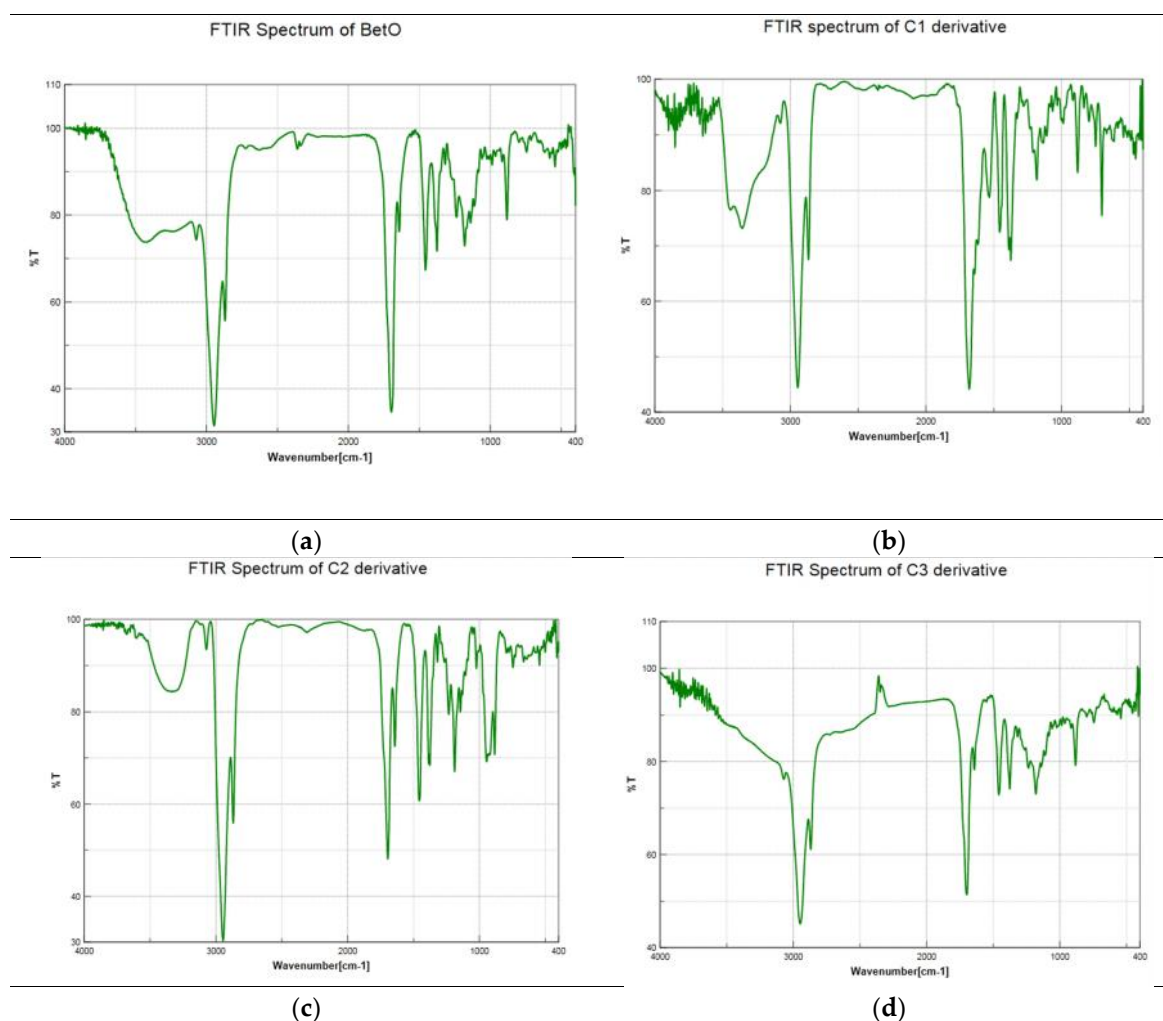
Structura	Date ob inute
	<p>Caracterizarea compusului C1 Acid 3-2-carbamimidohidrazonolup-20(29)-en-28-oic Solid alb cristalin (=66.7%), p.t.(Böetius) = 274–277 °C FTIR (KBr, cm⁻¹): 3442, 3352, 3175, 3070, 2946, 2867, 1680, 1642, 1457, 1537, 1455, 1375, 1184, 989, 882, 749, 703, 617. Analiza elemental (Calc./Determinat) pentru C₃₁H₅₀N₄O₂, M= 510.75 g/mol: C=72.90%, H=9.87%, N=10.97%; Determinat: C=73.04%, H=9.91%, N=11.07%</p>
	<p>Caracterizarea compusului C2 Acid 3- hidroximinolup-20(29)-en-28-oic Solid alb cristalin (=72.4%), p.t.(Böetius) = 210 °C (tranzii de faz); 219–224 °C (brut); p.t.(Böetius) = 215–219 °C (EtOH) FTIR (KBr, cm⁻¹): 3283, 3073, 2946, 2869, 1697, 1642, 1455, 1385, 1376, 1320, 1267, 1233, 1188, 1144, 1023, 945, 885, 795, 746, 665, 567, 544, 501. Analiza elemental (Calc./Determinat) pentru C₃₀H₄₇NO₃, M= 469,70 g/mol: C=76.71%, H=10.09%, N=2.98%; Determinat: C=76.15%, H=10.23%, N=2.64%</p>
	<p>Caracterizarea compusului C3 Acid 3-butyliminolup-20(29)-en-28-oic Solid galben pal (=73.4%), p.t.(Böetius) =145–150 °C FTIR (KBr, cm⁻¹): 3072, 2986, 2940, 2868, 1694, 1642, 1454, 1375, 1279, 1233, 1180, 1110, 1024, 882, 744, 543 Analiza elemental (Calc./Determinat) pentru C₃₄H₅₅NO₂, M= 509.81 g/mol: C=80.10%, H=10.87%, N=2.75%; Determinat: C=80.98%, H=11.29%, N=2.82%</p>
	<p>Caracterizarea compusului C4 Acid 3-2-carbamotiohidrazonolup-20(29)-en-28-oic Solid alb (=28.1%), p.t.(Böetius) >330 °C FTIR (KBr, cm⁻¹): 3449, 3303, 3245, 2940, 2867, 1690, 1640, 1515, 1481, 1458, 1389, 1373, 1236, 1204, 973, 894, 602, 495 Analiza elemental (Calc./Determinat) pentru C₃₁H₄₉N₃O₂S, M= 527.80 g/mol: C=70.54%, H=9.36%, N=7.96%; Determinat: C=70.15%, H=9.59%, N=8.01%</p>

Acidul betulonic utilizat ca precursor a fost ob inut în cadrul grupului nostru de cercetare, utilizând un procedeu de sintez optimizat [9]. To i ceilal i reactivi utiliza i au fost produ i comerciali. Tehnica instrumental utilizat în sintez i caracterizare, precum i parametrii de lucru sunt prezenta i pe larg în articolul publicat [85].

Acidul betulonic a fost dizolvat în cantitatea minim de solvent (piridin anhidr pentru C1 i C2, respectiv etanol absolut pentru C4), apoi s-a ad ugat componenta aminic , i anume hidrogenocarbonatul de aminoguanidin (AmgH, pentru C1), clorhidratul de hidroxilamin (HAH, pentru C2), respectiv tiosemicarbazida (TSC, pentru C3). Amestecurile de reac ie au fost refluxate (C1 i C4) sau agitate la temperatura ambiental (C2). Dup distilare la presiune sc zut , deriva ii au fost purifica i prin recristalizare din etanol (C1 i C4) sau dizolva i în cloroform i sp la i cu ap distilat (C2).

Produsul de func ionalizare C3 a fost ob inut la rece (0 °C) în atmosfer de gaz inert, dup tratarea unui amestec de n-butilamin (nBuA) cu $TiCl_4$ (în raport molar nBuA: $TiCl_4$ 5.3:1) în toluen anhidru, cu BetO (raport molar $TiCl_4$:BetO 1:0.75). Amestecul de reac ie s-a înc lzit la reflux (7 h), apoi a fost r cit la temperatur ambiental i distilat la sec la presiune sc zut . Produsul de func ionalizare brut a fost suspendat în acetat de etil, sp lat cu HCl 15% i cu ap distilat , uscat pe Na_2SO_4 anhidru, apoi recristalizat din etanol. Identitatea i puritatea compu ilor a fost confirmat prin analiz elemental (C, H i N), folosind un aparat Vario El Cube. Puritatea compu ilor a fost evaluat prin CSS folosind pl ci cromatografice Merck 60F₂₅₄, iar ca agen i de eluare amestecuri de hexan:acetat de etil 6:4 (v:v), respectiv hexan:acetat de etil 1:1 (v:v). Vizualizarea spoturilor s-a realizat prin expunerea la un amestec H_2SO_4 5%, wolfram de amoniu 5% i sulfat ceric 0.2% cu/f r iradiere în UV ($\lambda = 254$ nm).

Spectrele FTIR (Figura 23) au fost determinate pe un aparat Jasco 670+ dup dispersie în KBr pe domeniul spectral 4000-400 cm^{-1} .



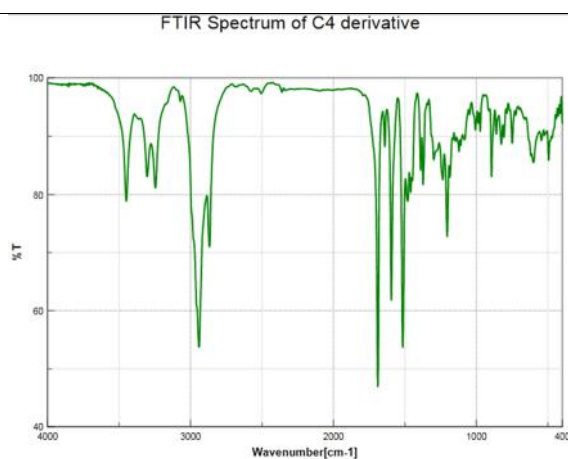


Figura 23. Spectrele FTIR înregistrate pentru: (a) precursorul BetO; (b) compusul C1; (c) compusul C2; (d) compusul C3; (e) compusul C4 [85].

Spectrele FTIR ale compușilor triterpenici prezintă o serie de asemănări, datorate faptului că posedă în moleculă restul triterpenic (Figura 23). Pentru toți compușii vibrația asimetrică a grupei carboxilice $\nu_{as}(\text{COO})$ apare ca bandă intensă în domeniul spectral $1712\text{--}1690\text{ cm}^{-1}$. Banda asociată vibrației de valență simetrică $\nu_s(\text{COO})$ este observată în domeniul $1460\text{--}1385\text{ cm}^{-1}$. Pentru compușii C1 și C2, banda caracteristică pentru vibrația simetrică a grupei carboxil este despicată, prezentând două maxime. Benzile caracteristice restului triterpenic se regăsesc în benzile atribuite vibrației de întindere a grupării C=N la 1642 cm^{-1} pentru derivații C1-C3, respectiv la 1640 cm^{-1} pentru derivatul C4, fiind în concordanță cu datele menționate în literatură, și anume domeniul spectral $1610\text{--}1665\text{ cm}^{-1}$ [196]. Pentru compusul C2, gruparea C=N-OH este reprezentată de următoarele benzi: $\nu = 3300\text{ cm}^{-1}$ pentru întinderea legăturii O-H; 1642 cm^{-1} pentru întinderea legăturii C=N și 945 cm^{-1} pentru întinderea legăturii N-O. Pentru compusul C1, gruparea amino este evidențiată de benzile ce apar în domeniul $3400\text{--}3300\text{ cm}^{-1}$, întinderea legăturii N=C-N apare la 1374 cm^{-1} , iar banda ascuțită din intervalul $1160\text{--}1110\text{ cm}^{-1}$ corespunde la vibrația de valență N-N din restul hidrazinic al grupării aminoguanidinice [197]. Apariția acestor benzi suplimentare în spectre confirmă formarea produselor de condensare, iar rezultatele au fost corelate cu cele furnizate de analiza termică.

Stabilitatea termică a compușilor a fost investigată în atmosferă oxidativă folosind tehnicile TG/DTG/HF, curbele termoanalitice obținute fiind prezentate în Figura 24. Primul proces cu pierdere de masă care are loc la încălzire este deshidratarea, urmat apoi de procese de descompunere multistadiale.

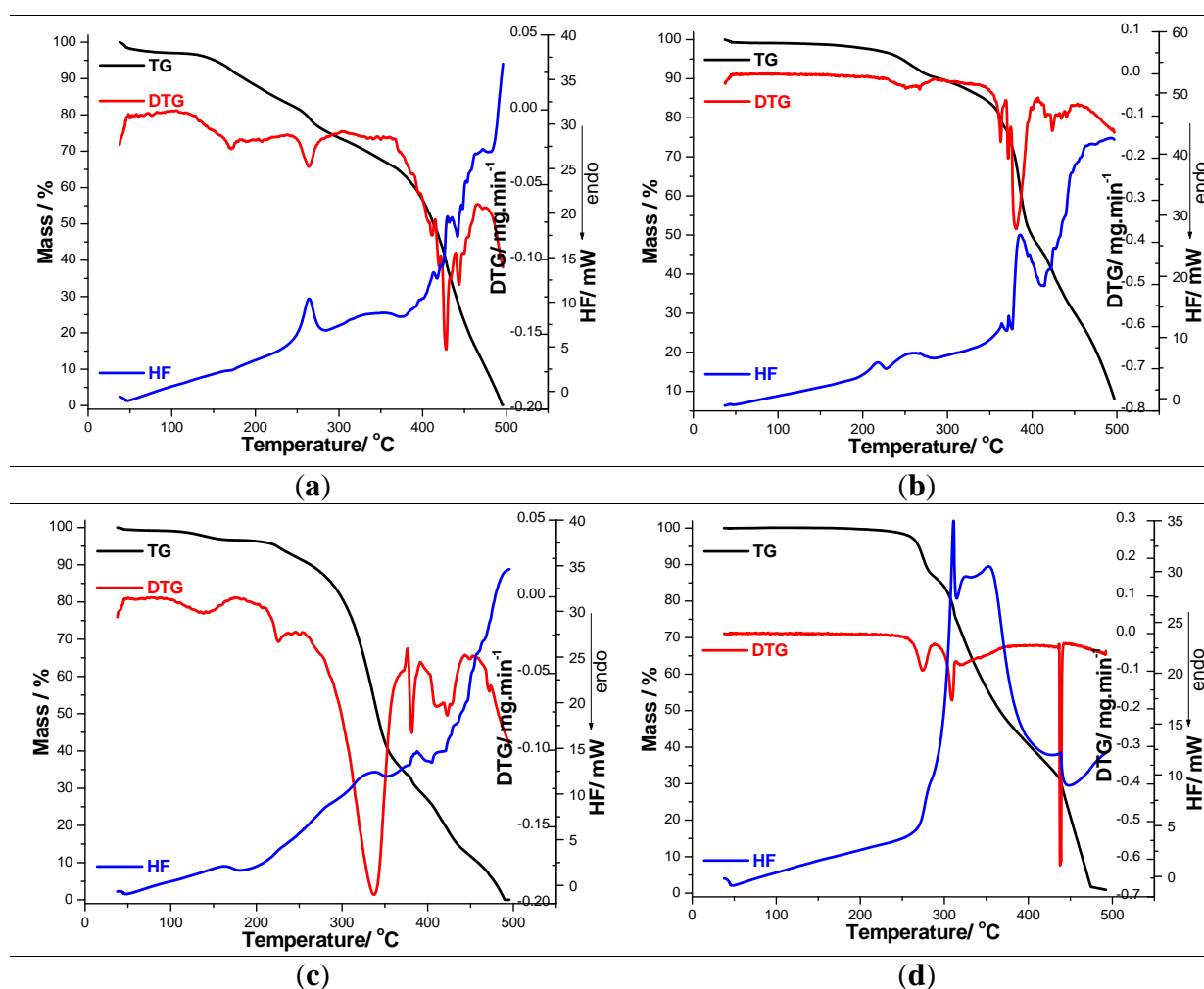


Figura 24. Curbele termoanalitice TG/DTG/HF înregistrate în atmosfer oxidativ pân la 500 °C cu $\dot{T} = 10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ pentru deriva ii: (a) C1; (b) C2; (c) C3 i (d) C4 (adaptare dup [85]).

În cazul compusului C1, eliminarea apei are loc în intervalul de temperatur 57–184 °C, cu un maxim eviden iat pe curba DTG la 170 °C i o pierdere de mas $m = 9.7\%$. Topirea compusului este înso it de descompunere termic ($m = 16.8\%$; $DTG_{max} = 263 \text{ }^\circ\text{C}$ i $HF_{max} = 264 \text{ }^\circ\text{C}$), rezultatul fiind în acord cu intervalul de topire determinat experimental cu ajutorul aparatului Bötius ($T_{topire} = 274\text{--}277 \text{ }^\circ\text{C}$). Urm torul proces este reprezentat de termodegradarea intens care are loc cu o pierdere de mas considerabil ($\sim 73.3\%$), caracterizat de câteva maxime pe curba DTG, la 410, 419, 428 i 444 °C. Natura exoterm a procesului este eviden iat de aspectul curbei de flux termic (Figura 24a).

Pentru derivatul C2 (Figura 24b), pierderea de mas debuteaz la $\sim 118 \text{ }^\circ\text{C}$. i în cazul acestui compus, topirea este înso it de descompunere termic ($HF_{max} = 228 \text{ }^\circ\text{C}$, $m = 9.8 \%$). O dat cu cre terea temperaturii, procesul de descompunere devine complex, implicând mai multe etape succesive. Între 287 i 406 °C, este observat o pierdere de mas de 42.7 %, iar

între 406 și 500 °C, pierderea de masă este ~39.5 %; astfel, până la 500 °C, termooxidarea acestui compus este cvasitotală ($m \sim 100\%$).

Descompunerea termică a derivatului C3 decurge în cinci etape (Figura 24c), din care prima etapă este o deshidratare, pierderea de masă având loc între 95–176 °C și corespunde unei pierderi de masă de ~3.4 %. Curba de flux termic indică un proces endoterm la 83 °C, evidențiind topirea și descompunerea. Procesul de descompunere începe peste 200 °C, după eliminarea apei. Prima pierdere de masă ulterioară topirii este de 5.5% fiind caracterizat de un maxim intens la 224 °C pe curba DTG. În intervalul de temperatură în care apare termodegradarea (203–500 °C), curba HF indică existența câtorva procese exoterme. Peste 333 °C, procesul de descompunere al compusului este puternic exoterm, degradarea fiind completă la 488 °C, cu o pierdere totală de masă de ~99.95 %.

Al patrulea compus analizat (C4) prezintă cea mai bună stabilitate termică, procesul de descompunere termică începând la 245 °C. Primul proces evidențiat de curba TG are loc până la 289 °C și este însoțit de o pierdere de masă de 14 %, cu un peak pe curba DTG la 274 °C. Pierderea de masă este un proces continuu până la 500 °C, când arderea este totală. Procesele de degradare pot fi evidențiate cel mai bine cu ajutorul curbei DTG. Al doilea proces termic are loc în domeniul de temperatură 289–315 °C, cu o pierdere de masă de 11%, fiind un proces exoterm (oxidare) cu maxim la 312 °C. Ultima etapă a degradării are loc între 315 și 500 °C, putând fi explicat prin arderea aproape completă a scheletului organic, reziduul final fiind ~0.1 % (Figura 24d).

Pentru compuşii sintetizați, a fost evaluată activitatea biologică *in vitro*. Toate rezultatele au fost prezentate comparativ cu un compus cu activitate antiproliferativă consacrată și structură similară, și anume betulina. Efectul citotoxic a fost evaluat prin metoda colorimetrică MTT (bromură de [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazoliu]), pe 4 linii celulare umane (ECACC; Salisbury, UK): HeLa (adenocarcinom cervical), MCF7 (adenocarcinom mamar), A431 (carcinom epitelial scuamos) și A2780 (carcinom ovarian) [198]. Celulele au fost cultivate în mediu de cultură specific Eagle's Minimum Essential Medium (EMEM), suplimentat cu ser bovin fetal 10%, aminoacizi neesențiali 1% și amestec antibiotic/antimicotic. Creșterea celulelor a fost realizată în atmosferă cu umiditate controlată, în prezență de 5% CO₂ la 37 °C. Celulele canceroase (5000 celule/godeu) au fost cultivate în plăci de 96 de godeuri și au fost luate și aderate peste noapte. A doua zi, celulele au fost stimulate cu concentrații diferite ale substanțelor de analizat. După 72h de incubare, s-a determinat viabilitatea celulară prin adugarea a 20 μL soluție MTT de concentrație 5 mg/mL. MTT a fost redus de către reductaza mitocondrială și precipitat sub forma cristalelor de formazan, după un contact de 4h.

Cristalele de formazan au fost dizolvate în 100 µL soluție tampon sub agitare timp de 60 de minute, iar soluțiile rezultate au fost analizate spectrofotometric la 545 nm folosind un cititor de microplaci. Rezultatele obținute pentru substanțele testate au fost raportate la celulele nestimulate folosite ca control. Toate experimentele *in vitro* au fost realizate pe două plăci independente, cu cel puțin 5 godeuri paralele pentru fiecare substanță testată. Toate experimentele au fost realizate în condiții identice, folosind soluții stoc ale compușilor de testat de concentrație 10 mM în dimetilsulfoxid (DMSO). Cea mai mare concentrație în DMSO (0.3%) s-a dovedit a nu avea efecte semnificative asupra viabilității celulare. Testările au fost realizate la două concentrații de lucru, printr-un protocol anterior publicat [199].

Analiza statistică a rezultatelor a fost realizată folosind testul Student *t* sau One-way Anova pentru a determina diferențele statistice dintre datele experimentale și grupul de control.

Toți cei patru compuși s-au obținut prin funcționalizarea acidului betulonic, compus cu activitate împotriva unor linii celulare tumorale, precum MGC-803 (cancer gastric), PC3 (cancer de prostată) și MCF7 (adenocarcinom mamar) [200]. De asemenea, în studii anterioare, grupul nostru de cercetare a studiat și determinat un efect antiproliferativ important al betulinei și acidului betulinic pe trei linii celulare – A431, MCF7 și HeLa [201]. Rezultatele studiilor au arătat că betulina (Bet) prezintă specificitate împotriva carcinomului cervical (HeLa) și epitelial scuamos (A431), dar și o activitate semnificativă împotriva carcinomului mamar (MCF7), și ca urmare poate fi utilizat ca control în studiul actual.

Derivatul C1 prezintă o activitate citotoxică mai slabă în comparație cu betulina, pe toate cele patru linii celulare, independent de concentrația utilizată (Figura 25a). Pe linia celulară A431, activitatea citotoxică este absentă la concentrația scăzută, dar și la concentrația mai mare aceasta este nesemnificativă. Pe liniile celulare HeLa și MCF7, viabilitatea celulară a fost redusă semnificativ într-o manieră independentă de concentrație, sugerând astfel o limitare a efectului anticancer al compusului C1, datorat probabil solubilității în apă. O dependență doz-activitate a fost observată pentru linia celulară A2780, totuși rezultatele arată o activitate inhibitoare mai scăzută decât cea a betulinei.

Compusul C2 posedă o activitate citotoxică importantă pe linia celulară A2780, comparabilă cu cea a betulinei la concentrația scăzută și chiar mai mare decât a acesteia la concentrația mai mare. Compusul determină, de asemenea, o inhibiție semnificativă și pe liniile celulare HeLa și MCF7 (Figura 25b). Pe linia celulară A431, activitatea citotoxică este practic nesemnificativă la concentrația scăzută, respectiv o activitate inhibitorie puternică la concentrația crescută. Astfel, compusul C2 prezintă un efect antitumoral/citotoxic puternic pe anumite linii celulare, dependent de concentrație.

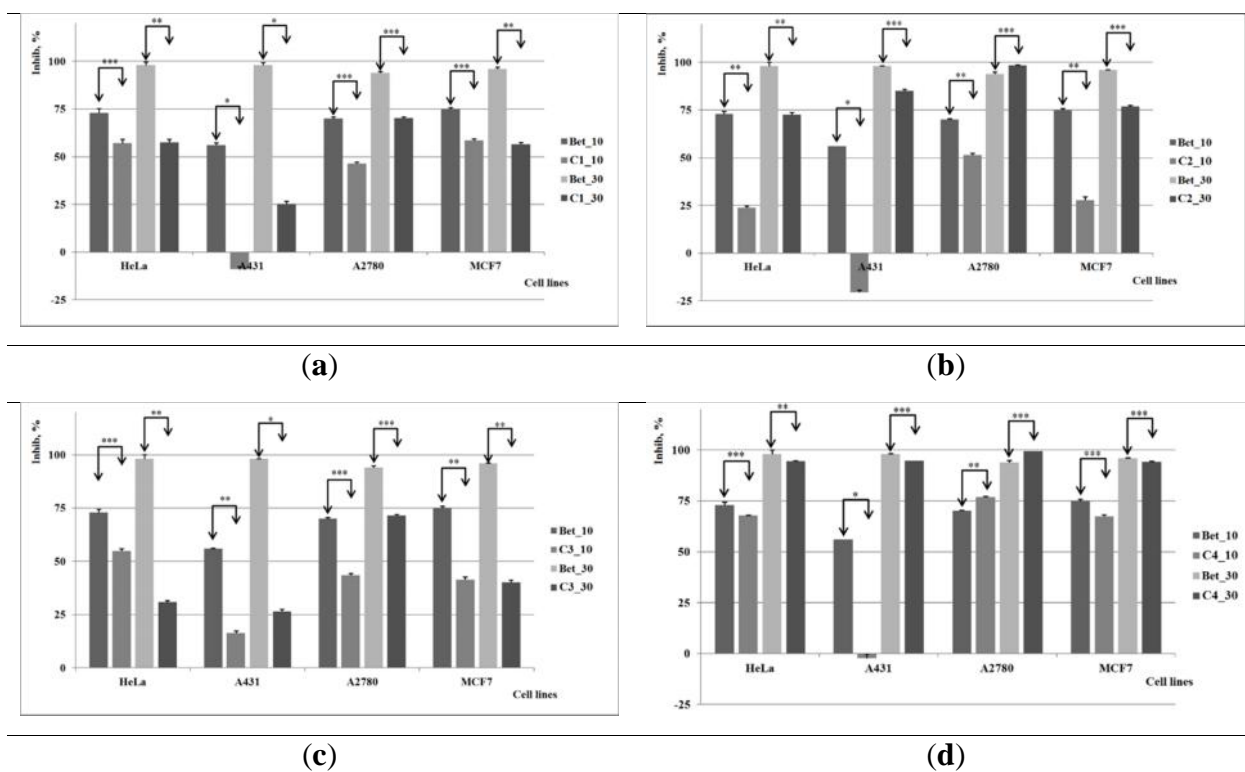


Figura 25. Rezultatele activit ii biologice pentru compu ii sintetiza i vs. control (Bet): (a) C1; (b) C2; (c) C3 i (d) C4; *, **, *** indic $p < 0.05$, $p < 0.01$ i $p < 0.001$ [85].

Derivatul **C3** a ar tat o activitate inhibitorie cuantificabil pe toate liniile celulare, îns mai slab decât betulina la ambele concentra ii luate în lucru. A a cum se poate observa în Figura 25c, efectul citotoxic este manifestat într-o manier dependent de doz . La concentra ii mici, derivatul C3 este cel mai activ pe linia HeLa, pe când la concentra ii mari este mai activ pe linia A2780. Pentru linia MCF7, activitatea biologic este similar pentru ambele concentra ii i comparabil cu cea observat pentru linia A2780.

Compusul **C4** posed efecte citotoxice semnificative pe toate liniile celulare investigate; la concentra ii sc zute, activitatea este comparabil cu cea a betulinei pe liniile HeLa i MCF7, pe când pe linia A431 compusul este inactiv. Linia A2780 pare a fi cea mai sensibil la acest derivat, procentul de inhibi ie ajungând la 100% la concentra ie crescut , pe când la concentra ie mai sc zut , activitatea este mai mare decât cea a betulinei.

Concluzii par iale

- Studiul a vizat ob inerea i caracterizarea unor produ i de semisintez deriva i din acidul betulonic, care la rândul s u este ob inut din oxidarea selectiv a betulinei, un compus triterpenic natural cu r spândire larg în regnul vegetal;

- Funcționalizarea acidului betulonic s-a realizat la gruparea oxo din poziția 3, prin condensarea acestuia cu aminoderivați, precum aminoguanidina, hidroxilamina, n-butilamina și tiosemicarbazida, utilizați în raport molar de la 1:1 la 1:2;
- Toți compușii au fost sintetizați, purificați și caracterizați prin CSS, analiză elementală, spectroscopie FTIR și analiză termică, iar ulterior a fost evaluată activitatea citotoxică pe patru linii celulare;
- Rezultatele activității biologice au sugerat că funcționalizarea precursorului conduce la compuși cu potențial citotoxic, cele mai bune rezultate fiind sugerate de derivatul C4, și anume acidul 3–2-carbamotioilhidrazonolup-20(29)-en-28-oic;
- Ca factor important în evaluarea activității biologice, se va avea în vedere solubilitatea în mediu apos a compușilor investigați, aceasta putând fi considerat motivul pentru care s-au observat variații în limitele largi ale activității biologice *in vitro*.

I.3.2. Importan a studiilor de stabilitate termic în stare solid a unor substan e de interes farmaceutic sau cu poten ial activitate biologic folosind metode cinetice clasice i izoconversionale, respectiv stabilirea mecanismului de descompunere a acestora

Analiza termic ofer o serie de informa ii valoroase legate de influen a pe care tratamentul termic o are asupra unor probe, care pot fi reprezentate de substan e pure sau amestecuri complexe. Informa iile ob inute permit utilizarea acestei tehnici instrumentale ca modalitate de investiga ie în numeroase domenii tiin ifice i tehnice [202]. A a cum s-a discutat deja în capitolul I.3.1, analiza termic furnizeaz informa ii legate de stabilitatea probei la înc lzure, dar folosit ca unic tehnic investiga ional , ofer doar informa ii sumare legate de mecanismul de descompunere termic .

Stabilitatea termic a unui compus poate fi privit din dou puncte de vedere diferite: investigarea comport rii termice „simple”, realizat prin înregistrarea curbelor termoanalitice i evaluarea intervalelor de temperatur în care substan a este stabil din punct de vedere termic, sau prin evaluarea complex ce presupune utilizarea instrumentelor unei analize cinetice. Analiza cinetic are un rol foarte important în înțelegerea proprietăților fizico-chimice i a profilului termodinamic al compu ilor chimici supu i unui stres termic.

Viteza unei reac ii chimice este considerat a fi o func ie dependent de dou variabile: temperatura T i gradul de conversie , definit ca fiind raportul dintre cantitatea de substan transformat la momentul t i diferen a dintre masa ini ial i masa final a sistemului în momentul în care reac ia se consider încheiat . Gradul de conversie () variaz în intervalul $[0;1]$.

În decursul anilor, au fost dezvoltate numeroase metode cinetice, dar, dintre acestea, doar acele metode care utilizeaz date termoanalitice ob inute la mai multe viteze de înc lzure sunt recomandate de c tre protocolul *ICTAC 2000* a fi utilizate în studiile cinetice.

Metode cinetice precum metoda Achar-Chang, Freeman-Carroll, van Krevelen, Coats-Redfern etc. sunt metode cinetice ce utilizeaz o singur curb termoanalitic i care au ca ipotez o rela ie prestabilit a modelului de reac ie. Func ia de conversie este aleas dintr-un grup prestabilit de expresii, realitatea experimental demonstrând faptul c utilizarea diferitelor func ii de conversie pot conduce la ob inerea unor drepte a c ror coeficient de corelare este apropiat de unitate. Altfel spus, utilizarea unei singure curbe $= (T)$ ob inut dintr-o singura curb termoanalitic este descris foarte bine de mai multe modele de reac ie diferite, pentru fiecare caz fiind ob inute valori diferite ale parametrilor cinetici.

Majoritatea metodelor cinetice pornesc de la premisa c dependen a Arrhenius a constantei de vitez $k(T)$ vs. temperatur (T), conform rela iei (1) este adev rat :

$$k(T)=A \cdot \exp\left(\frac{-E_a}{R \cdot T}\right) \quad (1)$$

Cea mai des utilizat expresie ce implic cele dou func ii folosind rela ia Arrhenius este:

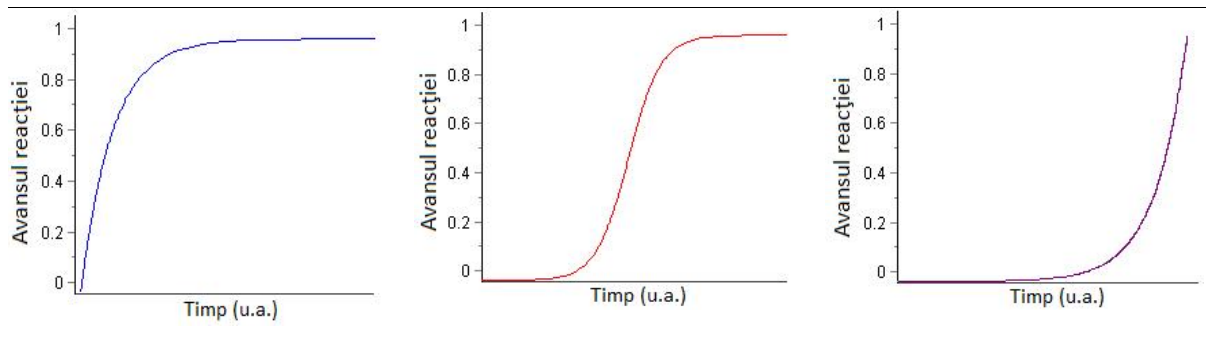
$$\frac{dr}{dt} = k(T) \cdot f(r) = A \cdot \left(\frac{-E_a}{R \cdot T}\right) \cdot f(r) \quad (2)$$

Expresia (2) prezint viteza de reac ie $\frac{dr}{dt}$ ca fiind compus din trei parametri cinetici: factorul pre-exponen ial A , energia de activare E_a i func ia model de reac ie $f(\cdot)$. Ace ti trei parametri sunt întâl ni i în literatura de specialitate sub denumirea de „tripler cinetic ”.

Scopul studiilor cinetice este reprezentat de determinarea acestei triplete cinetice, în urma aplicării unor metode cinetice, stabilind astfel o rela ie matematic între viteza de reac ie, gradul de conversie i temperatur în cazul în care experimentul s-a desf urat în condi ii neizoterme, respectiv timp dac au fost realizate experimente în condi ii izoterme.

Ca i în cazul reac iilor care au loc în condi ii izoterme, i pentru cinetica în condi ii neizoterme, viteza reac iei poate fi exprimat ca fiind varia ia gradului de conversie în func ie de timp. Conform practicii experimentale, regimul neizoterm se define te ca fiind o aplicare a unei viteze de înc lzire constant , adic o înc lzire a probei cu un num r constant de grade în unitatea de timp.

Pentru modelul de reac ie $f(\cdot)$ exist un num r semnificativ de expresii ce pot fi utilizate în încerc ri, toate acestea putând fi împ rite în trei categorii în func ie de tipul dependen a vitezei de reac ie în timp i anume: accelerare, decelerare, respectiv autocataliz (Figura 26). Încadrarea într-una din cele trei situa ii se poate realiza prin analiza graficului avansului reac iei func ie de timp.



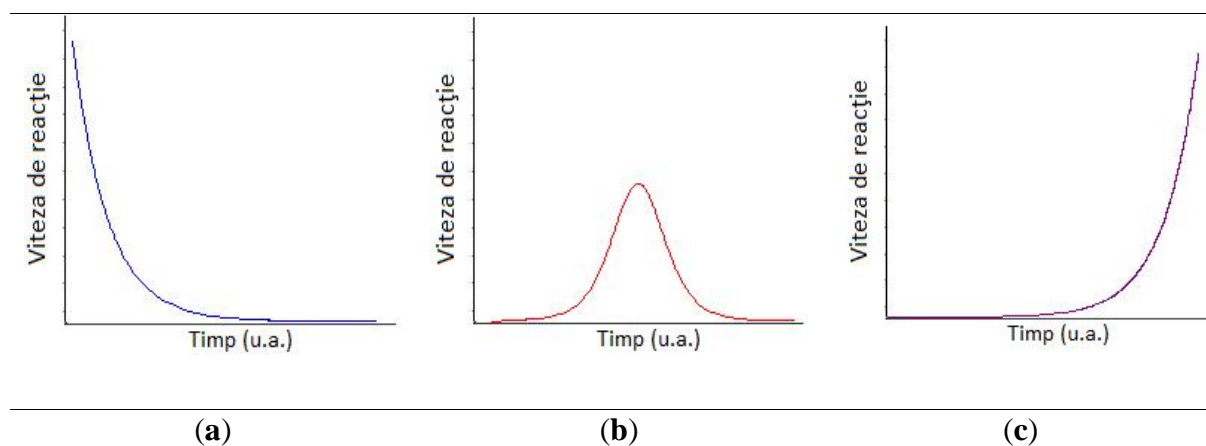


Figura 26. Reprezentarea grafic a avansului reac iei, respectiv a vitezei de reac ie func ie de timp pentru cazul în care modelul de reac ie este de tipul a) decelerare; b) autocatalitic; c) accelerare

a) Modelele ce fac parte din categoria „decelerare” sunt aplicabile la acele procese pentru care maximumul se atinge înc de la începutul reac iei (timpul t_0), dup care are loc o descre tere continu pe m sur ce gradul de conversie cre te. Pentru această categorie de modele de reac ie, expresia cea mai comun o reprezint modelul ordinului de reac ie Avrami-Erofeev ce are urm toarea ecua ie:

$$f(r) = (1-r)^n \quad (3)$$

b) Modelele de reac ie „autocatalitice” prezint urm toarea proprietate: sunt de tip accelerare la început când este aproximativ egal cu 0 și de tip decelerare la sfâr it când tinde spre 1, astfel încât viteza de reac ie prezint maximumul la valori intermediare ale gradului de conversie. Modelul de reac ie de tip autocatalitic cel mai întâlnit în literatur este modelul Prout-Tompkins care este un model de reac ie de tip sigmoidal, descris de urm toarea ecua ie:

$$f(r) = (1-r)^n \cdot r^m \quad (4)$$

c) Modelele de reac ie de tip „accelerare” caracterizeaz acele procese în care viteza de reac ie cre te continuu cu cre terea gradului de conversie , maximumul vitezei fiind întâlnit la sfâr itul procesului. Expresia acestor modele este redat cel mai frecvent prin modelul „legea puterii”:

$$f(r) = n \cdot r^{(1-\frac{1}{n})} \quad (5)$$

Conform protocoalelor *ICTAC*, se recomand a fi utilizate doar acele modele care con in toate cele trei tipuri de dependen e ale gradului de conversie. O expresie utilizat ca model de reac ie a fost propus empiric de c tre Šesták și Berggren și are urm toarea form :

$$f(r) = (1-r)^n \cdot r^m \cdot [-\ln(1-r)]^p \quad (6)$$

unde n , m și p sunt exponenții ai celor trei valori caracterizează contribuția fiecărui tip de model la viteza de reacție globală. Expresia Šesták-Berggren utilizată în cadrul grupului de cercetare în care activez este o formă trunchiată în care $p=0$, fiind echivalentă cu modelul sigmoidal Prout-Tompkins.

Tot ca o recomandare a comitetului ICTAC, grupul nostru de cercetare aplică metode cinetice de tip izoconversional, metode ce utilizează mai multe curbe înregistrate la mai multe viteze de încălzire. Metodele izoconversionale nu au nevoie de o formă explicită a modelului de reacție $f(r)$, calculând energia de activare pentru fiecare valoare constantă a gradului de conversie dorit. Înțelegând de acest aspect, nu se presupune că există o constantă a energiei de activare, respectiv a factorului pre-exponențial A pe tot parcursul procesului considerat.

Metodele izoconversionale se împart în două categorii în funcție de forma acestora:

- metode izoconversionale diferențiale care folosesc direct expresia vitezei de reacție;
- metode izoconversionale integrale care folosesc o formă integrată a expresiei vitezei de reacție, dar și o aproximație pentru integrala de temperatură.

Metoda izoconversional diferențială utilizată cel mai frecvent, inclusiv de grupul de cercetare în care activez, este metoda izoconversional Friedman a cărei principiu constă în faptul că viteza de reacție la o valoare constantă a gradului de conversie este doar o funcție de temperatură. Astfel, derivând expresia în logaritmi neperieni a ecuației (2) pentru $r = \text{constant}$, se obține:

$$\left[\frac{d \ln \left(\frac{dr}{dt} \right)}{d \frac{1}{T}} \right]_r = \left[\frac{d \ln k(T)}{d \frac{1}{T}} \right]_r + \left[\frac{d \ln f(r)}{d \frac{1}{T}} \right]_r \quad (7)$$

Înțelegând de faptul că $f(r)$ este o constantă, cel de-al doilea termen din membrul drept este nul, iar relația devine:

$$\left[\frac{d \ln \left(\frac{dr}{dt} \right)}{d \frac{1}{T}} \right]_r = -\frac{E(r)}{R} \quad (8)$$

Analizând această relație, se poate afirma faptul că se poate determina $E(r)$ fără a face nici un fel de supoziție suplimentară și fără a fi necesară determinarea formei modelului de reacție $f(r)$. Acesta este motivul pentru care metodele izoconversionale diferențiale sunt considerate și numite metode „model-free”. Metoda izoconversional diferențială Friedman

are o expresie în care termenul $\ln\left(\frac{d\alpha}{dT}\right)$ este direct proporțional cu inversul temperaturii pentru orice valoare constantă a gradului de conversie:

$$\ln\left(S \frac{d\alpha}{dT}\right) = \ln[A \cdot f(\alpha)] - \frac{E_a}{R \cdot T} \quad (9)$$

Astfel, pentru orice constant, există o dependență liniară $\ln\left(S \frac{d\alpha}{dT}\right)$ vs. $(1/T)$, dreapta obținută având panta $m = -\frac{E_a}{R}$, iar ordonata la origine $i = \ln[A \cdot f(\alpha)]$.

Metodele izoconversionale integrale cele mai utilizate sunt metodele Flynn-Wall-Ozawa (FWO), Kissinger-Akahira-Sunose (KAS) și Li-Tang (LT). S-a demonstrat [203] faptul că utilizarea unei metode izoconversionale integrale poate introduce erori de tip sistematic în determinarea valorilor energiei de activare pentru constant. Aceste erori depind de mărimea intervalului peste care este realizată integrarea, putând fi evitate dacă se utilizează un interval infinitesimal.

Expresia care stă la baza metodelor izoconversionale integrale este:

$$g(\alpha) = \int_0^\alpha \frac{d\alpha}{f(\alpha)} = \frac{A(\alpha)}{S} \int_0^T \exp\left(-\frac{E(\alpha)}{RT}\right) dT = \frac{A \cdot E}{S \cdot R} \cdot p(x) \quad (10)$$

unde $g(\alpha)$ este funcția de conversie integrală.

Metoda izoconversional integral Flynn-Wall-Ozawa (FWO) este o metodă des utilizată în articolele conținând studii de cinetică neizotermă a căror autor sunt. Această metodă are o expresie matematică ce se obține din relația generală a metodelor izoconversionale integrale, cu specificitatea utilizării aproximației Doyle [204–206] pentru expresia funcției $p(x)$:

$$\ln p(x) = -5.331 - 1.052 \cdot \frac{E_a}{R \cdot T} \quad (11)$$

Ecuatia ce stă la baza acestei metode are următoarea formă:

$$\ln S = \ln \frac{AE}{R \cdot g(\alpha)} - 5.331 - \frac{1.052 \cdot E_a}{R \cdot T} \quad (12)$$

Energia de activare se poate calcula în urma reprezentărilor grafice \ln vs. $(1/T)$. Pentru constant, se obțin drepte a căror pantă permite calculul valorii energiei de activare ($m = -\frac{E_a}{R}$).

Metoda izoconversional integral Kissinger-Akahira-Sunose (KAS) este o altă metodă indicată a fi utilizată în studiile cinetice de către comitetul ICTAC. Această metodă

utilizează pentru expresia funcției $p(x)$, o altă aproximație, și anume Murray-White [207–209]:

$$p(x) \cong \frac{\exp(-x)}{x^2} \quad (13)$$

Expresia matematică ce reprezintă ecuația acestei metode se obține din relația (10):

$$\ln \frac{S}{T^2} = \ln \frac{A \cdot R}{E_a \cdot g(r)} - \frac{E_a}{R \cdot T} \quad (14)$$

În această metodă permite evaluarea energiei de activare pentru valori constante ale gradului de conversie, din panta dreptelor obținute în urma reprezentării grafice $\ln(S/T^2)$ vs. $(1/T)$.

Deoarece metodele izoconversionale pot conduce la informații cinetice despre procesul evaluat, fără a cunoaște funcția de conversie explicită, ele sunt considerate metode „*model-free*” și sunt preferate în locul metodelor cinetice ce utilizează un anumit model de reacție prestabilit. În prezent, metodele „*model-free*” sunt considerate unele dintre metodele cele mai fiabile în evaluarea valorilor energiei de activare. Un alt avantaj al metodelor „*model-free*” rezidă din faptul că ele permit estimarea energiei de activare cu avansul reacției (reprezentat de x) și poate conduce la informații referitoare la dependența mecanismului de descompunere funcție de viteza de încălzire.

Limitările metodelor izoconversionale constau în imposibilitatea lor de a „dezvălui” direct doi parametri ai tripletei cinetice (ordinul de reacție n și factorul pre-exponențial A) fără a presupune o anumită expresie pentru funcția de conversie. Conform acestui fapt, o nouă metodă cinetică a fost dezvoltată de Serra, Nomen și Sempere [210] și ulterior modificată de Vlase, Vlase și Doca [211, 212], **metoda cinetic non-parametric (NPK)**. Această metodă a fost creată cu scopul de a prelucra datele obținute în regim neizoterm prin tehnica DSC. Metoda NPK a fost inclusă în *Protocolul ICTAC 2000* [213–216] fiind considerată a fi o metodă promițătoare.

Principalele avantaje ale metodelor NPK au fost deja raportate în literatura de specialitate, dar merită menționat faptul că această metodă permite o identificare și separare clară a etapelor paralele care apar în degradarea unui compus, precum și natura transformării (o tranziție fizică sau o reacție chimică). Această metodă utilizează o matrice de reacție care este descompusă, folosind algoritmul de descompunere a valorii singulare [217], utilizând modelul cinetic propus de Šesták și Berggren [218]. Ponderea fiecărei etape în ansamblul procesului este redată de valoarea varianței explicite (σ_i), astfel încât $\sum_{i=1}^n \sigma_i = 1$. Această metodă permite și o separare a dependențelor vitezei de reacție de temperatură, respectiv de gradul de conversie, fără a utiliza axiome sau aproximații suplimentare. O dată

separate, aceste dependențe pot fi simulate prin funcții adecvate. Singura axiomă prezentă în elaborarea acestei metode este o separare a vitezei de reacție în două funcții independente, una dependentă de temperatură și una dependentă de gradul de conversie, această axiomă fiind premisa generală a cineticii formale:

$$r = f(T) \cdot g(\tau) \quad (15)$$

unde $f(T)$ este funcția de temperatură, iar $g(\tau)$ este funcția de conversie.

Datele experimentale înregistrate la mai multe viteze de încălzire sunt reprezentate în coordonatele tridimensionale ($r; \tau; T$) și apoi interpolate, pentru a obține o suprafață continuă, corespunzătoare ecuației:

$$r = f(T, \tau) \quad (16)$$

și care reprezintă suprafața vitezei de reacție. Discretizarea și obținerea valorilor matricei:

$$M = \{m_{i,j}\} = r(T_i, \tau_j) \quad (17)$$

se realizează prin intersectarea suprafeței cu două familii de planuri, una paralelă cu planul $(r=0, T)$, cealaltă fiind paralelă cu planul $(r=0, \tau)$.

Aplicând algoritmul *descompunerii valorilor singulare SVD* (Singular Value Decomposition) [101], matricea M este descompusă conform ecuației:

$$M = U(\text{diag}.S)V^T \quad (18)$$

unde S este vectorul valorilor singulare.

Prima coloană a matricilor U și V , respectiv vectorii v_1 și u_1 , sunt analizați pentru a simula dependența de temperatură:

$$v_1 = f(T) \quad (19)$$

respectiv pentru a determina funcția de conversie, denumită *model cinetic*:

$$u_1 = g(\tau) \quad (20)$$

Dacă procesul de descompunere se desfășoară în mai multe etape, de exemplu un număr q de reacții simultane, atunci, ținând cont de aditivitatea vitezelor, se poate scrie relația:

$$r = \sum_{i=1}^q r_i = \sum_{i=1}^q f_i(T) \cdot g_i(\tau) \quad (21)$$

iar matricea inițială devine:

$$M = \sum_{i=1}^q M_i = \sum_{i=1}^q [U_q(\text{diag}.S_q)V_q^T] \quad (22)$$

ceea ce înseamnă că reacția este formată din q procese elementare, separarea acestor procese fiind dependentă de valorile corespunzătoare variabilei explicitate, valori care reprezintă contribuția fiecărui proces elementar la reacția analizată și care respectă relația: $\sum_{i=1}^q r_i = r$.

Astfel, algoritmul SVD permite separarea celor dou contribu ii la varia ia vitezei reac iei, contribu ia conversiei, respectiv cea a temperaturii. În procesul de simulare, se încearc mai multe expresii pentru func ia de temperatur , dar cea mai des utilizat i acceptat este o ecua ie de tip Arrhenius:

$$f(T)=A \cdot \exp\left(\frac{-E_a}{R \cdot T}\right) \quad (23)$$

Pentru a determina modelul cinetic, se porne te de la ipoteza modelului de reac ie propus de Šesták–Berggren:

$$g(r) = (1-r)^n \cdot r^m \quad (24)$$

care poate descrie simultan atât transform ri fizice prin factorul (r^m), cât procese de natur chimic prin factorul $[(1-r)^n]$.

O astfel de analiz cinetic furnizeaz cvartetul E_a , A , m , n pentru caracterizarea, simularea i predic ia comport rii termice a unui compus / material.

O dat cu implementarea i dezvoltarea metodelor cinetice care descriu transform rile eterogene, au fost analizate avantajele i limit rile pentru fiecare grup de metode, atât pentru cele „*model-fitting*” (metode cu model de reac ie prestabilit), cât i pentru cele „*model-free*” (izoconversionale) [219–222]. Potrivit *Comitetului Interna ional ICTAC* [215, 216, 223–225] utilizarea metodelor isoconversionale (integrale i diferențiale) permite evaluarea valorilor energiei aparente de activare (E_a) vs. gradul de conversie (r) i temperatur (T), dar nu permit evaluarea tripletei cinetice sugerate de ecuația Arrhenius, f r a utiliza un model de reac ie prestabilit.

Astfel, în o serie de lucr ri publicate de grupul nostru de cercetare, am investigat stabilitatea termic i evaluarea mecanismului de descompunere la o serie de substan e de interes farmaceutic, precum vitamine din clasa B [42], cefalosporine [70], lovastatin [55], simvastatin [55], pravastatin [44], albendazol [30], procain i benzocain [37], amitriptilin , desipramin i imipramin [57], levotiroxin [77], perindopril [75], iodoform [56], fosinopril [63] etc., dar i compu i endogeni, precum colesterolul i acidul colic [33–35], respectiv forma iuni litiazice de provenien uman [22]. Pe de alt parte, am studiat compu i cu poten ial biologic din clasa triazolilor, a a cum s-a men ionat în Capitolul I.3.1 [11, 12, 38, 74], respectiv deriva i de tip ciclodextrin [40] i triterpenici [50, 53].

I.3.2.1. Studiul cineticii de descompunere a unor compu i cu poten ial activitate biologic din clasa 1,2,4-triazolului i a deriva ilor triterpenici

În lucrarea „**Thermal behaviour and kinetic study of some triazoles as potential anti-inflammatory agents**” [38] a fost investigat stabilitatea termic a celor 4 compu i deriva i de acid acetic cu rest heterociclic 1,2,4-triazolic, în vederea stabilirii mecanismului de descompunere termic . Cinetica descompunerii a fost realizat în atmosfer dinamic de aer, în creuzete de aluminiu, folosind probe cu mase între 3-7 mg, la patru viteze de înc lzire, $= 7, 10, 12$ i $15 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ pân la $500 \text{ }^\circ\text{C}$.

Studiul cinetic a fost realizat folosind date TG i trei metode izoconversionale – una diferen ial (Friedman [226], FR) i dou integrale (Flynn–Wall–Ozawa [206, 227], FWO i Kissinger-Akahira-Sunose [228, 229], KAS), respectiv o a patra metod , elaborat de Sempere, Serra i Nomen [230] i dezvoltat i modificat ulterior de Vlase, Vlase i Doca, metoda cinetic non-parametric , NPK [211, 231].

Ca urmare a faptului c metodele cinetice care folosesc o singur vitez de înc lzire nu pot detecta natura complex a reac iilor care au loc în stare solid i prin urmare nu pot furniza valori pertinente ale tripletei cinetice, comitetul interna ional *ICTAC*, prin protocolul *ICTAC 2000* recomand utilizarea metodelor izoconversionale, care folosesc date termice înregistrate la mai multe viteze de înc lzire ale probei.

Valorile energiilor de activare care înso esc procesele de degradare termic ale celor patru triazoli au fost estimate pentru a doua etap de descompunere termic , i anume termooxid rile care au loc în intervalul de temperatur imediat urm tor pierderii acidului clorhidric. Valorile energiilor de activare determinate pentru fiecare grad de conversie folosind metoda diferen ial Friedman sunt prezentate în Tabelul 10, respectiv în Tabelul 11 pentru metoda Kissinger-Akahira-Sunose i Tabelul 12 pentru metoda Flynn–Wall–Ozawa [38].

Tabelul 10. Valorile E_a ob inute folosind metoda Friedman la descompunerea termic a celor patru triazoli (adaptare dup [38])

$E_a/\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$	Gradul de conversie									$\overline{E}_a/\text{kJ}\text{ mol}^{-1}$
	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9	
C₁	92.7 ± 1.0	87.7 ± 0.5	87.4 ± 0.9	86.1 ± 1.4	81.7 ± 2.0	81.0 ± 1.6	84.2 ± 2.5	87.4 ± 1.9	92.6 ± 1.8	86.7 ± 5.1
C₂	103.1 ± 2.3	98.1 ± 2.0	100.1 ± 2.9	101.8 ± 2.5	99.0 ± 1.8	109.9 ± 1.0	103.5 ± 1.5	104.1 ± 1.7	119.1 ± 1.8	104.3 ± 6.4
C₃	118.9 ± 3.3	120.1 ± 2.8	120.9 ± 3.1	126.5 ± 1.7	121.7 ± 2.9	120.3 ± 3.2	115.2 ± 4.0	108.5 ± 3.1	103.6 ± 3.7	117.3 ± 9.4
C₄	134.6 ± 3.2	139.1 ± 3.9	140.8 ± 2.0	144.7 ± 1.3	143.2 ± 1.5	140.8 ± 3.2	137.3 ± 2.9	135.3 ± 1.2	134.8 ± 2.7	138.9 ± 7.9

Tabelul 11. Valorile E_a ob inute folosind metoda KAS la descompunerea termic a celor patru triazoli (adaptare dup [38])

E_a kJ·mol ⁻¹	Gradul de conversie									$\overline{E_a}$ /kJ mol ⁻¹
	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9	
C_1	84.9 ±1.6	80.1 ±1.9	81.6 ±2.9	80.5 ±2.4	82.2 ±2.0	82.6 ±1.6	80.7 ±2.5	78.5 ±1.2	78.5 ±1.3	81.4 ±6.1
C_2	92.7 ±1.3	90.6 ±2.7	93.4 ±2.3	93.5 ±1.5	93.1 ±0.3	92.2 ±0.9	86.2 ±1.8	88.0 ±1.9	94.9 ±2.4	91.2 ±5.6
C_3	111.2 ±3.5	112.9 ±2.8	113.2 ±2.7	115.9 ±2.8	116.9 ±1.8	110.7 ±1.9	110.9 ±1.4	106.9 ±1.3	102.3 ±1.6	112.4 ±7.1
C_4	126.0 ±2.7	126.2 ±3.4	132.8 ±1.8	132.7 ±1.3	133.9 ±1.8	130.6 ±1.5	132.2 ±2.4	129.4 ±1.8	122.1 ±2.4	130.5 ±6.8

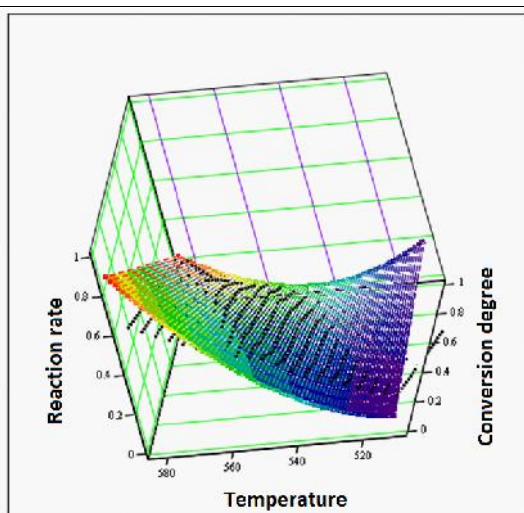
Prin analiza E_a vs. (Tabelele 10, 11) se observ o varia ie nesemnificativ a energiei de activare o dat cu avansul reac iei, ceea ce ar sugera un proces unitar într-o singur etap de reac ie. De asemenea, conform valorilor medii pentru energiile de activare determinate pentru fiecare compus, ordinea stabilit ii este: C_1 < C_2 < C_3 < C_4.

Utilizând metoda izoconversional Flynn–Wall–Ozawa, s-au ob inut corel ri liniare bune (coeficien i de corelare > 0.985) pentru toate valorile gradului de conversie, 0.1 0.9. Valorile energiilor de activare determinate din panta dreptelor sunt prezentate în Tabelul 12.

Tabelul 12. Valorile E_a ob inute folosind metoda Flynn–Wall–Ozawa la descompunerea termic a celor patru triazoli (adaptare dup [38])

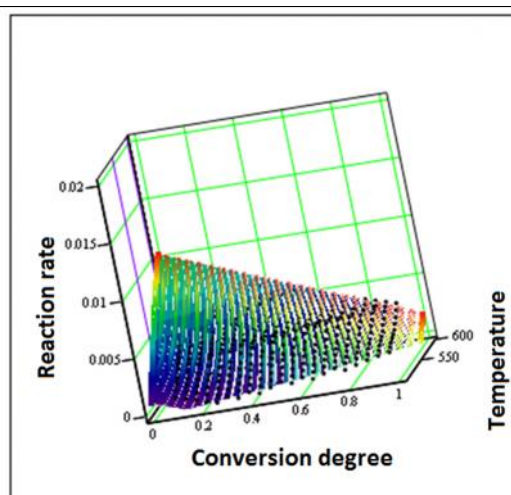
E_a / kJ·mol ⁻¹	Gradul de conversie									$\overline{E_a}$ kJ·mol ⁻¹
	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9	
C_1	88.9 ±1.6	84.5 ±1.7	86.2 ±1.5	85.2 ±1.8	86.9 ±2.0	87.3 ±2.1	85.6 ±2.3	83.6 ±1.7	83.6 ±1.5	86.0 ±5.4
C_2	96.2 ±1.7	94.3 ±2.3	97.1 ±2.0	97.4 ±1.2	97.1 ±1.3	96.4 ±0.6	90.8 ±1.3	92.7 ±1.7	99.6 ±1.4	95.3 ±4.7
C_3	114.1 ±2.3	116.0 ±1.9	116.3 ±1.6	119.1 ±2.2	120.2 ±1.6	114.3 ±1.3	114.8 ±1.9	111.2 ±1.5	107.0 ±1.2	115.7 ±5.3
C_4	128.1 ±1.3	128.5 ±2.4	134.9 ±1.4	134.9 ±1.7	136.2 ±1.9	133.2 ±1.2	134.9 ±1.8	132.4 ±1.3	125.7 ±1.8	132.9 ±5.1

Suprafe ele de reac ie 3D ob inute în urma aplic rii metodei NPK sunt prezentate în Figura 27, iar rezultatele în Tabelul 13.



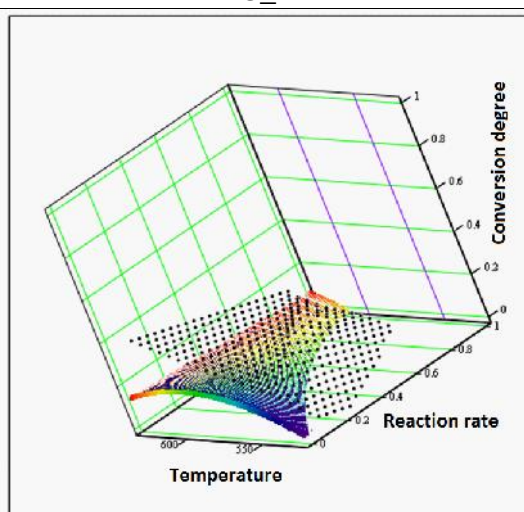
F,(X,Y,Z)

C_1



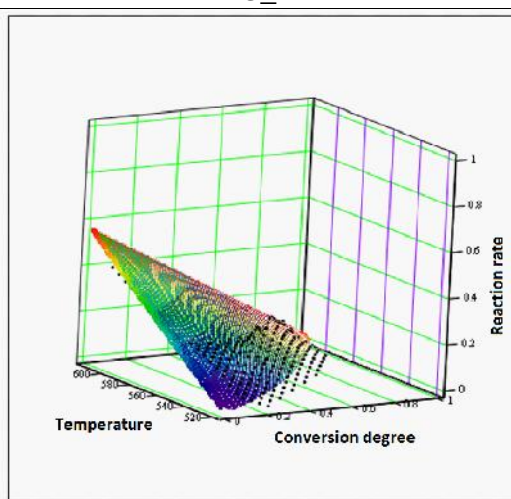
F,(X,Y,Z)

C_2



F,(X,Y,Z)

C_3



F,(X,Y,Z)

C_4

Figura 27. Suprafele de reac ie 3D ob inute prin utilizarea metodei NPK pentru triazolii analiza i [38].

În Tabelul 13 sunt prezentate rezultatele ob inute în urma aplicării metodei NPK în analiza descompunerii deriva ilor de triazol. Astfel, valorile varian elor explicitate () indic contribu ia fiec rui proces individual la procesul global de descompunere, astfel încât pentru mai multe procese paralele $\sum \epsilon_i = 100\%$. În general, se accept c pentru un proces global în care unul dintre procesele individuale prezint o valoare $\epsilon_i < 10\%$, acea etap s poat fi neglijat , deoarece nu influen eaz major procesul global de descompunere. Din acest punct de vedere, pentru cei patru deriva i exist diferen e majore în ceea ce prive te comportarea termic : doar compusul C_1 sufer un proces de degradare într-o singur etap , pe când ceilal i trei deriva i sunt degrada i prin contribu ia semnificativ a dou procese paralele individuale de descompunere.

În ceea ce prive te valorile medii ale E_a (ob inute ca \bar{E}_a), aceea i ordine a fost ob inut , i anume $C_1 < C_2 < C_3 < C_4$.

Tabelul 13. Rezultatele cineticii de descompunere, metoda NPK (adaptare dup [38]).

	Procesul individual	f/%	$E_a/\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$	A/min^{-1}	n	m	Ecua ia Šesták-Berggren	$\bar{E}_a/\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$
C_1	1	93.9	67.5±3.8	$6.5\cdot 10^5$	2/3	-	$(1-)^{2/3}$	69.2±3.1
	2	4.6	123.4±5.6	$2.15\cdot 10^{11}$	-	2/3	$^{2/3}$	
C_2	1	79.5	95.3±4.7	$1.8\cdot 10^8$	1/5	-	$(1-)^{1/5}$	98.9±4.2
	2	20.5	108.2±5.3	$4.9\cdot 10^9$	1/5	-	$(1-)^{1/5}$	
C_3	1	60.8	111.8±7.3	$2.6\cdot 10^9$	2	1	$\cdot (1-)^2$	113.1±3.5
	2	38.1	118.2±8.6	$1.8\cdot 10^{10}$	1/5	-	$(1-)^{1/5}$	
C_4	1	79.2	125.9±8.3	$5.8\cdot 10^{10}$	1/4	-	$(1-)^{1/4}$	127.7±9.1
	2	20.8	134.8±7.0	$6.3\cdot 10^{11}$	1/5	-	$(1-)^{1/5}$	

Valorile determinate pentru energiile de activare medii sunt în acord cu structurile compu ilor investiga i i conduc la urm toarele observa ii:

- Compu ii de tip ester prezint valori mai mici ale energiilor de activare, prin urmare prezint o stabilitate termic inferioar fa de compu ii ce prezint grupare carboxilic neesterificat ; o posibil explica ie pentru acest lucru ar fi faptul c esterii nu pot forma leg turi intermoleculare prin leg turi de hidrogen i, prin urmare, inducerea descompunerii termice ar fi mai facil , pe când în cazul acizilor carboxilici, formarea leg turilor de hidrogen asigur o stabilitate mai mare;
- Din valorile energiilor de activare determinate pentru compu ii C_1 i C_2, care difer doar prin existen a unei grup ri amino grefate pe azotul endociclic din pozi ia 4 triazolic , se poate concluziona c aceasta are un efect stabilizant probabil i prin posibilitatea form rii unei s ri interne sau a unei forme solide stabilizate prin mai multe leg turi de hidrogen;
- Prin compararea structurilor compu ilor C_4 i C_3 i a valorilor energiilor de activare determinate, se poate observa c existen a lan ului hidrocarbonat intercalat între restul triazolic i fenil determin o cre tere a stabilit ii termice a compusului.

Dintre toate metodele utilizate, doar metoda NPK permite determinarea modelului cinetic al descompunerii, estimarea tripletei cinetice, precum i separarea proceselor individuale ce contribuie la procesul global de descompunere. Astfel, descompunerea termic a compu ilor C_2, C_3 i C_4 urmeaz un proces complex cu dou etape paralele (un prim proces de natur chimic , respectiv un al doilea proces de natur fizic i/sau chimic), pe

când pentru derivatul C_1, pierderea de masă are loc într-o singură etapă de natură chimică, cu un ordin de reacție $n=2/3$.

Concluzii parțiale

- A fost posibilă estimarea parametrilor cinetici ai descompunerii pentru cei patru triazoli funcționalizați și sintetizați anterior în cadrul grupului de cercetare; astfel, prin metodele izoconversionale clasice diferențiale (FR) și integrale (KAS și FWO) au fost determinate energiile de activare, care au sugerat procese de descompunere într-o singură etapă, care însă au fost confirmate prin metoda NPK doar pentru derivatul C_1;
- Pentru derivații C_2, C_3 și C_4, din variația E_a vs. $\ln(1-x)$ estimat prin metodele izoconversionale, nu a fost suspectată modificarea mecanismului de reacție odată cu avansul acesteia, însă metoda NPK a permis o separare a funcției de temperatură, respectiv de conversie în expresia vitezei de reacție; într-adevăr, alături de factorul preexponențial A și valoarea E_a , au fost obținute și valorile m și n , fără ipoteze suplimentare;
- S-a realizat o corelare între structurile compușilor și stabilitatea lor termică, confirmându-se că esterii au o stabilitate termică mai mică comparativ cu acizii corespunzători, datorat imposibilității formării legăturilor de hidrogen, prin lipsa grupurilor carboxil.

Un studiu similar a fost realizat în lucrarea „**Synthesis and Degradation of Schiff Bases Containing Heterocyclic Pharmacophore**” [74], unde pentru compușii sintetizați și caracterizați prin tehnici instrumentale s-a investigat cinetica degradării în mediu eterogen, în atmosferă dinamic oxidativă, folosind datele DTG obținute la vitezele de încălzire $= 5, 7, 10, 12$ și $15 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ pentru etapa principală de descompunere. Protocolul de prelucrare al datelor a fost similar cu cel utilizat în studiul precedent, iar analiza cinetică a fost realizată folosind aceleași metode: FR, KAS, FWO și NPK.

Metoda izoconversională diferențială Friedman în formă liniarizată presupune reprezentarea grafică a funcției $\ln(-dx/dT) = f(1/T)$, care la valori constante ale gradului de conversie conduce la dependențe liniare pentru situația în care mecanismul de descompunere este independent de viteza de încălzire, respectiv de avansul reacției (cuantificat prin valoarea x). Dependențele obținute prin utilizarea metodei FR sunt prezentate în Figura 28, respectiv în Tabelul 14.

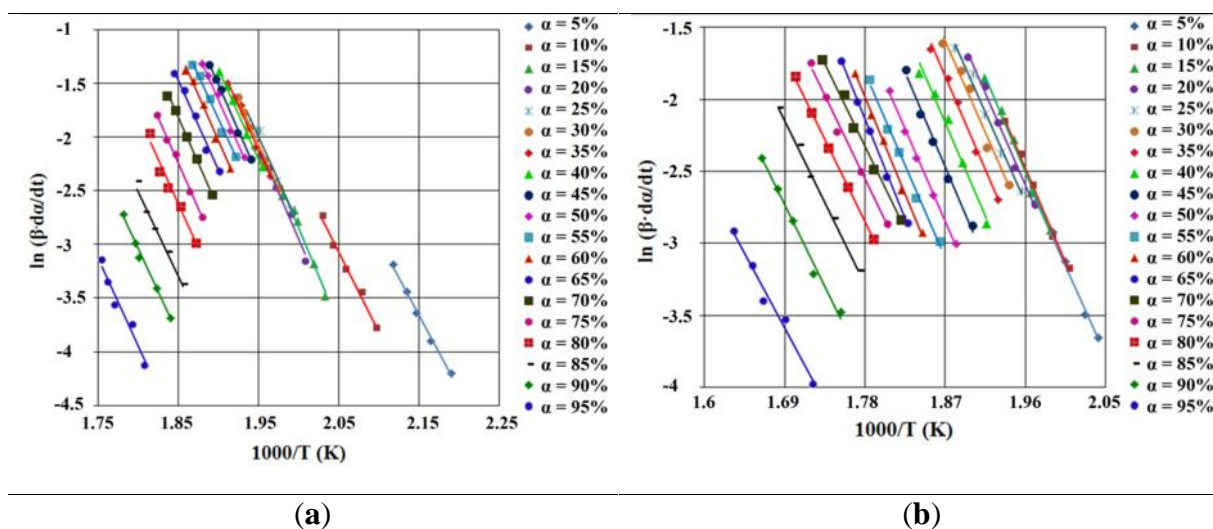


Figura 28. Metoda Friedman - dependen ele $\ln(\beta da/dt) = f(1/T)$ pentru compusul: (a) SB1, respectiv (b) SB2 [74].

A doua metodă utilizată este metoda integral diferențial KAS, în care reprezentarea $\ln \beta/T^2$ vs. $1/T$ conduce la dreptele reprezentate în Figura 29. Corelările liniare obținute sunt bune ($R^2 > 0.95$), valorile energiilor de activare putând fi obținute din panta fiecărei drepte fără a fi necesară cunoașterea explicită a expresiei matematice a funcției de conversie. Modificarea valorii energiei de activare odată cu gradul de conversie sugerează clar schimbarea mecanismului de degradare termică.

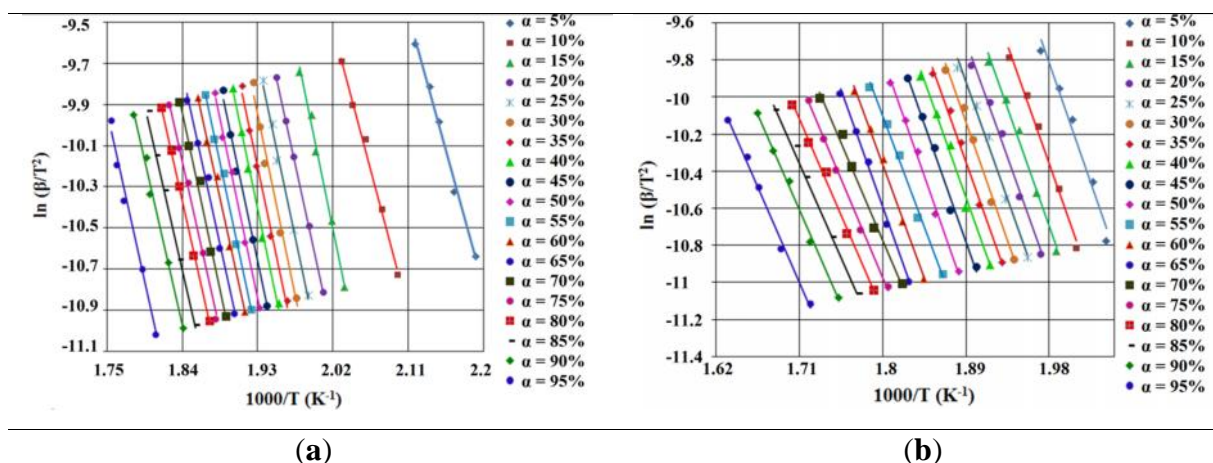


Figura 29. Metoda KAS - dependen ele $\ln \beta/T^2 = f(1/T)$ pentru compusul: (a) SB1, respectiv (b) SB2 [74].

Rezultatele obținute prin metoda Flynn-Wall-Ozawa (FWO) sunt similare cu cele obținute prin metoda KAS, astfel că reprezentarea grafică a dependenței $\ln \beta = f(1/T)$ conduce la dreptele prezentate în Figura 30, respectiv valorile $E_a = f(\alpha)$ prezentate în Tabelul 14 [74].

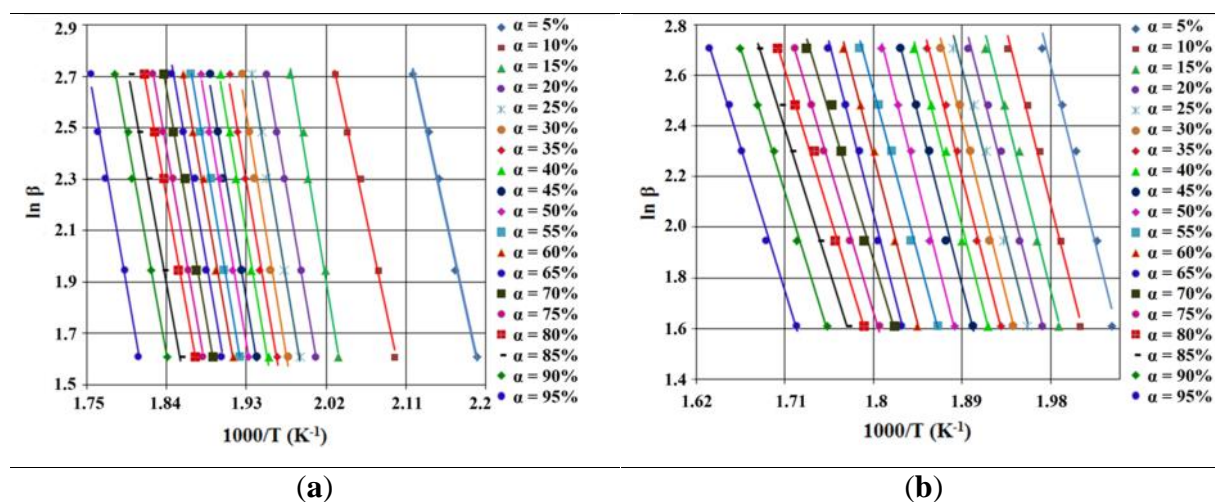


Figura 29. Metoda FWO - dependen ele $\ln \beta = f(1/T)$ pentru compusul: (a) SB1, respectiv (b) SB2 [74].

Toate valorile determinate pentru energiile de activare E_a în func ie de gradul de conversie (a c rui pas de varia ie a fost ales 0.05 în intervalul 0.05 0.95) sunt prezentate în Tabelul 14.

Tabelul 14. Rezultatele analizei cinetice pentru deriva ii SB1 i SB2 folosind metodele FR, KAS i FWO (adaptare dup [74]).

E_a (kJ/mol)	Gradul de conversie (α)																		\bar{E}_a (kJ/mol)		
	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3	0.35	0.4	0.45	0.5	0.55	0.6	0.65	0.7	0.75	0.8	0.85	0.9		0.95	
SB1	FR	116.8	122.9	149.4	144.4	135.7	136.6	137.8	139.4	142.2	140.4	136.2	141.5	141.1	140.1	140.9	136.8	131.2	134.4	138.0	137.2 ± 1.7
	KAS	122.1	126.4	162.5	155.9	159.3	165.1	160.1	160.7	160.0	160.9	158.8	154.7	154.6	156.8	152.9	151.4	149.6	147.4	152.9	153.3 ± 2.6
	FWO	123.4	127.8	162.3	156.1	159.5	165.1	160.3	160.9	160.4	161.3	159.3	155.4	155.4	157.5	153.9	152.5	150.9	148.9	154.2	153.9 ± 2.5
SB2	FR	114.7	120.8	121.8	118.6	115.3	117.1	118.9	119.5	120.2	118.2	118.1	123.3	126.9	106.7	106.9	106.5	104.2	104.3	96.0	114.6 ± 1.9
	KAS	119.8	118.3	117.3	116.5	116.8	118.7	116.3	116.8	117.6	117.2	110.1	114.3	116.2	97.6	97.9	95.4	93.7	95.4	95.2	110.1 ± 2.3
	FWO	121.7	120.5	119.6	118.9	119.3	121.1	118.9	119.5	120.3	119.9	113.3	117.4	119.3	101.7	102.1	99.73	98.19	99.91	99.92	113.2 ± 2.1

Ulterior aplic rii metodelor izoconversionale clasice, s-a utilizat metoda NPK, care permite ob inerea tripletei cinetice f r utilizarea vreunei aproxim ri, respectiv a vreunui model de reac ie. Metoda presupune utilizarea unor perechi de valori determinate experimental dintr-o suprafa de reac ie 3D, în coordonate de temperatur , grad de conversie i viteza de transformare (Figura 30), iar rezultatele ob inute sunt prezentate în Tabelul 15.

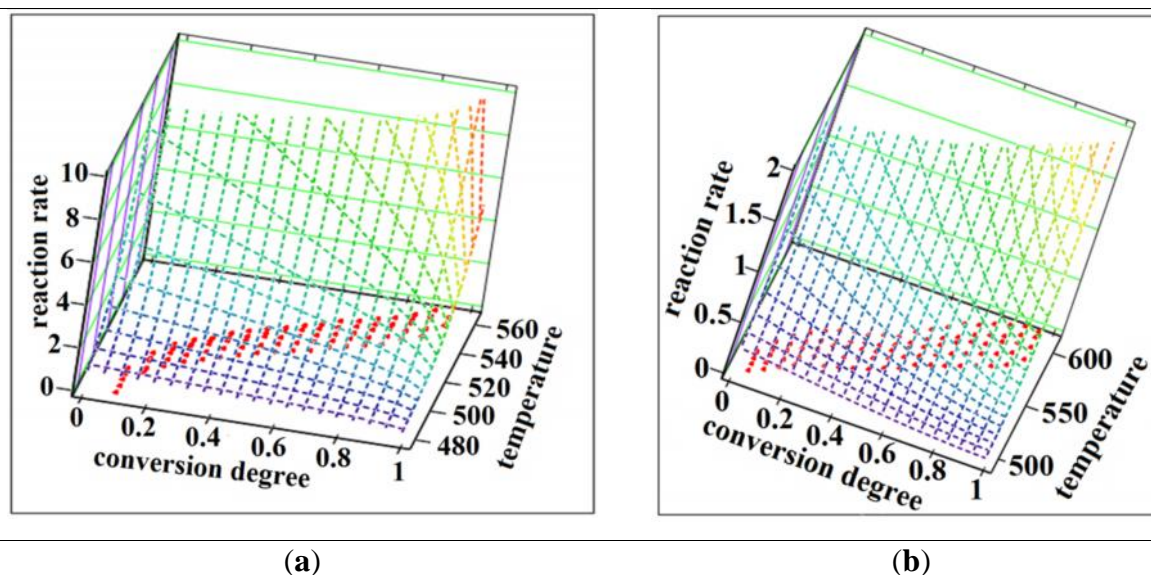


Figura 29. Metoda NPK – suprafețele de reacție 3D în coordonate $(\frac{d\alpha}{dT}; \alpha; T)$ pentru derivatul de sinteză: (a) SB1, respectiv (b) SB2 [74].

Rezultatele analizei cinetice privind descompunerea derivaților de sinteză SB1 și SB2 sunt prezentate în Tabelul 15, unde parametrii n și m sunt ordinele de reacție conform modelului cinetic sugerat de ecuația Šesták și Berggren.

Tabelul 15. Rezultatele analizei cinetice pentru derivații SB1 și SB2 prin metoda NPK (adaptare după [74])

Procesul	(%)	E_a (kJ·mol ⁻¹)	A (s ⁻¹)	n	m	Ecuația Šesták - Berggren	\bar{E}_a (kJ·mol ⁻¹)
SB1	1	66.2	124.0 ± 7.7	1/3	-	$(1 - \alpha)^{1/3}$	135.1 ± 10.7
	2	31.4	152.2 ± 2.7	1	-	$(1 - \alpha)$	
	3	2.4	214.5 ± 8.3	1	1	$(1 - \alpha) \cdot \alpha$	
SB2	1	89.9	111.4 ± 7.2	1/2	-	$(1 - \alpha)^{1/2}$	109.9 ± 8.2
	2	9.4	104.2 ± 1.1	-	1/3	$\alpha^{1/3}$	

Așa cum se poate observa din Tabelul 15, mecanismele de degradare ale celor doi derivați prezintă diferențe semnificative; astfel, derivatul SB1 este degradat termic printr-un mecanism complex ce presupune trei etape paralele, cu variații explicite diferite, ceea ce semnifică o contribuție diferită la procesul global de degradare. Primele două procese individuale sunt de natură chimică ($n=1/3$, respectiv $n=1$), fără contribuție fizică ($m=0$), pe când ultimul proces este atât de natură chimică, cât și fizică ($n=m=1$). Deși variația explicată este în acest caz extrem de mic ($\alpha=2.4\% \ll 10\%$), procesul nu este totuși neglijat, deoarece contribuția sa la valoarea medie a energiei de activare globale este considerabilă (~4% din valoarea totală a energiei de activare globale). Degradarea compusului SB2 decurge

diferit, fiind caracterizat de dou procese paralele, de natur diferit : primul proces fiind o degradare chimic ($n=1/2$) cu o contribu ie energetic de $100.2 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$, respectiv cel de-al doilea proces este o pierdere de mas datorat unui proces fizic ($m=1/3$), cu o contribu ie energetic mai mic ($9.7 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$).

În termeni privind energiile de activare globale, compusul SB1 necesit o energie de activare mai mare pentru a se indica termoliza, ceea ce ar conduce la o stabilitate mai bun . Explica ia acestei stabilit i mai bune poate fi pus în acord cu structura chimic a fiec rui derivat analizat, i anume, pentru derivatul SB1, pozi ia grup rii func ionale nitro în pozi ia *para* cu efect mezomer atr g tor de electroni (-M), care este mult mai pregnant decât prezen a grup rii hidroxil în pozitia *orto* în derivatul SB2, care este o grupare ce prezint un efect mezomer resping tor de electroni (+M).

Concluzii par iale

- A fost realizat studiul cineticii de descompunere pentru cei doi deriva i bifunc ionaliza i deriva i de 1,2,4-triazol utilizând ini ial metodele clasice isoconversionale (FR, KAS i FWO) care au sugerat c mecanismul de descompunere nu se modific o dat cu viteza de înc lzire;
- Metoda NPK a putut diferen ia procesele paralele care apar în termoliza deriva ilor bifunc ionaliza i, indicând mecanisme de descompunere diferite, în trei etape paralele pentru derivatul SB1, respectiv în dou etape paralele pentru derivatul SB2;
- Stabilitatea compu ilor a fost evaluat din perspectiva gref rii pe nucleu a dou grup ri func ionale cu efect electromer diferit: pentru derivatul SB1, pozi ia grup rii func ionale *nitro* în pozi ia *para* cu efect atr g tor de electroni (-M), care este mult mai pregnant decât prezen a grup rii hidroxil în pozi ia *orto* în derivatul SB2, care este o grupare ce prezint un efect resping tor de electroni (+M).

Cinetica degrad rii termice în mediu eterogen poate fi evaluat i în cazul combina iilor complexe, deoarece acestea se descompun f r topire. În cadrul grupului de cercetare, am ob inut i caracterizat o serie de complec i metalici [6, 8, 11, 12, 39, 49, 65, 72], dintre care pentru unii a fost investigat i cinetica descompunerii termice în mediu eterogen [6, 49].

Astfel, în lucrarea „**Kinetic of solid state degradation of transitional coordinative compounds containing functionalized 1,2,4 -triazolic ligand**” [49] am investigat cinetica descompunerii în mediu eterogen a trei combina ii complexe sintetizate i caracterizate anterior, folosind datele termoanalitice ob inute la cinci viteze de înc lzire în aer, i anume

=5, 7, 10, 12 i 15 °C·min⁻¹, prin cele patru metode men ionate anterior. Analiza termic (TG i DTG) a celor trei complex i anhidri sugereaz o stabilitate termic în ordinea: Cd(II)< Zn(II)< Ni(II), pentru procesele care încep la urm toarele temperaturi: $T = 187 < 200 < 215$ °C.

Analiza cinetic a fost realizat pe procesul de descompunere care începe la aceea i temperatur cu pierderea de mas a complex ilor anhidri, pentru o varia ie a gradului de conversie de 0.05 în intervalul 0.05 0.95. rezultatele ob inute în urma studiului cinetic fiind prezentate în Tabelele 16 i 17.

Tabelul 16. Valorile E_a vs. ob inute prin metodele izoconversionale, pentru complex ii studia i (adaptare dup [49])

Complexul și $E_a / \text{kJ mol}^{-1}$	Gradul de conversie α																	$\bar{E}_a / \text{kJ mol}^{-1}$			
	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3	0.35	0.4	0.45	0.5	0.55	0.6	0.65	0.7	0.75	0.8	0.85		0.9	0.95	
Cd(II)	FR	132.5	130.3	133.2	145.5	153.5	150.3	150.1	150.6	151.9	155.8	147.0	144.3	150.9	145.3	139.1	138.9	145.7	139.8	147.2	144.8±1.7
	KAS	127.5	130.0	136.2	136.1	136.3	141.8	139.2	133.4	143.6	141.3	144.0	144.0	153.2	154.0	151.9	150.9	155.1	134.4	120.2	140.7±2.2
	FWO	129.1	131.7	137.9	138.3	138.3	143.7	141.4	136.0	145.7	143.6	146.2	146.3	154.9	155.8	153.9	152.9	157.0	137.4	124.0	142.8±2.2
Zn(II)	FR	114.3	116.9	119.0	121.3	121.9	122.2	124.9	124.7	123.1	124.0	122.6	122.2	122.0	120.9	120.2	119.8	121.0	122.4	119.1	121.2±0.9
	KAS	117.2	117.9	119.0	119.3	119.9	120.9	121.6	121.3	121.9	123.0	123.6	123.9	123.0	122.7	121.3	121.0	119.3	118.9	117.1	120.7± 0.5
	FWO	118.3	118.5	119.9	120.1	121.1	121.7	122.9	123.1	123	124.2	124.7	124.6	124.4	124.2	122.9	122.1	120.7	120.1	118.6	121.9 ±0.6
Ni(II)	FR	85.5	93.1	104.9	108.1	107.4	100.7	107.6	104.8	105.5	103.0	106.9	104.3	106.3	101.7	106.5	106.6	106.8	110.0	120.6	104.8±1.6
	KAS	81.7	87.8	89.6	90.5	91.5	88.6	89.4	91.0	92.9	94.1	98.3	98.5	101.0	101.0	102.8	102.9	103.0	106.3	117.5	96.2± 1.9
	FWO	85.9	91.8	93.6	94.5	95.5	92.6	93.6	95.2	97.0	98.2	102.2	102.4	104.8	104.8	100.1	101.8	97.6	99.9	101.8	97.5 ±1.2

Tabelul 17. Valorile tripletei cinetice determinate pentru descompunerea complex ilor analizati prin metoda NPK (adaptare dup [49]).

Complexul	Procesul	$\lambda / \%$	E / kJ mol^{-1}	A / min^{-1}	n	m	Ecuatia Sestak-Berggren $g(\alpha) = (1-\alpha)^n \cdot \alpha^m$	$\lambda \cdot E$ / kJ mol^{-1}	k_{250} / min^{-1}	r_{250} / min^{-1}
Cd(II)	1	73	160.3±9.1	7.33·10 ¹¹	1	-	(1- α)	156.3±10.4	5.7·10 ⁻⁴	2.9·10 ⁻⁴
	2	27	145.8±6.9	6.65·10 ¹²	1	3/2	(1- α)· $\alpha^{3/2}$			
Ni(II)	1	87.8	92.8±5.3	3.09·10 ⁸	1	-	(1- α)	96.7±5.1	7.6·10 ⁰	1.2·10 ⁻¹
	2	12.2	125.0±9.2	2.81·10 ¹¹	1	2	(1- α)· α^2			
Zn(II)	1	91.6	118.4±10.2	6.13·10 ⁹	1	-	(1- α)	119.5±7.1	5.9·10 ⁻²	5.3·10 ⁻³
	2	8.1	136.1±5.1	5.55·10 ¹¹	-	1	α			

Valorile energiilor de activare ob inute prin metodele FWO i KAS sunt în bun acord, pe când cele ob inute prin metoda FR conduc la valori mai mari (în cazul complex ilor de Ni(II) i Cd(II)). Diferen ele care apar pot fi explicate prin procesarea matematic diferit a datelor în cazul metodei diferen iale FR, comparativ cu cele integrale (KAS i FWO). Totodat , varia ia mare a valorilor E_a vs. este un indiciu clar al modific rii mecanismului de reac ie, i anume existen a mai multor procese paralele.

Rezultatele ob inute prin metoda NPK sunt în concordan cu cele ob inute prin metodele izoconversionale clasice, confirmând validitatea rezultatelor ob inute. În plus,

metoda NPK conduce la estimarea tripletei cinetice f_r a necesita aproximari, respectiv la separarea procesului global de degradare observat în procese individuale. Astfel, toti cei trei complexi prezinta o degradare datorata a doua procese paralele, primul fiind în toate cazurile de natura chimic cu un ordin de reactie unitar ($n=1$), cel de-al doilea fiind atât de natura chimic pentru complexii de Cd(II) și Ni(II) ($n=1$), cât și de natura fizic ($m=3/2$ pentru complexul Cd(II), respectiv $m=2$ pentru complexul cu Ni(II)); în cazul complexului de Zn(II), primul proces este de natura chimic ($n=1$), cel de-al doilea fiind de natura fizic ($m=1$)

Concluzii parțiale

- Cei trei complexi sintetizati și caracterizați prin diverse tehnici instrumentale au fost investigați și în ceea ce privește mecanismul de descompunere termic folosind principiile cineticii eterogene;
- Datele obținute din aplicarea metodelor izoconversionale KAS și FWO sunt în acord, fiind însa diferite de cele indicate de metoda diferențial FR, care indică un proces de descompunere multistadial;
- Metoda NPK confirmă rezultatele furnizate de metodele izoconversionale clasice; astfel, toti cei trei complexi sunt degradați în urma a doua procese paralele, cu contribuție chimic și/sau fizic ;
- Energia de activare a descompunerii complexilor variaza în ordine invers față de temperatura de început a procesului indicat de curbele TG/DTG, și anume: Cd(II) > Zn(II) > Ni(II). Rezultatele obținute prin metoda NPK sunt validate și de vitezele de reacție și constantele de reacție calculate la aceeași temperatură pentru cele trei combinații complexe analizate.

Un alt compus sintetizat, purificat și caracterizat în cadrul cercetărilor întreprinse a fost derivatul triterpenic: acid betulonic. Rezultatele analizei cineticii degradării au fost publicate în lucrarea „**Betulonic Acid - Study of Thermal Degradation by Kinetic Approach**” [53], și au vizat etapa de descompunere a acestuia care apare în intervalul de temperatură 200–300 °C, folosind același protocol cu cel utilizat în studii anterioare. Studiul cinetic a fost realizat folosind datele experimentale DTG la cinci viteze de încălzire, curbele obținute fiind prezentate în Figura 30a.

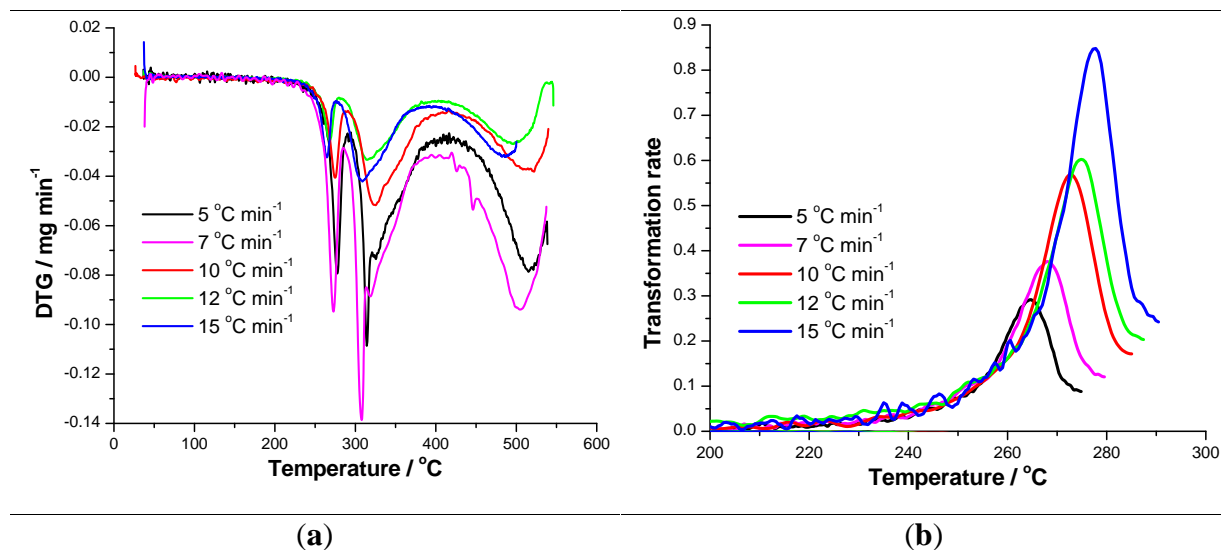
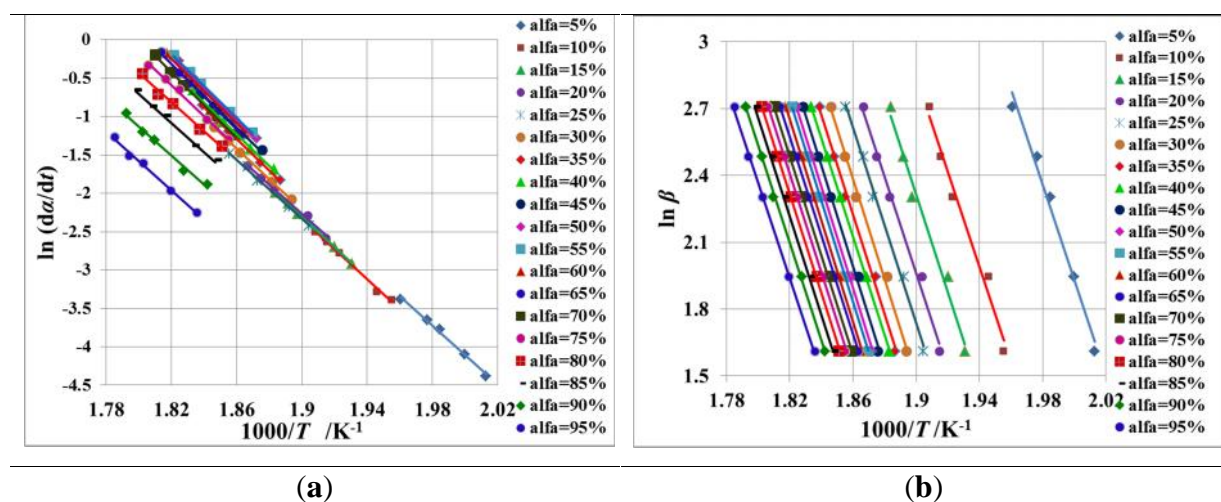


Figura 30. Acidul betulonic: **(a)** Curbele DTG ob inute la tratamentul termic la cele cinci viteze de înc lzire; **(b)** reprezentarea grafic a vitezei de transformare vs. T în condi ii neizoterme [53].

Dependen a vitezei de transformare vs. temperatur pentru acidul betulonic corespunzând celor cinci viteze de reac ie în condi ii neizoterme este prezentat în Figura 30b.

Corela iile liniare ob inute pentru evaluarea descompunerii acidului betulonic în regim neizoterm folosind metodele cinetice izoconversionale sunt prezentate în Figura 31a-c, respectiv curba 3D din reprezentarea suprafe elor de reac ie prin metoda NPK în Figura 31d.



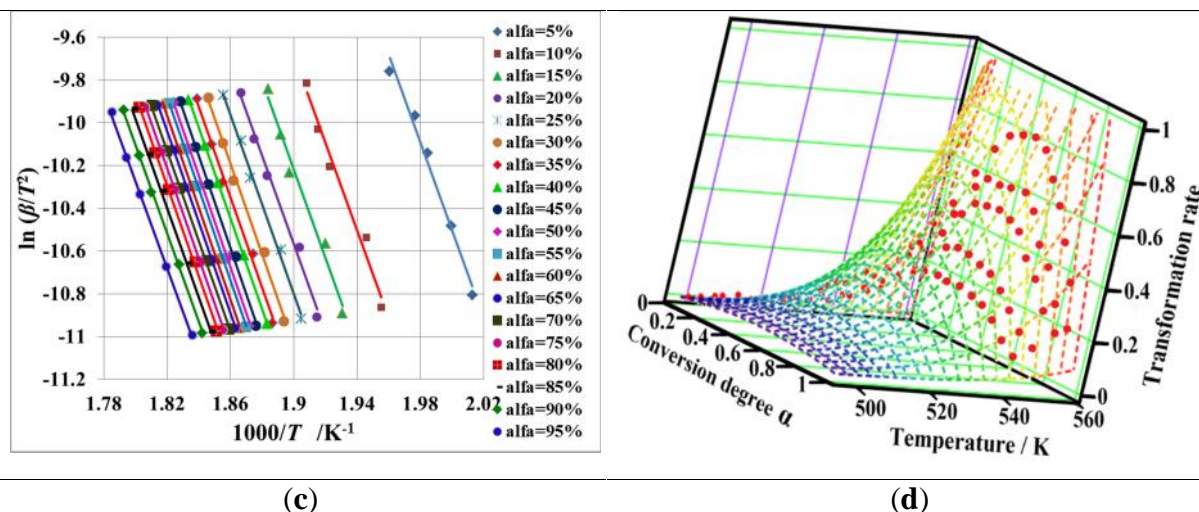


Figura 31. Acidul betulonic: reprezentarea dependen elor liniarizate ale metodelor cinetice izoconversionale (a) FR; (b) FWO i (c) KAS, respectiv suprafata de react ie 3D (d) ob inut prin metoda NPK [53].

Metodele izoconversionale furnizeaz o familie de drepte, pentru toate cazurile coeficien ii de corelare fiind mai mari decâ t 0.969, indicând corel ri liniare bune. Valorile E_a vs. sunt prezentate în Tabelul 18. Pentru a putea evalua natura proceselor de descompunere, adic separarea contribu iilor chimice de cele fizice, a fost utilizat metoda NPK (Tabelul 19).

Tabelul 18. Valorile E_a ob inute pentru acidul betulonic (BA) folosind metodele izoconversionale (adaptare dup [53])

$E_a /$ kJ mol ⁻¹	Gradul de conversie $\alpha / \%$																	\bar{E}_a kJ mol ⁻¹		
	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75	80	85		90	95
FR	159.9	162.9	164.2	157.0	160.5	165.9	172.0	172.1	173.6	174.8	174.2	174.6	179.0	178.2	167.8	158.1	156.7	157.3	159.2	166.7±7.8
BA FWO	169.4	169.3	172.3	171.2	174.0	176.3	176.1	175.4	179.1	178.6	178.1	178.9	176.1	175.5	175.4	175.6	173.9	172.6	169.8	174.6±3.1
KAS	169.8	169.5	172.5	171.4	174.3	176.5	176.3	175.6	179.4	178.9	178.4	179.2	176.2	175.6	175.5	175.6	173.9	172.5	169.4	174.8±3.2

Conform metodei NPK, acidul betulonic este degradat în dou procese individuale (Tabelul 19), din care procesul individual principal este o degradare cu o varian explicitat = 78.4%, fiind datorat atât unei transform ri chimice cu ordinul de reac ie $n=1$ cât i unui proces fizic cu ordinul de transformare $m=1$. Al doilea proces individual este caracterizat de o energie de activare mult mai mare, dar contribu ia sa la energia de activare global este mai mic , i anume $48.0 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$, cu o valoare = 20.2%. i acest al doilea proces con ine o contribu ie chimic ($n=4/3$), dar i una de natur fizic ($m=1$).

Tabelul 19. Rezultatele analizei cinetice a degrad rii acidului betulonic (BA) prin metoda NPK, respectiv metodele KAS, FWO i FR (adaptare dup [53]).

	Procesul	/ %	E / kJ·mol ⁻¹	A / s ⁻¹	n	m	Ecua ia Šesták - Berggren	\bar{E} / kJ·mol ⁻¹			
								NPK	KAS	FWO	FR
BA	1	78.4	145.2±5.3	3.639·10 ¹⁴	1	1	(1-) ¹ · ⁻¹	162.1	174.8	174.6	166.7
	2	20.2	238.1±6.4	1.756·10 ²²	4/3	1	(1-) ^{4/3} · ⁻¹	±5.5	±3.2	±3.1	±7.8

Concluzii par iale

- Rezultatele ob inute prin metodele cinetice utilizate la studiul degrad rii acidului betulonic sunt în concordan unele cu altele;
- Metoda NPK a furnizat informa ii legate de procesele individuale care apar la tratamentul termic i a permis separarea contribu iilor fizice de cele chimice, precum i determinarea tripletei cinetice;
- Stabilitatea termic crescut a acidului betulonic se poate explica prin prezen a restului triterpenic, dar i al grup rilor func ionale grefate pe acesta, precum carboxil i oxo;
- Stabilitatea termic este ridicat i datorit prezen ei leg turilor de hidrogen intermoleculare;
- Rezultatele ob inute pot fi folosite cu succes în reac iile de derivatizare ulterioare ale acidului betulonic în condi ii speciale (în prezen a microundelor i în lipsa solven ilor).

I.3.2.2. Studiul cineticii de descompunere a unor compu i de interes farmaceutic

Numeroase studii anterioare au evidențiat importanța analizei termice i a studiilor cinetice în domeniul tehnologiei farmaceutice, precum i în dezvoltarea de noi forme farmaceutice solide [219, 221, 232–235]. Deoarece stabilitatea substan ei active este foarte important pentru stabilitatea formul rii finale, se pot realiza studii cinetice comparative pentru analiza degrad rii substan ei active față de amestecurile sale binare cu excipienți sau formul ri solide deja comercializate [44].

A a cum am precizat anterior, studiile de stabilitate termic i evaluarea mecanismului de descompunere termic pot fi realizate atât prin tehnici hifenate (Capitolul I.3.1), dar i prin utilizarea metodelor cinetice izoconversionale. Pe lâng compu ii sintetiza i în cadrul colectivului de cercetare din care fac parte, am studiat i o serie de compu i utiliza i curent în practica farmaceutic . Dintre ace tia, am considerat sugestive trei studii, i anume:

- studiul stabilit ii i a degrad rii termice a hormonului tiroidian sintetic Levotiroxin i a s rii sale sodice hidrate, ca substan e active, dar i în dou formul ri farmaceutice originale cu con inut de 100 µg, respectiv 200 µg per comprimat (Lucrarea „**Thermal stability of synthetic thyroid hormone L-thyroxine and L-thyroxine sodium salt hydrate both pure and in pharmaceutical formulations**”);

- studiul cinetic al descompunerii agentului antihiperlipemiant pravastatin ca substan activ , respectiv într-o form farmaceutic generic , cu con inut de 40 mg pravastatin per comprimat (Lucrarea „**Kinetic analysis of solid-state degradation of pure pravastatin versus pharmaceutical formulation**”);

- studiul cinetic comparativ privind stabilitatea termic a dou substan e active cu structur similar apar inând clasei statinelor, i anume simvastatina i lovastatina (Lucrarea „**Comparative thermal stability of two similar-structure hypolipidemic agents – Simvastatin and Lovastatin. Kinetic Study**”).

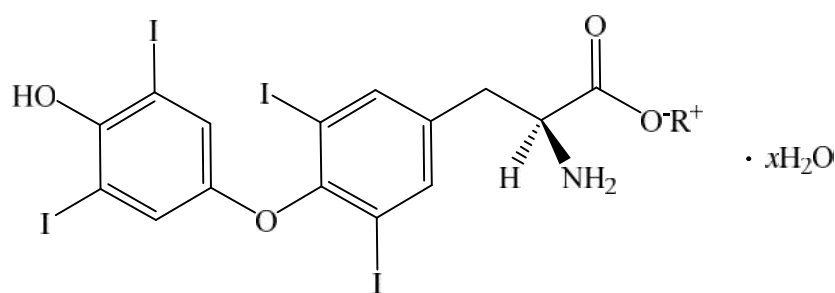
În lucrarea „**Kinetic analysis of solid-state degradation of pure pravastatin versus pharmaceutical formulation**” [77] a fost investigat stabilitatea termic a L-tiroxinei (THY) i a s rii sale sodice pentahidrate (THYSS) vs. dou formul ri farmaceutice solide comercializate atât pe piața românească, cât i pe cea european (cu un conținut de 100 µg, respectiv 200 µg THYSS pe comprimat). Pentru a determina dac prezența excipienților afectează stabilitatea termic a levotiroxinei, studiul preliminar al stabilit ii termice în atmosfer de aer a fost completat cu un studiu cinetic legat de descompunerea probelor în mediu eterogen. Prin analiz cinetic , a fost investigat degradarea în condi ii neizoterme a

compu ilor activi selecta i față de formularea solidă cu o concentrație de 200 μg THYSS per comprimat.

Integritatea structural i compozi ional a ingredientului farmaceutic activ (IFA) în formularea farmaceutic final este unul dintre cele mai importante aspecte care trebuie luate în considerare pentru obținerea unui produs de calitate. În general, conținutul de substan activ într-o formulare farmaceutic este considerabil mai sc zut comparativ cu conținutul în excipienți, iar interacțiunile dintre componentele unui comprimat pot sc dea drastic concentra ia substan ei active, respectiv eficacitatea la administrare din cauza modific rii biodisponibilit ii. Aceste modific ri sunt i mai critice pentru formul rile farmaceutice solide, în care conținutul în IFA este mai mic de 200 μg (ca în cazul formul rii solide cu conținut THY), iar interacțiunile pot duce la bioechivalență inadecvată, ceea ce duce la sc derea eficacit ții clinice [236, 237].

Chiar dac tehnicile termoanalitice nu pot înlocui studiile clasice de stabilitate (cronofage), acestea au fost tot mai intens utilizate în ultimele decenii datorit rapidit ii i reproductibilit ții rezultatelor pe care le oferă, i anume aduc informații esențiale privind selecția excipienților farmaceutici [18, 36, 60, 61, 64, 71] pentru anumite substan e de interes farmaceutic, formarea diferi ilor aduc i moleculari, cum ar fi s rurile sau cocristalele [10, 43], dar i în evaluarea cineticii de descompunere la tratament termic.

Importan a studiului este relevat de faptul c izomerul levo al tiroxinei (abreviat uzual în domeniul medical i biomedical ca T_4) este unul dintre hormonii esen iali secreta i de glanda tiroid , jucând un rol esen ial în reglarea proceselor metabolice i în dezvoltarea normal a organismului [238]. L-tiroxina este, de asemenea, formulat ca sare sodic , stabil sub form pentahidrat (THYSS), fiind încorporat în forme farmaceutice solide mai ales în această form . L-tiroxina (T_4) i triiodo-L-tironina (T_3) sunt hormoni cu conținut de iod, produ i în celulele foliculare ale glandei tiroide din tireoglobulin . THY este o form sintetic a hormonului tiroidian tiroxin , care este utilizat în prezent pentru a trata deficiența hormonului tiroidian (tiroidite, hipotiroidism sau în cazul gu ei non-endemice) i ca agent de preven ie administrat pacien ilor pentru a evita recurența cancerului tiroidian. În prezent, majoritatea pacienților sunt tratați cu levotiroxină (THY) sau pentahidratul s rii sodice a L-tiroxinei (THYSS), compu i formulați în prezent sub numeroase forme farmaceutice originale, dar i ca generice [239, 240]. Formulele structurale ale levotiroxinei i a s rii sodice pentahidrate sunt prezentate în Figura 32.



unde:

R=H (L-tiroxină), $x=0$ respectiv

R=Na (L-tiroxină sare sodică), $x=5$

Figura 32. Formulele structurale ale levotiroxinei (THY, R=H) și sării sale sodice pentahidrate (THYSS, R=Na) (adaptare după [77])

Conform datelor furnizate de Drugbank, punerea pe piață a formelor farmaceutice cu conținut de THY a început în 1951 cu comercializarea de comprimate solide, iar în prezent există peste 400 de formulări disponibile la nivel mondial. Aceste formulări includ comprimate, capsule și pulberi injectabile, cu conținut de substanță activă între 13 și 500 μg [240].

Hormonii tiroidieni sintetici au fost produse comerciale utilizate ca atare, fără purificare ulterioară. S-au utilizat ca standarde pure L-tiroxina (THY, puritate > 98%, Sigma-Aldrich, Steinheim, Germania) și sarea sodică a L-tiroxinei pentahidrat (LTSS, puritate > 99%, Acros Organics, Geel, Belgia). Formularea farmaceutică (comprimatul) a fost un produs comercial vândut pe piața românească, conținând 200 μg L-tiroxină sodică per comprimat (masa comprimatului a fost 0.0997 ± 0.0006 g). Comprimatele (THYMED100 și THYMED200) nu au avut înveliș extern și au conținut ca excipienți: amidon de porumb, croscarmeloz sodic, gelatină, lactoz monohidrat și stearat de magneziu. Comprimatele au fost triturate și omogenizate separat în mojar de agat, apoi s-au cernut și transferat în fiole închise ermetic. Toate cele patru etichetări au fost prelucrate în condiții identice, pentru a obține rezultate comparabile. S-au înregistrat spectre FTIR folosind tehnica ATR pe un aparat SPECTRUM 100 (Perkin-Elmer, Waltham, SUA) pentru a confirma puritatea compușilor etalon, dar și pentru a putea pune în evidență prezența substanței active în comprimate. Suprapunerea spectrelor ATR-FTIR pentru THY, THYSS și comprimatele analizate (THYMED100 și THYMED200) este prezentată în Figura 33, iar numerele de unde la care apar maximele benzilor sunt prezentate în Tabelul 20.

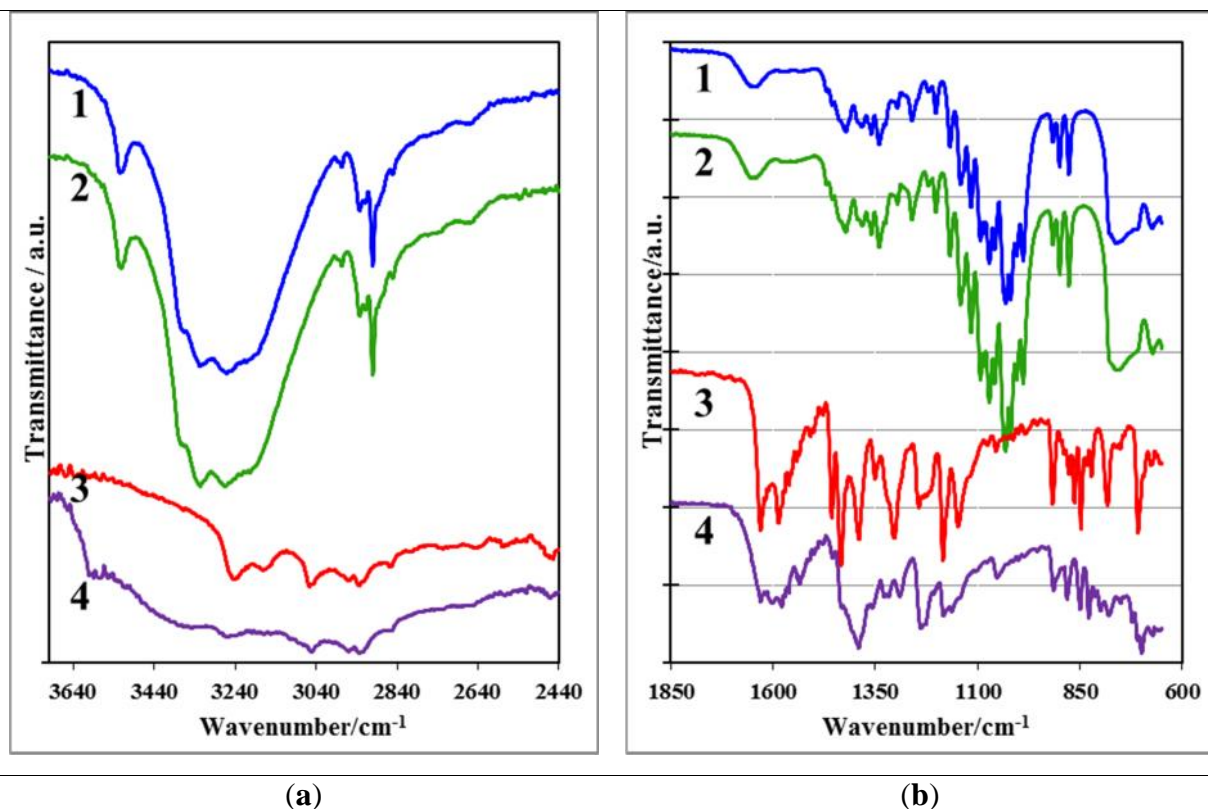


Figura 33. Spectrele ATR-FTIR pentru THYMED200 (1), THYMED100 (2), THY (3) i THYSS (4) pe domeniul spectral 3700-2440 cm^{-1} (a) i 1850-600 cm^{-1} (b) [77]

Spectrul ATR-FTIR al THY indic prezența grupărilor funcționale existente în moleculă. Vibrațiile de întindere ale grupării $-\text{CH}_2-$ apar la 2931 cm^{-1} i 2856 cm^{-1} , în timp ce benzile în jur de 3050 cm^{-1} se datorează întinderii legăturii C-H din ciclul aromatic. Deformările legăturii C-H din același grup sunt evidențiate maxime ce apar la 1456 cm^{-1} . Benzile din resturile aromatice tetrasubstituite în pozițiile 1,2,3,5 datorate deformărilor legăturilor C-H în plan se situează în domeniul spectral 1175-1125 cm^{-1} , respectiv 1070-1000 cm^{-1} . Deformările legăturilor C-H în afara planului pentru substituția inelului benzenic apar între 915-860 cm^{-1} ca benzi de intensitate medie. Banda eteric aromatic care leagă cele două inele benzenice substituite apare la 1232 cm^{-1} , în timp ce vibrațiile de întindere ale legăturii O-H apar ca bandă largă la valori mai mari de 3200 cm^{-1} . Vibrațiile de întindere C-O i deformațiile în plan O-H apar între 1230-1140 cm^{-1} i 1410-1310 cm^{-1} . Vibrațiile O-H din gruparea carboxilică (OH asociat) ar trebui să apară ca bandă largă între 3300-2500 cm^{-1} , respectiv vibrația de întindere a legăturii C=O pentru acizii asociați intramolecular prin legături de hidrogen la 1680 cm^{-1} . Spectrele ATR-FTIR nu confirmă prezența acestor benzi, pe când cele care corespund monoaminoacizilor monocarboxilici sunt evidențiate după cum urmează: banda largă în regiunea 3100-2600 cm^{-1} este asociată cu întinderea legăturii N-H din gruparea protonată NH_3^+ , precum și benzile de la 1630 i 1508 cm^{-1} pentru deformările

asimetrice. Gruparea carboxilat absoarbe puternic în jur de 1586 cm^{-1} și mai slab la 1433 cm^{-1} . Vibrațiile de întindere C–I apar sub 600 cm^{-1} și au putut fi puse în evidență prin tehnica ATR. Vibrațiile de întindere C–N apar în jur de 1054 cm^{-1} . Toate atribuiriile benzilor sunt în acord cu cele menționate în literatura de specialitate [241].

Spectrul FTIR al THYSS este similar datorită faptului că scheletul de bază molecular este identic. Apar însă o serie de diferențieri: banda largă între $3599\text{--}3576\text{ cm}^{-1}$ se datorează întinderii legăturii O–H din apa de cristalizare, confirmând existența formei hidrat. Alte diferențe structurale constau în dispariția benzilor corespunzătoare formei de sare internă a aminoacidului, apariția vibrațiilor de întindere ale legăturii N–H libere în jurul valorii de $3400\text{--}3200\text{ cm}^{-1}$, ca benzi multiple combinate. Benzile caracteristice ionului carboxilat apar în jur de 1579 cm^{-1} (întinderea asimetrică) respectiv 1391 cm^{-1} (întinderea simetrică). Vibrațiile de deformare N–H sunt observate în același interval spectral, dar la valori mai mari decât cele pentru fragmentul carboxilat, în jurul valorii de 1629 cm^{-1} , în timp ce vibrațiile de întindere C–N apar în jur de 1053 cm^{-1} . Aceste atribuții au fost, de asemenea, corelate cu datele menționate în literatură [241].

Tabelul 20. Maximele benzilor determinate pentru probele analizate prin spectroscopie ATR-FTIR (adaptare după [77])

Proba	Numărul de unde (cm^{-1})
THY	3241; 3052; 2931; 2856; 2459; 1630; 1586; 1560; 1542; 1508; 1456; 1433; 1390; 1350; 1304; 1242; 1184; 1146; 1054; 984; 915; 875; 863; 847; 832; 821; 782; 707; 674;
THYSS	3668-2342 (broad); 3599; 3576; 3266; 3055; 2963; 2930; 2856; 1629; 1604; 1579; 1535; 1391; 1322; 1289; 1234; 1181; 1053; 914; 881; 848; 828; 780; 721; 699; 671
THYMED100	3523; 3306; 3074; 3275; 3265; 2932; 2900; 1648; 1422; 1382; 1358; 1340; 1296; 1260; 1201; 1166; 1141; 1115; 1093; 1070; 1019; 1004; 988; 915; 899; 875; 756; 671
THYMED200	3523; 3306; 3074; 3277; 3265; 2932; 2900; 1647; 1422; 1383; 1358; 1340; 1297; 1260; 1202; 1167; 1141; 1115; 1093; 1071; 1019; 1004; 988; 915; 899; 875; 757; 673

Compoziția comprimatelor analizate determină complexitatea spectrelor FTIR, comparativ cu spectrele THY și THYSS. Similaritatea profilurilor FTIR pentru ambele comprimate se datorează faptului că acestea au un conținut scăzut în substanță activă față de cantitatea de excipienți. Pentru ambele forme farmaceutice analizate (THYMED100 și THYMED200), intervalul spectral $4000\text{--}2000\text{ cm}^{-1}$ dezvăluie informații despre conținutul de apă din probe, benzi largi fiind observate în ambele cazuri între $3618\text{--}2810\text{ cm}^{-1}$, cu un maxim în jurul valorii 3266 cm^{-1} ; de asemenea, în intervalul spectral menționat, se observă și benzile corespunzătoare întinderii legăturii C–H din lanțurile alifatiche sub forma unor benzi

ascuțite la 2900, 2932 și 2996 cm^{-1} în ambele probe (Figura 33). De asemenea, benzile atribuite substanței active conduc la concluzia că în comprimat nu se găsește THYSS, ci THY, lucru susținut și de analiza termică.

Datele DSC au fost înregistrate cu ajutorul unui aparat Pyris Diamond DSC (Perkin-Elmer, Waltham, SUA). Probele au fost sigilate în creuzete din aluminiu perforate. Programul de temperatură a fost setat să crească de la temperatura ambientală până la 300 °C cu o viteză de încălzire 10 °C·min⁻¹, sub flux de azot (50 mL·min⁻¹). Toate datele au fost procesate cu ajutorul software-ului Pyris (Perkin-Elmer, Waltham, SUA). Analiza termică a fost realizată cu ajutorul unei termobalanțe DIAMOND (Perkin-Elmer, Waltham, SUA), folosind mase de probe de ~5mg în creuzete de aluminiu, în atmosferă dinamică de aer și în condiții neizoterme.

Analiza termică preliminară (TG/DTG/HF) a fost realizată la $\beta = 10$ °C·min⁻¹ pentru toate cele patru probe, în timp ce studiul cinetic a fost efectuat exclusiv pentru THY, THYSS și THYMED200, toate datele termoanalitice fiind colectate în duplicat, rezultatele fiind practic identice.

Rezultatele analizei termice realizate pe cele patru probe sunt prezentate sub forma curbelor termoanalitice din Figura 34a-d.

În cazul THY (Figura 34), datele TG/DTG/HF/DSC indică o stabilitate termică ridicată (până la 198 °C), când se observă apariția unui proces de pierdere de masă. La 500 °C, procesul de degradare moleculară este avansat și se datorează termooxidărilor, care determină o pierdere de masă considerabilă ($m = 83.3\%$). Curba DTG sugerează existența a două procese de degradare succesive, între 198-274 °C, cu un $DTG_{max} = 237$ °C ($m = 39.1\%$) și 274-500 °C, cu $DTG_{max} = 315$ °C ($m = 44.2\%$). Curba de flux termic indică apariția procesului de topire însoțit de descompunere, proces care are loc în intervalul de temperatură 220-251 °C, cu $HF_{max} = 222$ °C (proces endoterm, $H = 4.55 \text{ J}\cdot\text{g}^{-1}$), respectiv $HF_{max} = 228$ °C (proces endoterm, $H = 10.16 \text{ J}\cdot\text{g}^{-1}$). Aceste rezultate sunt confirmate și de tehnica DSC, care indică existența unui proces termic între 223-240 °C, cu $DSC_{max} = 234$ °C. Între cele două procese endoterme cu maxime la 222 și 228 °C, este observat și un proces exoterm, dar doar în atmosferă oxidativă.

Deoarece procesul nu este evidențiat de tehnica DSC în atmosferă inertă, nu poate fi asociat cu o tranziție de fază precum topire/cristalizare/topire, ci mai degrabă cu un proces de termoliză-termooxidare a compusului investigat, din moment ce și curba TG indică pierdere de masă.

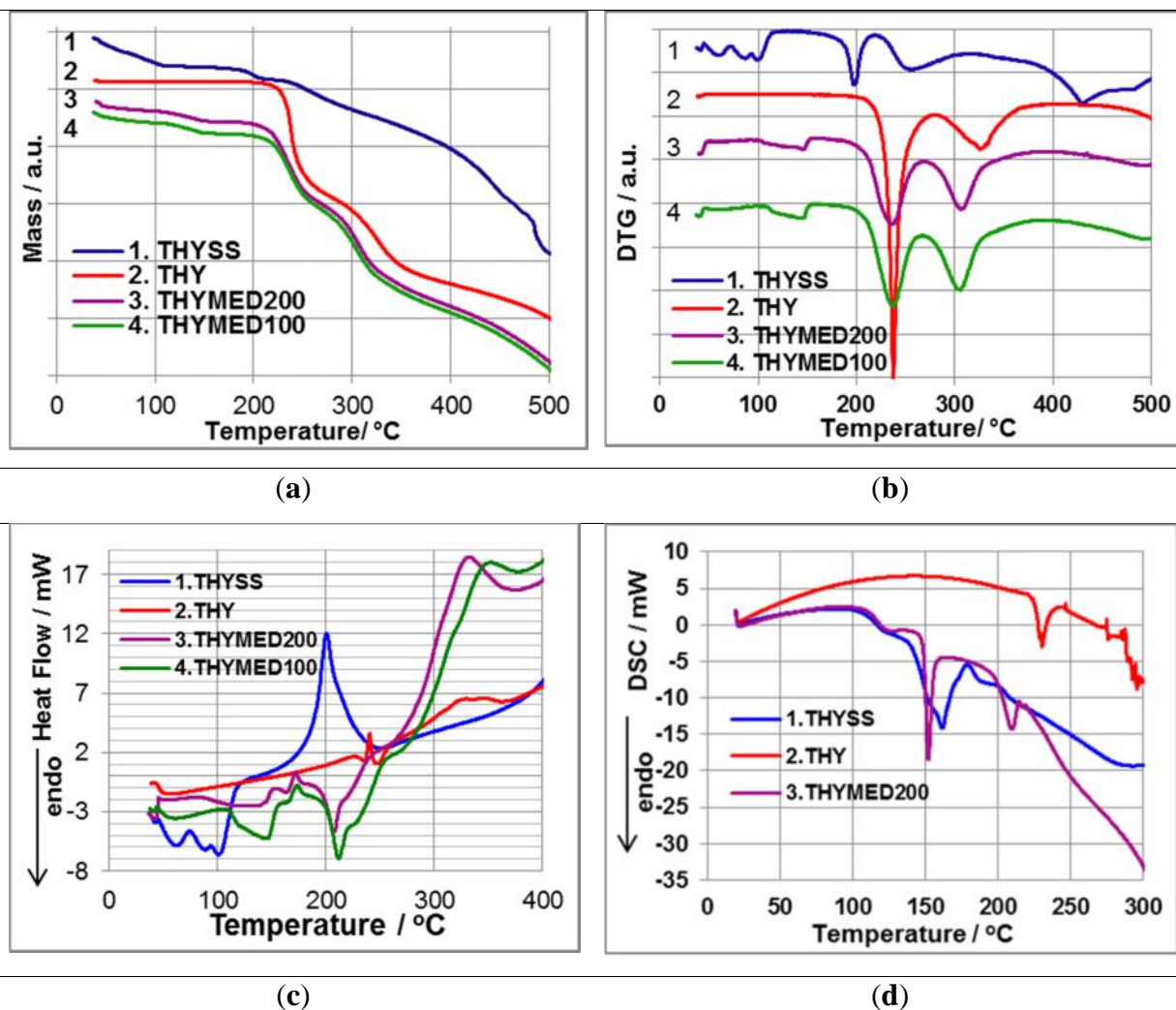


Figura 34. Curbele termoanalitice pentru cele patru probe analizate: (a) TG; (b) DTG; (c) HF i (d) DSC înregistrate la $\dot{T} = 10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$.

În cazul THYSS, curbele termoanalitice indic un proces de descompunere mult mai complex, așa cum era și de așteptat, ca urmare a faptului că sarea sodică este condiționată sub formă de pentahidrat. Primul proces de pierdere de masă are loc la temperaturi relativ joase, sub $100 \text{ }^\circ\text{C}$ fiind asociate cu pierderea apei de cristalizare. Confirmarea acestui lucru se realizează prin calculul pierderii de masă ($m = 10.51\%$), care corespunde la 5 moli de apă per mol de sare sodică. După pierderea apei de cristalizare se formează sarea anhidră THYSS, care este stabilă termic până la $155 \text{ }^\circ\text{C}$, când începe un proces continuu de pierdere de masă până la $500 \text{ }^\circ\text{C}$, caracterizat de $m = 76.11\%$.

Curba DTG indică maximele la care are loc pierderea moleculelor de apă; astfel, la temperaturi sub $115 \text{ }^\circ\text{C}$, apar maxime la 37, 54, 79 și $100 \text{ }^\circ\text{C}$. Primul proces de degradare al THYSS anhidră are loc între $155\text{--}212 \text{ }^\circ\text{C}$, cu $DTG_{max} = 195 \text{ }^\circ\text{C}$, urmat de un al doilea proces între $212\text{--}310 \text{ }^\circ\text{C}$, cu $DTG_{max} = 257 \text{ }^\circ\text{C}$. Curba HF indică procesele endoterme de eliminare a

apei din re eua cristalin , în acord cu datele DTG, cu HF_{max} la 37, 54, 80 i 103 °C, urmat de un proces intens exoterm între 155–240 °C, cu $HF_{max}= 201$ °C i $H= -95.1$ J·g⁻¹.

În cazul formelor farmaceutice solide analizate (THYMED100 i THYMED200), profilele termoanalitice sunt practic identice, datorit faptului c în compozi ie excipien ii se g sesc în cantitate mult mai mare comparativ cu substan a activ , atenuând destul de mult procesele termice asociate cu aceasta.

Atât pentru THYMED100 cât i pentru THYMED200, aspectul curbelor termoanalitice este mult mai complex, datorit prezenței excipienților în formulare. În mod surprinz tor, pentru ambele comprimate s-a observat o pierdere de mas la temperaturi sub 40 °C asociat cu pierderea apei de cristalizare din THYSS, dar i din compozi ia excipienților i/sau comprimatului, deoarece pierderea de mas observat (7.09%) este mai mare comparativ cu cea calculat pentru pierderea de mas de 5 moli de ap corespunzând la 100 µg, respectiv 200 µg substan activ . Profilul TG al probelor ob inute din comprimate este similar cu THYSS la temperaturi sub 200 °C, în timp ce în intervalul de temperatur 200-500 °C este similar cu cel al THY. O alt observație importantă este evidențiată prin analiza curbei DTG, i anume DTG_{max} care corespunde degrad rii termice a THYSS nu este observat în cazul THYMED100 i THYMED200 (aici, DTG_{max} a fost observat la 238 °C), dar cel corespunz tor THY este observat în ambele cazuri. Corelarea datelor termice cu cele furnizate de spectroscopia FTIR sugereaz c în comprimat, sub tratament termic i în prezența excipienților, apare transformarea s rii de sodiu în acidul corespunz tor. Informațiile furnizate de curbele HF nu pot fi utilizate în interpretarea datelor, deoarece procesele datorate substan ei active sunt suprapuse cu evenimentele termice datorate prezenței excipienților. În cazul curbei DSC, în atmosfer inert , procesele sunt mai bine evidențiate: la temperaturi sub 200 °C, curba termic este similar cu cea corespunz toare THYSS, în timp ce peste 200 °C, curba termic este similar cu cea corespunz toare THY [77].

Ca urmare a considerentelor anterior prezentate, în ultima parte a acestui studiu (analiza cinetic), doar proba THYMED200 a fost analizat , pentru a putea identifica mai bine procesele datorate substan ei active în curbele termoanalitice. Studiul cinetic a fost realizat pe etapa principal de descompunere, care are loc pentru fiecare prob în anumite intervale de temperatur , i anume: pentru THY între 190-270 °C, pentru THYSS între 150-210 °C, iar pentru THYMED200 între 150-260 °C. Protocolul de realizare al studiului cinetic a fost similar cu cel prezentat anterior, folosind date TG la cinci viteze de înc lzire, i anume = 5, 7, 10, 12 i 15 °C·min⁻¹, respectiv metodele FR, KAS, FWO i NPK.

Dup reprezentarea grafic a datelor cinetice pentru cele trei metode izoconversionale (Figurile 35,36,37), s-au determinat valorile E_a vs. pentru o variație de 0.05 a gradului de conversie, pe intervalul 0.05 0.95 (Tabelul 21).

Metodele cinetice izoconversionale, atât integrale, cât i diferențiale, aplicate pentru studiul degrad rii THY i THYMED200, sugereaz c mecanismul de descompunere nu este dependent de temperatur , deoarece valorile E_a vs. se g sesc în limita de varia ie de $\pm 10\%$ fa de valoarea medie calculat .

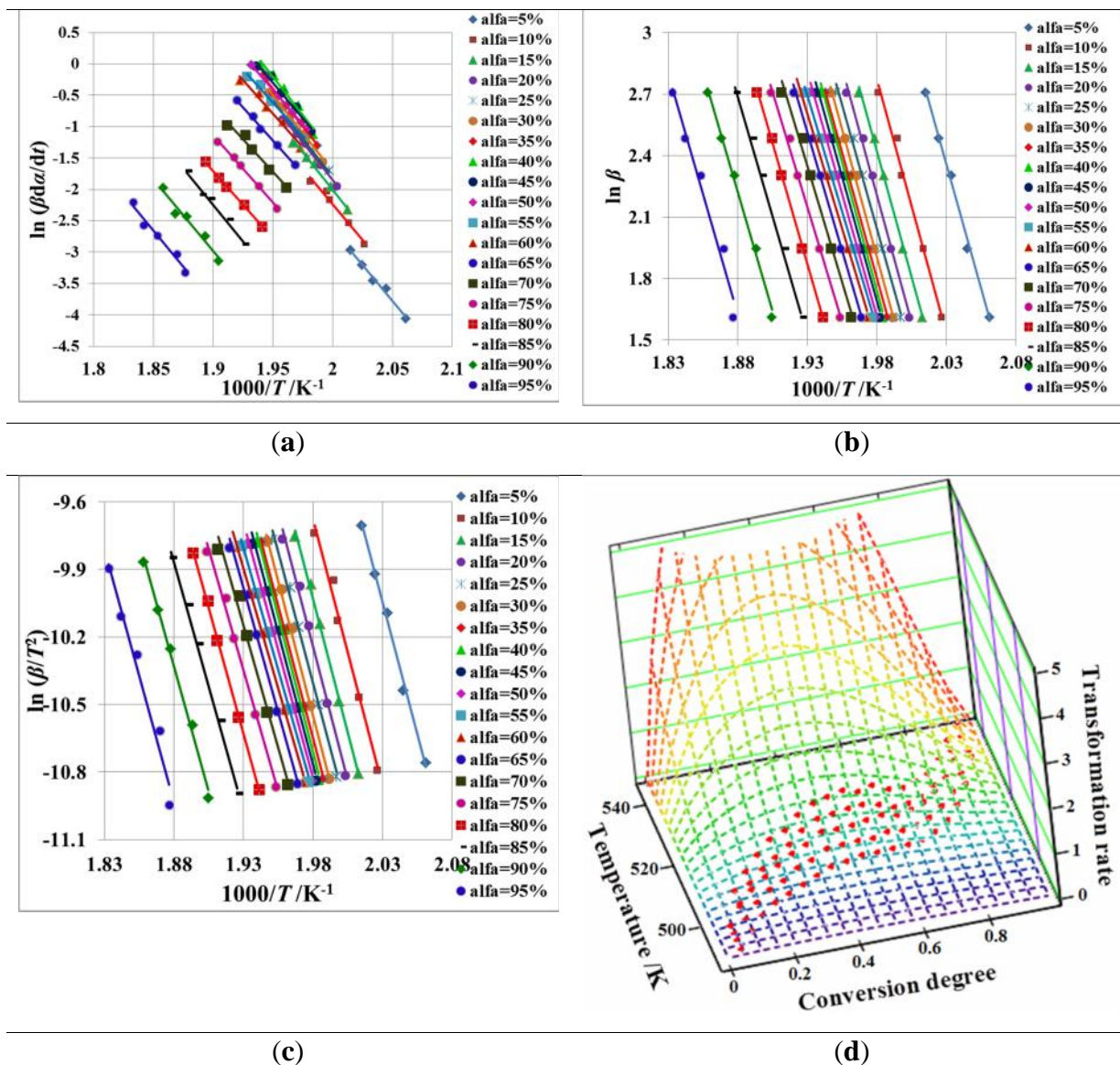


Figura 35. Proba THY: reprezentarea dependen elor liniarizate ale metodelor cinetice izoconversionale (a) FR; (b) FWO i (c) KAS, respectiv suprafa a de reac ie 3D ob inut prin metoda NPK (d) [77].

În cazul THYSS, o variație a energiei aparente de activare în funcție de gradul de conversie a fost observat numai în cazul metodei FR, în timp ce metodele integrale au

releuat o variație mai mică de $\pm 10\%$. Diferențele obținute prin metodele integrale față de cea diferențială se datorează procesării punct-cu-punct a datelor cinetice, în acest ultim caz.

Totu i, metodele izoconversionale nu pot separa contribu iile proceselor fizice i chimice la procesul global de degradare, astfel c rezultatele menționate mai sus sunt corelate cu cele obținute prin utilizarea metodei NPK.

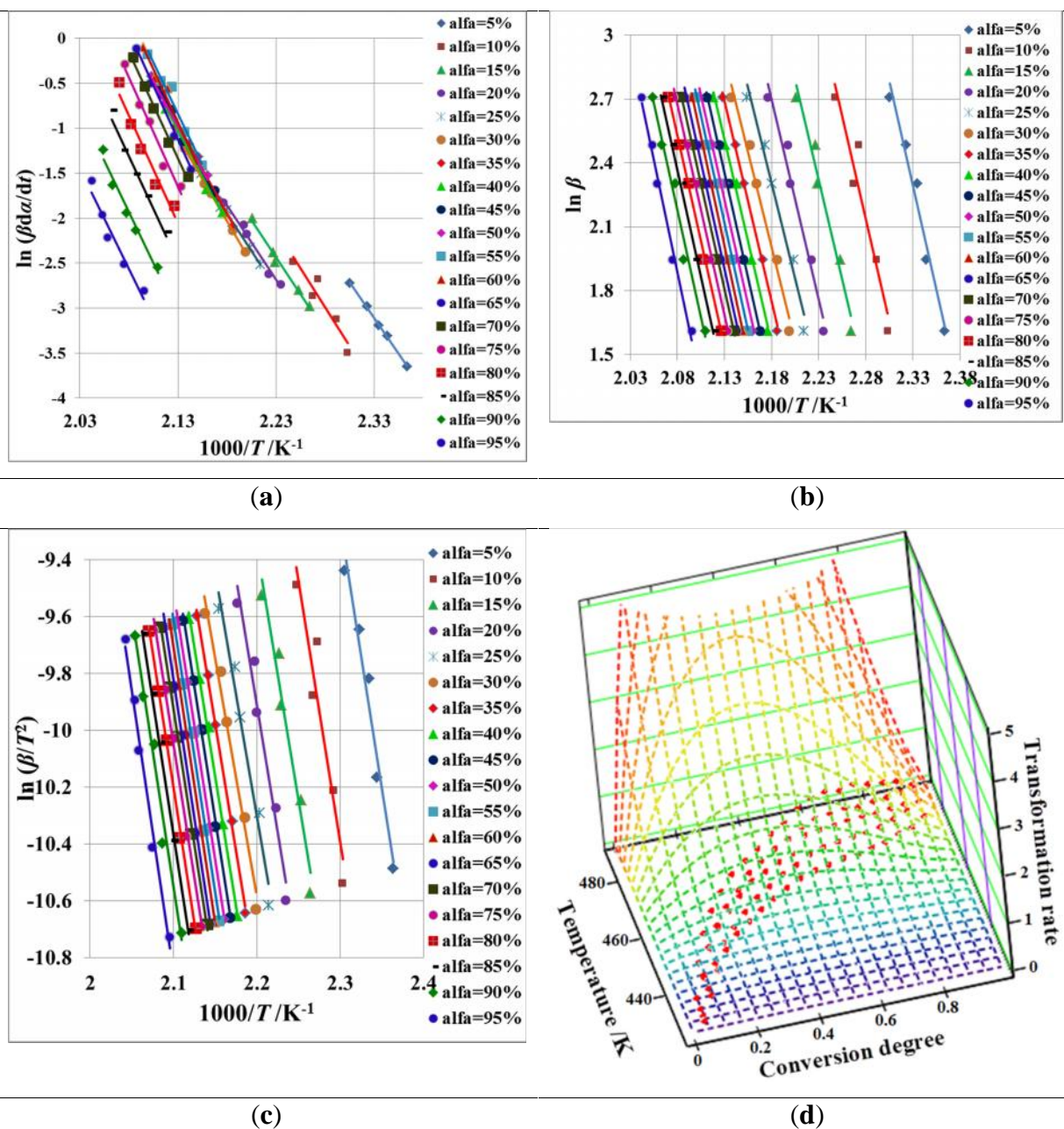


Figura 36. Proba THYSS: reprezentarea dependen elor liniarizate ale metodelor cinetice izoconversionale (a) FR; (b) FWO i (c) KAS, respectiv suprafa a de reac ie 3D ob inut prin metoda NPK (d) [77].

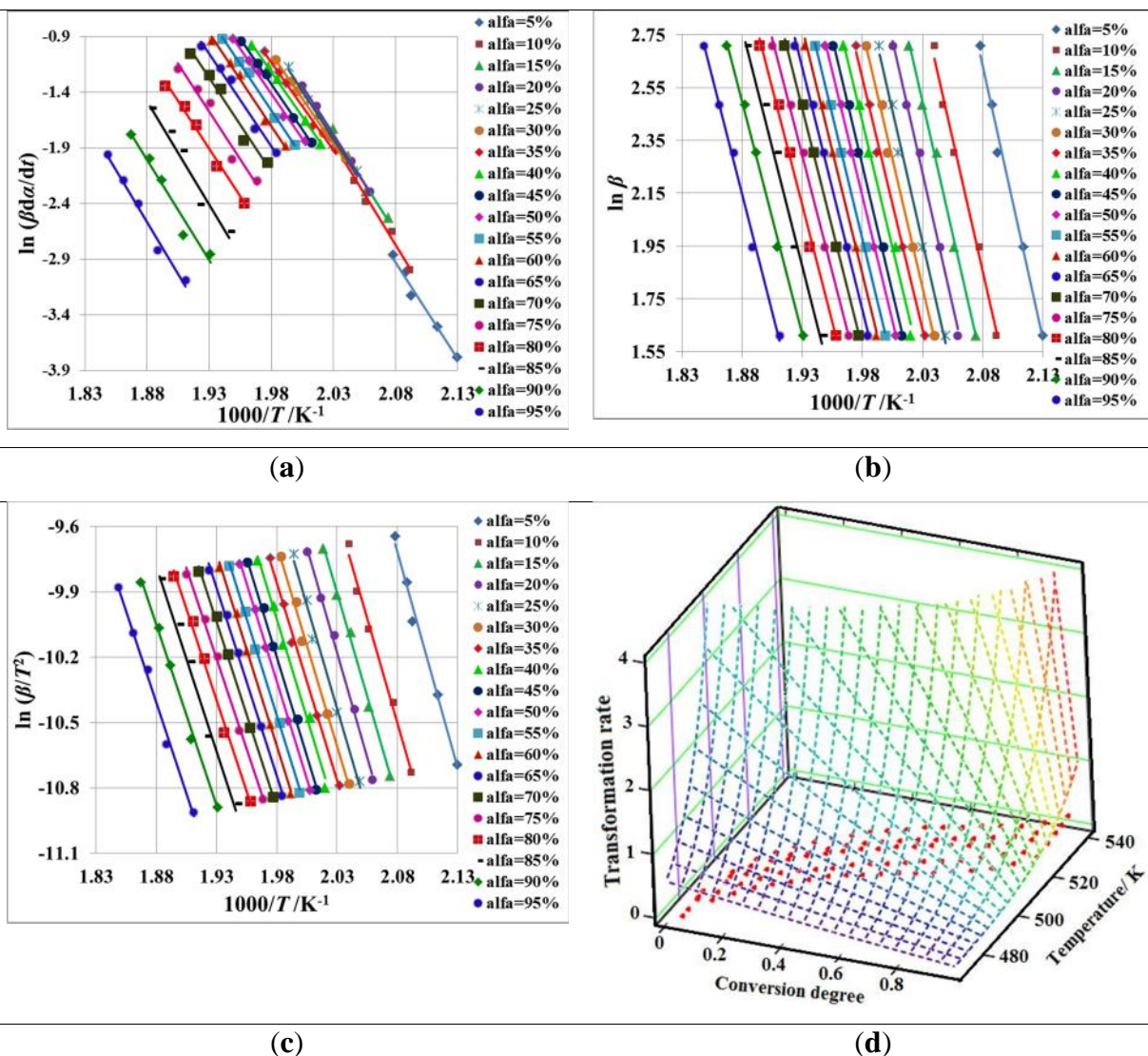


Figura 37. Proba THYMED200: reprezentarea dependen elor liniarizate ale metodelor cinetice izoconversionale (a) FR; (b) FWO i (c) KAS, respectiv suprafa a de reac ie 3D ob inut prin metoda NPK (d) [77].

Tabelul 21. Valorile E_a vs. ob inute prin metodele izoconversionale pentru probele analizate (adaptare dup [77])

Proba și metoda		E_a (kJ mol ⁻¹) vs. α																		\bar{E}_a (kJ mol ⁻¹)	
		0.05	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3	0.35	0.4	0.45	0.5	0.55	0.6	0.65	0.7	0.75	0.8	0.85	0.9		0.95
THY	FR	190.6	189.6	196.0	199.1	201.7	202.0	201.8	204.5	189.8	182.4	176.0	176.7	176.5	172.7	179.1	179.3	193.2	190.7	191.8	189.1±2.4
	KAS	194.1	197.7	196.1	198.3	192.8	199.1	195.5	200.3	193.6	188.8	181.2	177.8	184.2	179.9	179.1	186.0	184.3	185.1	186.8	189.5±1.7
	FWO	192.2	195.8	194.4	196.5	191.3	197.3	193.9	198.5	192.1	187.5	180.4	177.2	183.2	179.1	178.5	185.1	183.5	184.3	186.1	188.3±1.6
THYSS	FR	132.2	143.0	135.8	136.3	138.8	155.0	163.0	169.4	176.2	162.8	188.7	196.9	200.8	195.8	202.4	200.3	194.4	189.1	184.7	171.9±5.8
	FWO	156.1	153.4	147.4	148.3	142.1	140.4	149.4	150.8	156.1	155.6	161.1	162.2	159.7	157.1	156.4	156.9	159.2	158.6	165.9	154.6±1.5
THY MED200	FR	145.4	151.5	145.8	146.1	144.3	133.9	130.8	133.5	135.3	135.3	139.3	138.2	138.3	140.4	142.3	142.9	155.0	150.5	155.3	142.3±1.7
	KAS	164.4	160.1	157.6	159.5	157.5	153.6	149.6	151.4	151.2	149.2	148.2	146.7	144.3	142.1	138.5	139.2	141.1	138.2	139.4	149.0±1.9
	FWO	163.8	159.9	157.5	159.4	157.5	153.9	150.1	151.9	151.7	149.8	148.9	147.5	145.3	143.2	139.8	140.5	142.4	139.7	140.9	149.7±1.7

Rezultatele analizei NPK sunt prezentate sintetic în Tabelul 22 i au fost obținute folosind modelul cinetic propus de Šesták i Berggren [242, 243].

Conform metodei NPK, toate probele analizate sunt degradate termic prin contribu ia a dou procese. Procesul global de descompunere pentru THY i THYSS este similar, cu existen a a dou procese individuale paralele, care au aproximativ acelea i contribu ii, atâ t în termeni de varian e explicitate, cât i energetici. Ambele procese constau în degrad ri chimice (cu ordinul de reac ie $n = 3/2$ pentru primul proces i $n = 4/5$ pentru al doilea proces) i transform ri fizice ($m = 1$, respectiv $m = 1/3$).

În cazul THYMED200, contribu ia ambelor procese paralele este similară din punct de vedere energetic, îns contribu ia este semnificativ diferită în ceea ce prive te varian a explicitat . Aceast modificare poate fi explicat prin faptul c prezen a excipien ilor în cantit i mari în compara ie cu substan a activ investigat determin modificarea mecanismului de degradare, deoarece structura solidului este diferit în compara ie cu cea pentru compu ii puri. În acest caz, metoda NPK sugereaz numai contribu ii chimice la degradare ($n = 2/3$, respectiv $n = 3/2$).

Tabelul 22. Rezultatele ob inute prin aplicarea metodei NPK (adaptare dup [77])

Proba	Procesul	(%)	E_a (kJ·mol ⁻¹)	A (s ⁻¹)	n	m	Ecua ia Šesták -Berggren	$\cdot E_a$ (kJ·mol ⁻¹)
THY	1	58.1	198.9±5.5	8.696·10 ²⁰	3/2	1	$(1-)^{3/2} \cdot ^{-1}$	188.9 ±
	2	40.3	182.2±11.8	9.394·10 ¹⁷	4/5	1/3	$(1-)^{4/5} \cdot ^{-1/3}$	17.2
THYSS	1	58.5	173.4±11.7	3.436·10 ²⁰	3/2	1	$(1-)^{3/2} \cdot ^{-1}$	157.7 ±
	2	35.9	156.7±13.9	5.026·10 ¹⁶	4/5	1/3	$(1-)^{4/5} \cdot ^{-1/3}$	11.8
THYMED200	1	87.2	137.2±10.4	4.25610 ¹⁴	2/3	-	$(1-)^{2/3}$	133.1±9.5
	2	10	134.5±4.5	3.21210 ¹⁵	3/2	-	$(1-)^{3/2}$	

Concluzii par iale

- În ceea ce prive te valorile medii ale E_a , studiul a confirmat c THYSS are o stabilitate mai mic decât THY. Acest lucru se datoreaz modalit ii diferite de împachetare în solid pentru cei doi compu i; astfel, în THY datorit prezen ei leg turilor de hidrogen formate de grup rile -COOH i -NH₂, stabilitatea termic este îmbun t ită. Totu i, i compusul THYSS prezint o stabilitate termic ridicat , datorit structurii saline;
- În cazul THYMED200, prezen a excipien ilor determină scăderea stabilită ii în ceea ce prive te valoarea energiei de activare;
- Studiul realizat a ar tat c în comprimat, levotiroxina sodic este transformat în forma acid , datorit tratamentului termic în prezen a excipien ilor;
- A fost posibil estimarea parametrilor cinetici prin folosirea a patru metode cinetice diferite pentru THY, THYSS i THYMED200. Doar metoda modificat NPK a

permis o separare obiectiv a influenței temperaturii, respectiv a influenței conversiei asupra vitezei de transformare și, în același timp, a indicat existența a două procese paralele individuale de descompunere care intervin în termoliza compuşilor analizați;

- În ceea ce privește stabilitatea termică a formelor farmaceutice solide, s-a arătat că pierderea de apă din comprimat are loc la temperaturi apropiate de temperatura ambientală, acest fapt trebuind investigat suplimentar pentru evaluarea biodisponibilității substanței active dintr-un comprimat menținut în atmosferă uscată față de cel care a fost recent îndepărtat din blister.

Un alt studiu a vizat un obiectiv similar, și anume un studiu comparativ privind stabilitatea pravastatinei – substanță activă vs. o formulare farmaceutică solidă cu conținut de pravastatină. Astfel, în lucrarea „**Kinetic analysis of solid-state degradation of pure pravastatin versus pharmaceutical formulation**” [44] a fost studiată cinetica descompunerii pravastatinei (PRV), un compus din clasa statinelor frecvent utilizat în tratarea dislipidemiilor și a prevenirii bolilor cardiovasculare. Studiul cinetic a fost efectuat pe principalul proces de descompunere care apare la aproximativ 200 °C, atât pentru substanța activă pură, cât și pentru o formulare comercială generică care conține 40 mg pravastatină per comprimat, folosind metodele izoconversionale, respectiv metoda NPK, prezentate anterior. Stabilitatea pravastatinei ca substanță activă pură și în comprimat a fost comparată cu ajutorul datelor cinetice, rezultatele sugerând că în formularea farmaceutică solidă, PRV are o stabilitate crescută în comparație cu substanța activă pură.

Pravastatina (PRV) este un ingredient farmaceutic activ utilizat în principal pentru tratamentul dislipidemiilor și prevenirea bolilor cardiovasculare [244], condiționat în forme de dozare solide ca sare de sodiu. PRV este prescris în principal pentru tratarea pacienților care prezintă boală vasculară aterosclerotică (sau risc crescut pentru aceasta), dar și risc de accidente vasculare cerebrale [245, 246]. Literatura indică faptul că PRV oferă mai multe beneficii pentru sănătate, cum ar fi scăderea nivelului colesterolului total, colesterolului LDL și trigliceridelor [247–249], în timp ce crește nivelul colesterolului HDL [250]. În ceea ce privește activitatea sa asupra sistemului cardiovascular, s-a raportat că PRV reduce riscul de deces prin scăderea posibilității apariției infarctului [251]. Alte studii au arătat că PRV scade riscul de accident vascular cerebral ischemic acut și atacuri ischemice tranzitorii [252].

Formula structurală a PRV (Figura 38), denumită IUPAC acid (3*R*,5*R*)-3,5-dihidroxi-7-((1*S*,2*S*,6*S*,8*S*,8*aR*)-6-hidroxi-2-metil-8-(((*S*)-2-metilbutanoil)oxi)-1,2,6,7,8,8*a*-hexahidronaftalen-1-il)heptanoic, conține un inel hexahidronaftalenic funcționalizat ca ester metilbutiric [253].

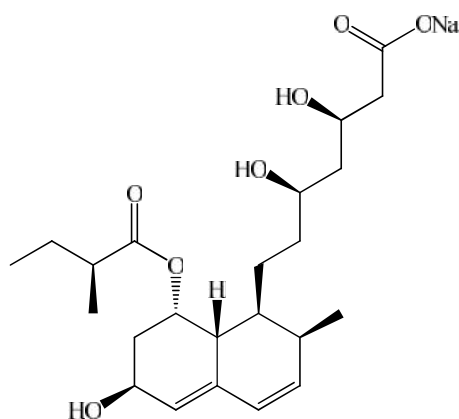


Figura 38. Formula structural a pravastatinei sodice (PRV) [44]

În prezent, PRV se administrează pacienților în doze cuprinse între 10 și 80 mg pe zi. Doza inițială uzuală la adulți este de 40 mg în priză unică. Doza inițială pentru pacienții cu disfuncție hepatică sau renală majoră este de 10 mg pe zi. PRV este comercializat sub numeroase forme generice în urma expirării brevetului Bristol-Myers Squibb în aprilie 2006 [254–256] sub mai multe mărci în formulări solide care conțin 10 mg, 20 mg, 40 mg și 80 mg substanță activă per comprimat. Alte studii relevă faptul că PRV stimulează angiogeneza în modelele murine [257] și îmbunătățește antiagregarea plachetară mediată *in vitro* de acidul acetilsalicilic [258, 259]. În același timp, literatura menționează că statinele prezintă beneficii terapeutice în afecțiuni nerelaționate cu un nivel plasmatic crescut al colesterolului, precum durerea și inflamația [260]. PRV și statinele sunt, de asemenea, studiate pentru noi perspective terapeutice în bolile autoimune și cancer, respectiv pentru acțiuni antiaterosclerotice, antiinflamatorii, antioxidante, imunomodulatoare și antitrombotice [261].

Pravastatina sodică hidrat (PRV_{AS}) a fost achiziționată de la Sigma-Aldrich (P4498, puritate >98%) și a fost utilizată ca atare. Comprimatul a fost un produs comercial generic de pe piața românească, cu un conținut de 40 mg pravastatină sodică. Comprimatul (PRV_{TAB}) conține drept excipienți: lactoză anhidră, stearilfumarat de sodiu și oxid de fier E172. Comprimatul a fost omogenizat manual prin triturare într-un mojar de agat cu un pistil, iar pulberea obținută a fost cernută, introdusă și pstrată într-un recipient sigilat până la efectuarea investigațiilor experimentale. Substanța activă a fost menținută în condiții identice cu comprimatul, astfel încât efectul factorilor de pstrare să fie aceeași, respectiv rezultatele să fie comparabile.

Studiul stabilității termice a fost realizat inițial prin înregistrarea curbelor termoanalitice TG/DTG/HF pe domeniul de temperatură 35–550 °C, cu o viteză de încălzire = 7 °C·min⁻¹, în atmosferă dinamică de aer cu un debit de 100 mL·min⁻¹, atât pentru pravastatina sodică pură (PRV_{AS}) cât și pentru comprimat (PRV_{TAB}).

Analiza termic realizat pentru PRV_{AS} la $\dot{T} = 7 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ (Figura 39) sugereaz o descompunere multistadial . PRV pierde apa de hidratare la temperaturi relativ joase (pân la $52 \text{ }^\circ\text{C}$), prima pierdere de mas fiind 2.67%, corespunzând unui con inut de ap de 0.65 moli per mol substan activ , dup care prezint un palier de stabilitate termic pân la $177 \text{ }^\circ\text{C}$, când apare un proces termic, înso it de pierdere de mas (intervalul de temperatur $177\text{-}279 \text{ }^\circ\text{C}$, $m = 32.33\%$). Dup acest proces, o nou pierdere de mas este eviden iat în intervalul de temperatur $279\text{-}550 \text{ }^\circ\text{C}$ cu o pierdere extrem de rapid a masei între $501\text{-}550 \text{ }^\circ\text{C}$. Toate aceste procese sunt înso ite de maxime pe curba DTG la $242 \text{ }^\circ\text{C}$ (primul proces), respectiv $333, 355, 371, 400$ i $514 \text{ }^\circ\text{C}$, putând fi asociate cu procese avansate de termoliz , ini ial a substan ei active, cât i a intermediarilor forma i în urma proceselor de oxidare [44].

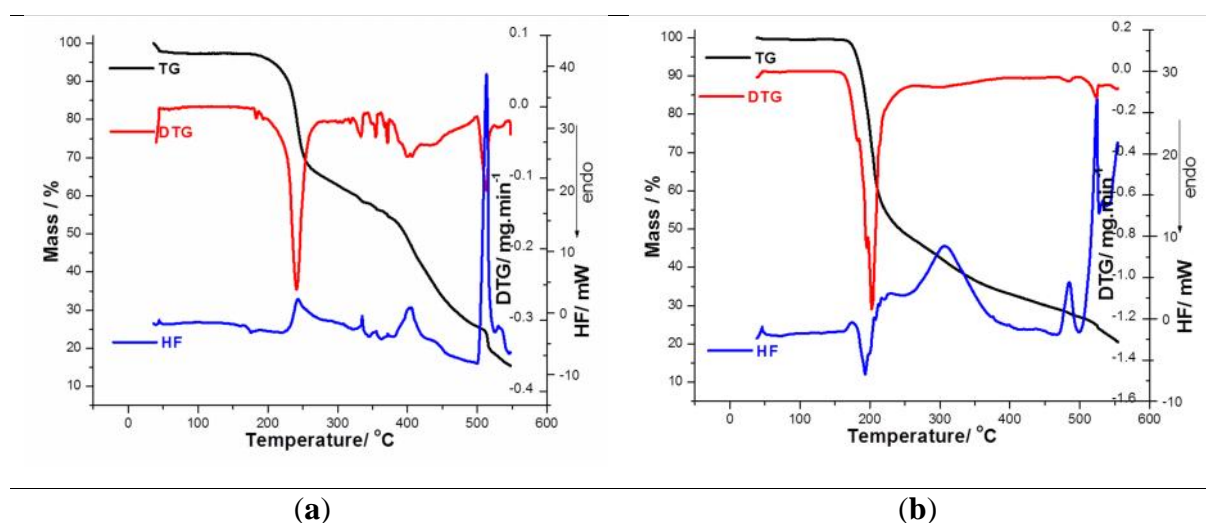


Figura 39. Curbele termoanalitice TG/TG/DTG/HF înregistrare la $\dot{T} = 7 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ pentru PRV_{AS} (a), respectiv comprimatul PRV_{TAB} (b) [44]

O comportare termic similar a fost observat i pentru formularea farmaceutic solid (comprimatul PRV_{TAB}). Totu i, în cazul acestei probe, stabilitatea termic (conform datelor TG/DTG/HF) este diminuat , procesele termice începând la o temperatur cu $\sim 15 \text{ }^\circ\text{C}$ mai sc zut decât în cazul precedent, procesul de degradare începând la $161 \text{ }^\circ\text{C}$, cu un maxim corespunz tor pe curba DTG la $203 \text{ }^\circ\text{C}$. Curba HF indic apari ia unui proces endoterm asociat cu procesul de descompunere, la o temperatur considerabil mai mic în cazul comprimatului comparativ cu substan a activă ($HF_{peak} = 191 \text{ }^\circ\text{C}$). Natura endoterm a acestui proces este diferit de cea observat în cazul substan ei active la $243 \text{ }^\circ\text{C}$ i poate fi explicat prin suprapunerea unor efecte termice datorate topirii substan ei active cu cele datorate proceselor de transformare a excipien ilor. Astfel, analiza comparativ a profilelor termoanalitice a celor dou probe sugereaz o stabilitate termic mai mic a PRV_{TAB} în

compara ie cu PRV_{AS} . Pentru o privire de ansamblu asupra stabilit ii (în termeni energetici), a fost realizat studiul cinetic al termolizei în mediu eterogen.

Pentru studiul cinetic, curbele termoanalitice au fost înregistrate în condi ii identice, la vitezele de înc lzire = 5, 7, 10, 12 i 15 °C·min⁻¹. Studiul cinetic a fost realizat pentru procesul principal de degradare termic , care are loc între 170-300 °C.

Ini ial, a fost un studiu cinetic preliminar asupra descompunerii termice a celor dou probe folosind metoda Kissinger, care sus ine c pentru o dependen a constantei de vitez de temperatur de tip Arrhenius, se poate ob ine modelul matematic (25), unde indicele max indic coordonatele punctelor în care viteza de reac ie este maximă, iar ceilal i parametri au fost explica i anterior.

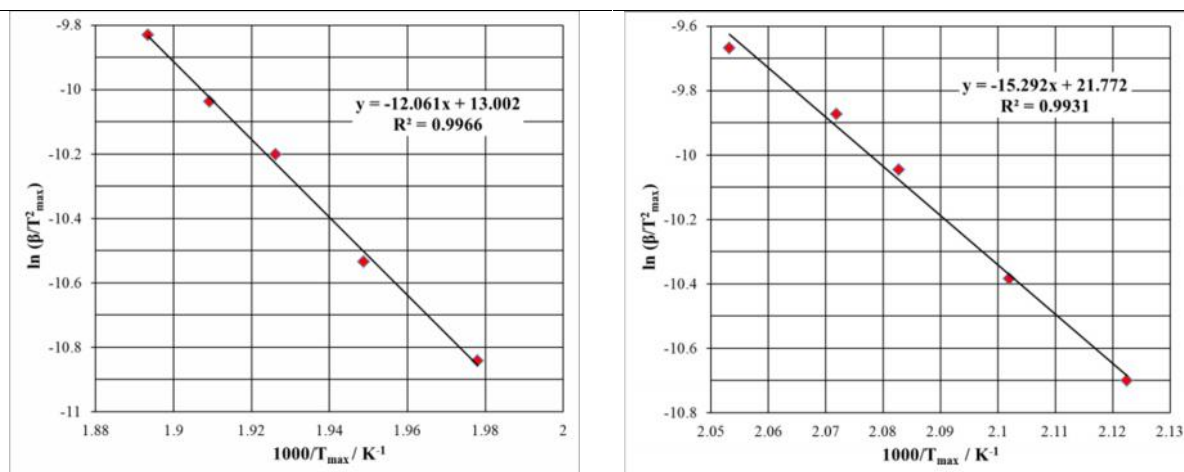
$$\ln\left(\frac{S}{T_{max}^2}\right) = \ln\frac{AR}{E_a} + \ln[n(1-r_{max})^{n-1}] - \frac{E_a}{R \cdot T_{max}} \quad (25)$$

Deoarece $(1-r_{max})$ este constant pentru o anumit valoare a lui n , determinarea E_a se poate realiza prin evaluarea pantei dependen ei liniare $\ln(S/T_{max}^2) = f(1/T_{max})$, pentru curbe termoanalitice înregistrate la viteze de înc lzire diferite [202]. Rezultatele analizei cinetice prin metoda Kissinger au condus la valori ale energiilor de activare de 100.3 kJ·mol⁻¹ pentru PRV_{AS} , respectiv 127.1 kJ·mol⁻¹ pentru PRV_{TAB} (Figura 40).

Aplicarea metodei FR (Figura 41) conduce la ob inerea unor dependen e liniare bune între $\ln(S \frac{dr}{dT}) = f(1/T)$, coeficien ii de determinare fiind în toate cazurile mai mari decât 0.972.

În cazul utiliz rii metodei FWO, coeficien ii de determinare ob inu i din reprezentarea grafic (Figura 42) au fost peste 0.986, sugerând i în acest caz o corelare liniar între parametrii analiza i, precum i o identificare i separare corect a proceselor investigate pe curba DTG. i în acest caz, din panta fiec rei drepte ob inute, au fost estimate energiile de activare aparente (Tabelul 23). Rezultate similare au fost ob inute i aplicând metoda KAS (Figura 43).

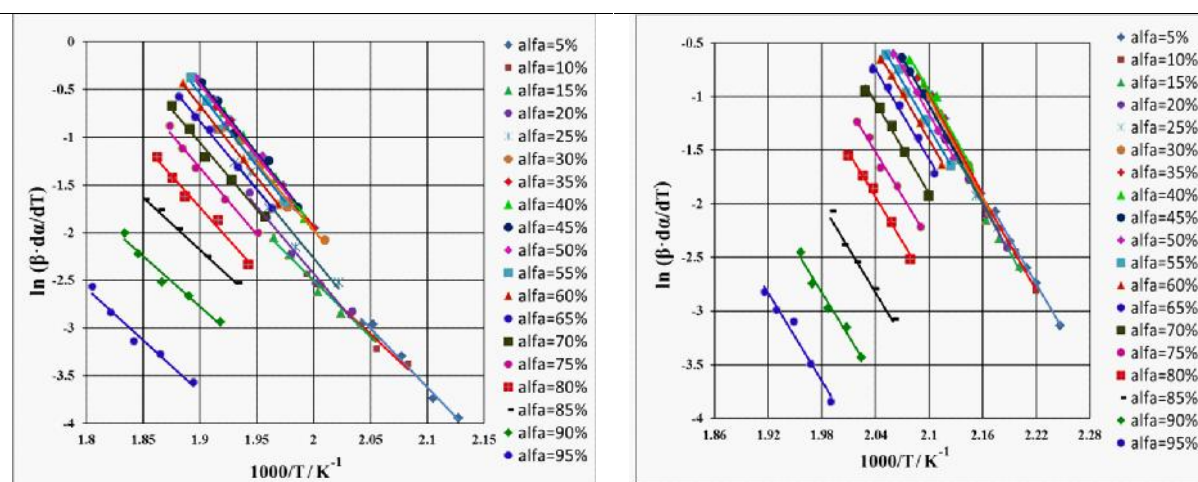
Analizând valorile energiilor de activare ob inute prin aplicarea metodei Friedman, se observ o varia ie semnificativ a acestora o dat cu modificarea gradului de conversie, în afara intervalului de 10% în jurul mediei, ceea ce indic un proces de descompunere multistadial. Metoda Friedman este îns singura metod care sugereaz complexitatea procesului de degradare, datorit proces rii diferen iale a datelor cinetice i informa iile preliminare oferite de aceasta sunt în acord cu cele ob inute prin metoda NPK.



(a)

(b)

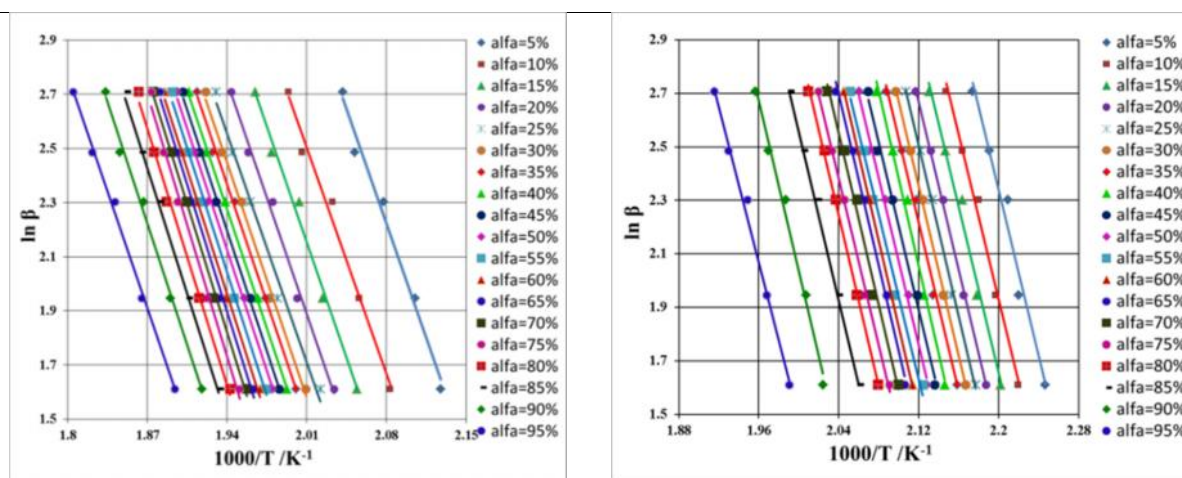
Figura 40. Metoda Kissinger - dependen a $\ln(\beta/T_{max}^2)=f(1/T_{max})$ pentru: (a) PRV_{AS} respectiv (b) PRV_{TAB} [44].



(a)

(b)

Figura 41. Reprezentarea grafic a metodei FR pentru:(a) PRV_{AS}, respectiv (b) PRV_{TAB} [44].



(a)

(b)

Figura 42. Reprezentarea grafic a metodei FWO pentru: (a) PRV_{AS}, respectiv (b) PRV_{TAB} [44].

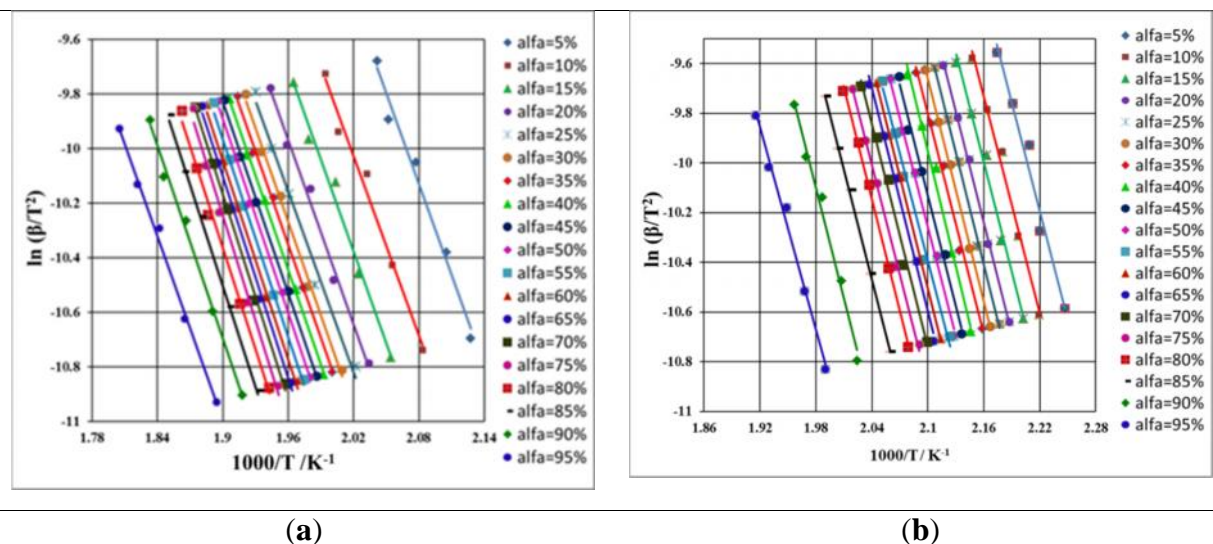


Figura 43. Reprezentarea grafic a metodei KAS pentru: (a) PRV_{AS} , respectiv (b) PRV_{TAB} [44].

Conform rezultatelor indicate de cele dou metode izoconversionale integrale, se observ o varia ie nesemnificativ a energiei de activare o dat cu modificarea gradului de conversie, ceea ce sugereaz c mecanismul de descompunere nu se modific o dat cu modificarea vitezei de înc lizare, respectiv cu avansul reac iei.

Tabelul 23. Valorile E_a ob inute cu ajutorul metodelor izoconversionale pentru PRV_{AS} i PRV_{TAB} (adaptare dup [44]).

$E_a/$ kJ mol ⁻¹	Gradul de conversie α																		\bar{E}_a kJ mol ⁻¹		
	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3	0.35	0.4	0.45	0.5	0.55	0.6	0.65	0.7	0.75	0.8	0.85	0.9		0.95	
PRV_{AS}	FR	103.2	92.7	98.4	115.9	120.9	116.2	122.0	124.6	124.7	124.0	125.5	124.1	118.5	116.1	116.6	110.8	91.4	87.9	89.9	111.7±3.1
	KAS	92.7	91.2	93.1	93.3	91.8	94.9	95.0	95.9	97.2	98.3	100.4	100.9	102.8	103.8	106.9	103.5	101.9	97.6	93.6	97.6±1.1
	FWO	95.7	94.4	96.3	96.6	95.3	98.3	98.4	99.3	100.5	101.6	103.6	104.1	105.9	106.9	109.9	106.7	105.2	101.2	97.5	100.9±1.1
PRV_{TAB}	FR	119.7	119.3	123	126.8	126.1	129.5	129.7	123.3	122.0	121.0	119.3	118.2	116.7	116.8	114.7	115.1	115.0	112.4	114.1	120.1±1.2
	KAS	121.3	120.9	122.0	123.2	125.2	124.1	123.5	128.4	122.6	121.9	119.4	125.4	124.7	125.2	122.2	124.4	122.9	123.1	112.8	122.8±0.7
	FWO	122.5	122.2	123.2	124.5	126.4	125.4	124.9	129.5	124.1	123.4	121.1	126.8	126.1	126.6	123.9	126.0	124.6	124.9	115.3	124.3±0.7

Pentru a putea evalua contribu iile diferitelor procese paralele care intervin în termodegradare, a fost aplicat metoda NPK, prin care s-au ob inut suprafe ele de reac ie din Figura 44. Astfel, pentru PRV_{AS} , procesul principal de descompunere este caracterizat de o varian explicitat = 78.9%, având atît contribu ie chimic (ordin de reac ie $n= 3/2$) cât i fizic ($m= 2/3$). Al doilea proces este caracterizat de o valoare mai mare a energiei de activare, dar contribu ie într-o m sur mai mic la procesul global de descompunere, având o varian explicitat = 13.8%. Pentru proba ob inut din comprimat (PRV_{TAB}), procesul de

degradare este de asemenea complex i decurge tot în dou etape, atât cu contribu ie chimic , cât i fizic ($n = 0$ and $m = 0$) (Tabelul 24).

Tabelul 24. Rezultatele analizei cinetice prin metoda NPK pentru PRV_{AS} i PRV_{TAB} (adaptare dup [44])

Proba	Procesul	%	E_a (kJ·mol ⁻¹)	A (s ⁻¹)	n	m	Ecua ia Šesták-Berggren	$\frac{E_a}{E_a}$ (kJ·mol ⁻¹)
PRV _{AS}	1	78.9	100.1±2.8	3.185·10 ¹⁰	3/2	2/3	(1-) ^{3/2} · ^{2/3}	95.9 ± 3.3
	2	13.8	123.2±1.5	1.298·10 ¹²	1	2	(1-) · ²	
PRV _{TAB}	1	60.5	129.1±5.8	9.087·10 ¹⁴	4/3	1	(1-) ^{4/3} ·	120.1 ± 6.8
	2	34.4	122.1±2.9	5.063·10 ¹²	4/5	1/3	(1-) ^{4/5} · ^{1/3}	

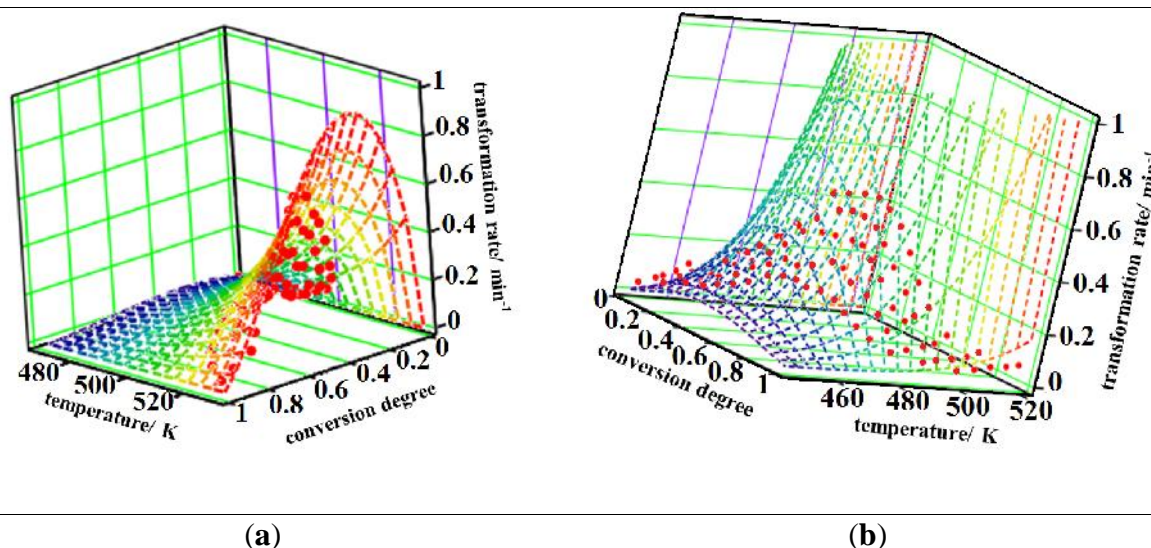


Figura 44. Suprafe ele de reac ie 3D pentru pravastatin – substan a activ (a) i comprimatul (b) [44].

Pentru pravastatin – substan a activ , valorile energiei de activare determinate prin metodele izoconversionale integrale sunt în acord cu cele determinate prin metoda NPK, pentru prima etap de descompunere termic .

Concluzii par iale

- Acest studiu a vizat studiul comparativ al stabilit ii termice a pravastatinei sodice hidrat, atât ca substan activ cât i într-o form farmaceutic solid generic (comprimat), frecvent utilizat pe pia a româneasc , cu un con inut de substan activ de 40 mg;

- Analiza termic comparativ a celor dou probe a ar tat c primele etape de descompunere apar în domeniul de temperatur 177-279 °C pentru substan a activ , respectiv 161-252 °C pentru substan a activ din comprimat;
- A fost evaluat stabilitatea termic a probelor prin estimarea tripletei cinetice prin metoda NPK, respectiv a energiilor de activare pentru inducerea proceselor de termodegradare;
- Ini ial, s-a utilizat metoda clasic Kissinger, care a indicat faptul c substan a activ din comprimat are o stabilitate termic mai mare comparativ cu substan a pur ; pentru a confirma acest rezultat preliminar, s-a realizat un studiu cinetic conform recomand rilor *ICTAC*, folosind metode izoconversionale;
- Rezultatele ob inute prin utilizarea metodelor izoconversionale au confirmat cele sugerate de metoda clasic Kissinger;
- Metoda diferen ial Friedman a indicat existen a unui mecanism complex de degradare al probelor, prin varia ia E_a vs. ;
- Metoda NPK a permis ob inerea tripletei cinetice f r nicio aproximare, i de asemenea s-au putut eviden ia contribu iile degrad rilor de natur chimic precum i transform rile fizice în procesele individuale de degradare, respectiv în procesul global;
- Studiul de fa poate reprezenta un pas de plecare în domeniul tehnologiei farmaceutice în ceea ce prive te ob inerea de forme generice, printr-o selec ie adecvat a excipien ilor; astfel, se poate concluziona c lactoza anhidr , stearilfumaratul de sodiu i oxidul de fier E172 sunt excipien i cu rol stabilizant al formelor farmaceutice cu con inut de pravastatin .

Un studiu similar a vizat caracterizarea comport rii termice i cinetica degrad rii pentru al i doi compu i utiliza i in tratamentul hipercolesterolemiei, cu structur similar cu pravastatina, i anume simvastatina i lovastatina. Lucrarea publicat în *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* este „**Comparative thermal stability of two similar-structure hypolipidemic agents – Simvastatin and Lovastatin. Kinetic Study**” [55]. i în acest caz, studiul degrad rii termice a fost realizat în atmosfer dinamic oxidativ , alegerea condi iilor de lucru fiind în acord cu condi iile de fabricare, transport i stocare a compu ilor de interes farmaceutic, acestea fiind preponderent reprezentate de condi iile ambientale obi nuite, respectiv prezen a aerului.

Lovastatina (LOV, (2*S*)-2-metilbutanoat de (1*S*,3*R*,7*S*,8*S*,8*aR*)-8-{2-[(2*R*,4*R*)-4-hidroxi-6-oxooxan-2-il]etil}-3,7-dimetil-1,2,3,7,8,8*a*-hexahidronaftalen-1-il)) este o substan

activ de provenien natural , fiind produs de c tre speciile de ciuperci *Monascus purpureus* i *Pleurotus ostreatus* [262, 263], iar simvastatina (SIM, 2,2-dimetilbutanoat de (1*S*,3*R*,7*S*,8*aR*)-8-(2-((2*R*,4*R*)-4-hidroxi-6-oxotetrahidro-2*H*-piran-2-il)etil)-3,7-dimetil-1,2,3,7,8,8*a*-hexahidronaftalen-1-il) se ob ine din func ionalizarea biochimic a LOV prin fermenta ie, în prezen a *Aspergillus terreus* [264]. Formulele structurale ale celor doi agen i antihyperlipidemici sunt prezentate în Figura 45, fiind eviden iat singura diferen structural , i anume legarea a dou grupe metil în restul butanoat în pozi ia 2,2 în cazul SIM, pe când LOV prezint o singur grupare metil, grefat în aceea i pozi ie [55].

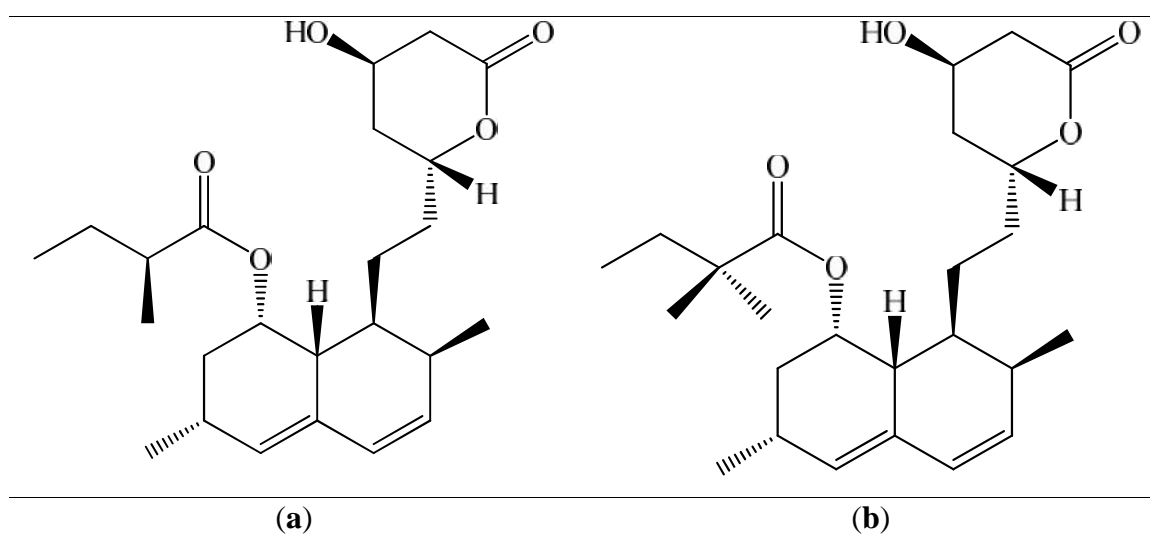


Figura 45. Formulele structurale ale LOV (a) i SIM (b) [55]

Atât LOV cât i SIM sunt inactive biologic în forma lactonic , fiind transformate *in vivo* în forma activ , dup deschiderea ciclului i formarea -hidroxiacidului. Literatura indic faptul c LOV este uzual condi ionat sub form de comprimate sau comprimate cu eliberare controlat , cu un con inut în substan activ între 10-60 mg, în unele formul ri în combina ie cu niacin [265]. SIM este formulat tot sub form de comprimate sau comprimate filmate, cu un con inut de substan activ între 5-80 mg, ca unic substan activ sau în combina ie cu ezetimib, sitagliptin sau niacin [266].

Studiul actual a fost realizat ca urmare a faptului c i ace ti doi compu i, al turi de pravastatin , sunt printre cele mai frecvent utilizate medicamente antihypercolesterolemice. Pe de alt parte, studiul datelor de literatur conduce la anumite inadverten e între rezultatele raportate de diverse grupuri de cercetare, i ca urmare, ne-am propus studiul cineticii de descompunere a acestor compu i în atmosfer oxidativ i în condi ii neizoterme, urmând indica iile pentru studiile cinetice conform *ICTAC 2000*.

Astfel, literatura indic o serie de studii publicate în domeniu, pentru care sunt prezentate pe scurt inadverten ele raportate:

- Souza *et al.* raporteaz în 2007 un studiu cinetic comparativ privind descompunerea SIM i LOV atât în atmosfer inert cât i oxidativ , folosind îns metoda Coats–Redfern [267]. Acest studiu raporteaz un mecanism de descompunere de tip F1 pentru SIM i LOV în aer, respectiv pentru LOV i în atmosfer inert , respectiv un mecanism F3 pentru SIM în atmosfer inert [268]; totodat , acela i studiu indic faptul c exist o varia ie considerabil a E_a în func ie de viteza de înc lzire (de pân la $122 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$), sugerând clar faptul c mecanismul de descompunere se modific cu temperatura.
- Procópio *et al.* [269] a publicat în 2011 comportarea termic a SIM folosind tehnici termoanalitice, precum i natura produ ilor de descompunere termic prin piroliz cuplat cu GC-MS. Rezultatele analizei cinetice a procesului de descompunere a SIM folosind metoda Ozawa indic valori ale E_a între 73.10 i $99.67 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ i un ordin de reac ie nul, $n=0$.
- Sovizi i Hosseini [270] raporteaz în anul 2013 valorile parametrilor cinetici (E_a i A) din date DSC ob inute în condi ii neizoterme, utilizând metodele ASTM E696 i Ozawa i anume valorile energiilor de activare pentru degradarea SIM fiind $170.9 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ (ASTM) i $171.5 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ (Ozawa).

Ambii compu i utiliza i au fost achizi i iona i de la Sigma-Aldrich/Fluka (SIM, puritate $>97\%$, LOV, puritate $>98\%$) i p stra i pân în momentul realiz rii studiilor cinetice în condi iile men ionate de furnizor. Puritatea probelor a fost confirmat prin spectroscopie ATR-FTIR, spectrele fiind înregistrate pe un aparat Bruker Vertex 70 (Bruker Daltonik GmbH, Germany) echipat cu un dispozitiv Platinum ATR, Bruker Diamond Type A225/Q.

Spectrele ATR-FTIR (Figura 46) înregistrate pentru cele dou statine prezint o serie de asem n ri, datorate structurilor, care difer doar printr-o singur grupare metil.

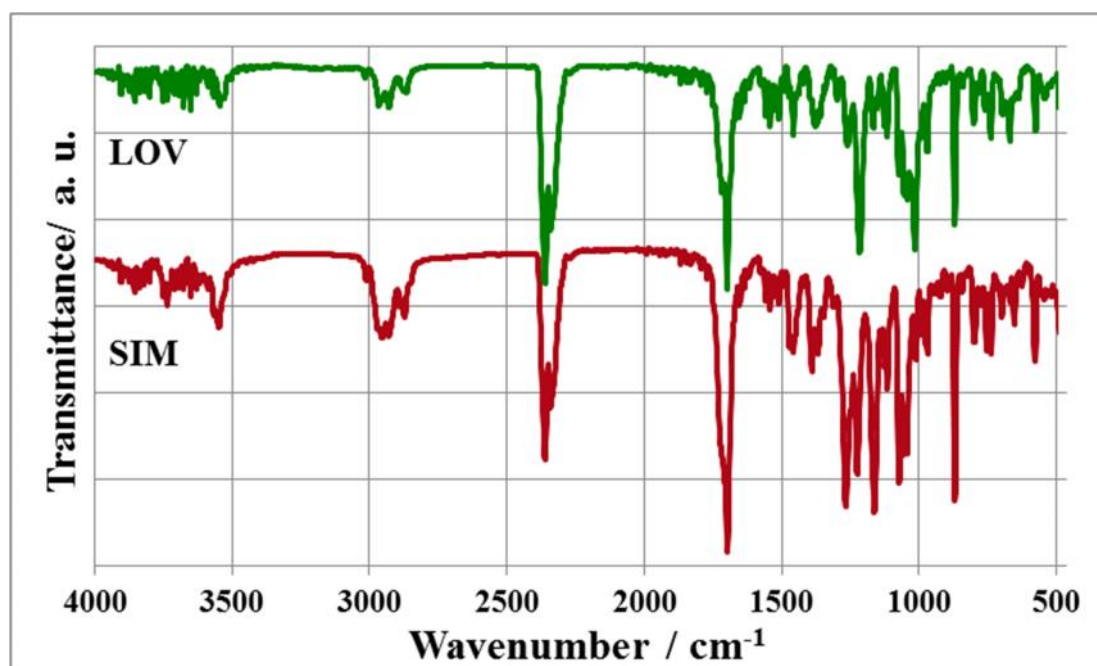


Figura 46. Spectrele ATR-FTIR înregistrate pentru LOV i SIM [55]

Vibra ia de valen a leg turii O–H este observat la 3544 cm^{-1} pentru SIM, respectiv 3548 cm^{-1} pentru LOV, iar benzile caracteristice vibra iilor simetrice i asimetrice ale leg turii C–H apar la $2948, 2923, 2867$ i 1455 cm^{-1} pentru SIM, respectiv la $2968, 2935, 2885$ i 1471 cm^{-1} pentru LOV. Banda caracteristic grup rii C=O esterice apare ca band intens în ambele spectre FTIR, la 1696 cm^{-1} pentru SIM i 1699 cm^{-1} pentru LOV. Vibra iile caracteristice grup rii lactonice C–O–C sunt observate la 1266 cm^{-1} pentru SIM, respectiv la 1218 cm^{-1} pentru LOV, pe când cele caracteristice grup rii esterice se observ la 1162 cm^{-1} pentru SIM i 1126 cm^{-1} pentru LOV. Aceste date sunt în acord i cu rezultatele raportate anterior [45].

Datele termoanalitice TG/DTG/HF au fost ob inute pe o termobalan Perkin-Elmer DIAMOND TG/DTA, folosnd mase de probe de ~8 mg, creuzete de aluminiu i un regim de înc lzire neizoterm ($=7\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$) în atmosfer dinamic de aer, între temperatura ambiental i $500\text{ }^{\circ}\text{C}$ (pentru SIM)/ $550\text{ }^{\circ}\text{C}$ (pentru LOV). De i singura diferen structural între SIM i LOV este gruparea metil de care s-a discutat anterior, comportarea termic a celor dou statine este destul de diferit (Figura 47).

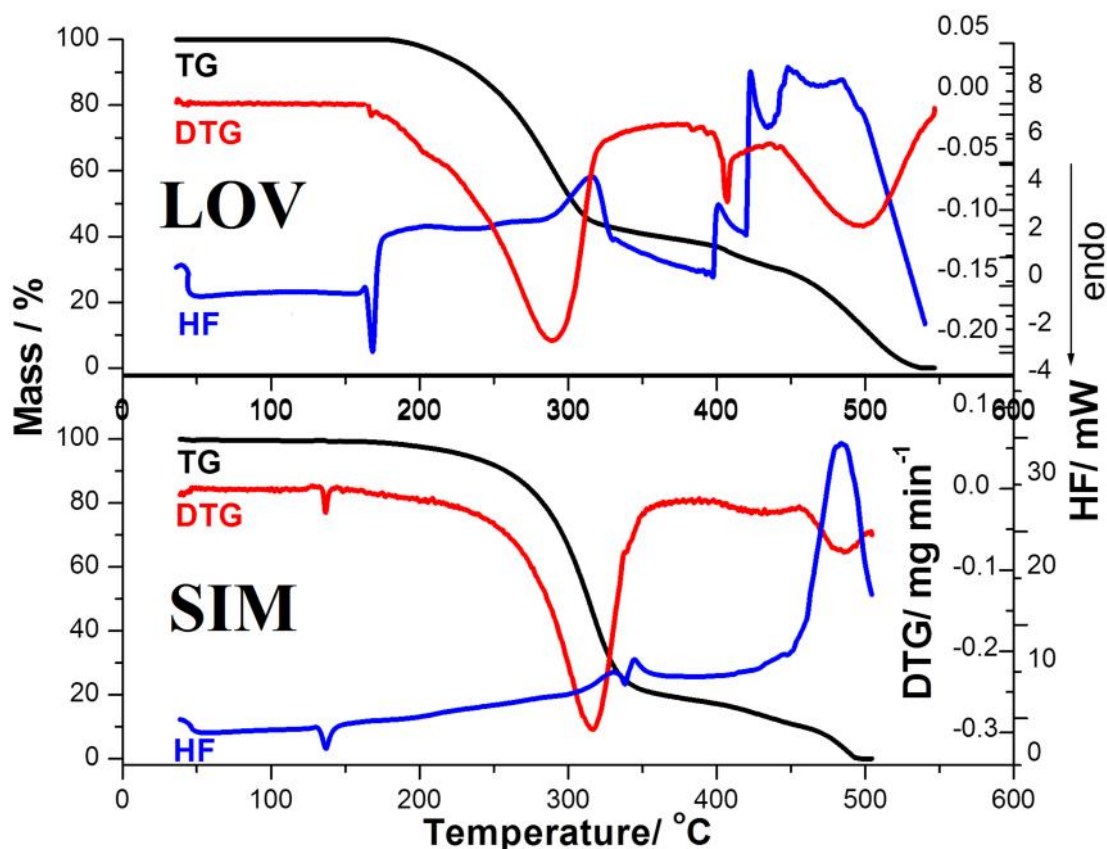


Figura 47. Curbele TG/DTG/HF ob inute în aer la $= 7 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ pentru SIM i LOV [55]

În cazul LOV, curba TG indic o stabilitate termic în aer până la $\sim 190 \text{ }^\circ\text{C}$. Primul proces endoterm relevat de curba de flux termic are loc în intervalul de temperatur $160\text{-}175 \text{ }^\circ\text{C}$, cu un maxim la $172 \text{ }^\circ\text{C}$, atribuit topirii compusului, în acord cu temperatura men ionat în literatur pentru această tranzi ie de faz [265]. Descompunerea termic a LOV în aer este un proces în dou etape, a a cum sugereaz curba TG (Figura 47). Prima etap cu pierdere de mas are loc între $190\text{-}385 \text{ }^\circ\text{C}$ i este înso it de un proces exoterm ($HF_{max} = 314 \text{ }^\circ\text{C}$). Acest proces conduce la o pierdere de mas considerabil , fiind asociat cu procese intense de termoliz ale LOV ($m = 62\%$). A doua etap are loc între $385\text{-}550 \text{ }^\circ\text{C}$ i corespunde arderii complete a produ ilor intermediari de descompunere, LOV fiind complet degradat la $550 \text{ }^\circ\text{C}$, pierderea total de mas fiind peste 99.99% .

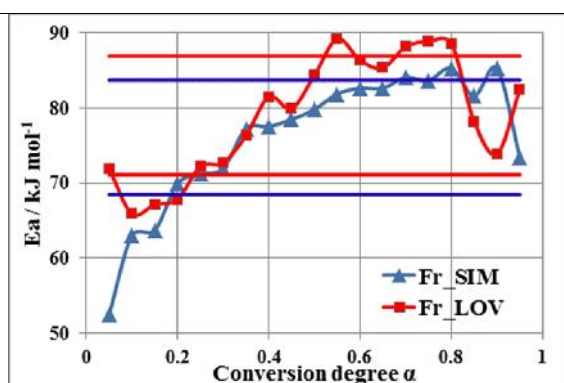
Pentru SIM, primul proces indus termic este de natur endoterm i este eviden iat pe curba HF, fiind vorba de o transformare de faz – topirea, cu un maxim la $136.7 \text{ }^\circ\text{C}$, în acord cu datele din literatur (Figura47) [266]. Al doilea proces identificat este înso it de pierdere de mas i începe la $190 \text{ }^\circ\text{C}$. Acest proces este caracterizat pe curba DTG, prin existen a unui maxim la $316 \text{ }^\circ\text{C}$, fiind înso it de degajare de c ldur i un peak HF_{max} la $330 \text{ }^\circ\text{C}$. Acest etap de descompunere are loc cu pierdere cvazitotal de mas ($\sim 99.9\%$).

Curbele termooanalitice folosite în studiul cinetic au fost înregistrate în condiții identice cu cele menționate mai sus, folosind cinci viteze de încălzire = 5, 7, 10, 12 i 15 °C·min⁻¹. Etapa de termoliz investigat cinetic a fost principala pierdere de mas care are loc între 190-385 °C pentru LOV, respectiv 150-360 °C pentru SIM, folosind acelea i metode men ionate anterior: FR, FWO, KAS i NPK. Dup reprezentarea depeden elor liniarizate ale metodelor FR, FWO i KAS, s-au estimat valorile E_a în func ie de gradul de conversie pe întregul proces (.05 0.95), cu un pas de varia ie pentru de 0.05 (5%).

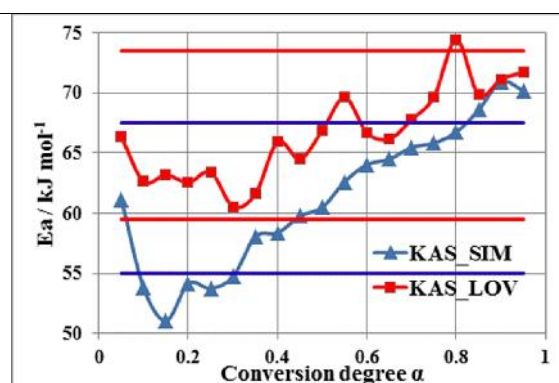
În cazul SIM, metoda diferen ial Friedman indic o varia ie a E_a în jurul mediei (76.1 kJ·mol⁻¹), de la 52.4 pân la 85.2 kJ·mol⁻¹, o dat cu avansul reac iei cuantificat prin . Câteva din aceste valori se g sesc în afara limitei acceptabile de varia ie de ±10 %, sugerând c procesul de degradare este multistadial, mai ales la conversii foarte mici, respectiv foarte mari. Aceast tendin este similar i în cazul LOV, valoarea medie a E_a fiind 79.0 kJ·mol⁻¹. În ceea ce prive te varia ia E_a vs. , valorile sunt mai apropiate de medie, variind între un minim de 65.9 kJ·mol⁻¹ (=0.10) i un maxim de 89.2 kJ·mol⁻¹ (=0.55) (Figura 48a).

Rezultatele ob inute prin metoda Kissinger-Akahira-Sunose (Figura 48b) i Flynn–Wall–Ozawa (Figura 48c) sunt similare. Pentru SIM, la grade de converie mici (< 0.3) este observat un trend descendent al E_a , urmat de unul ascendent pân la =0.90. Valorile medii ale E_a estimate prin metoda KAS sunt 61.3 kJ·mol⁻¹, respectiv pentru FWO 67.0 kJ·mol⁻¹.

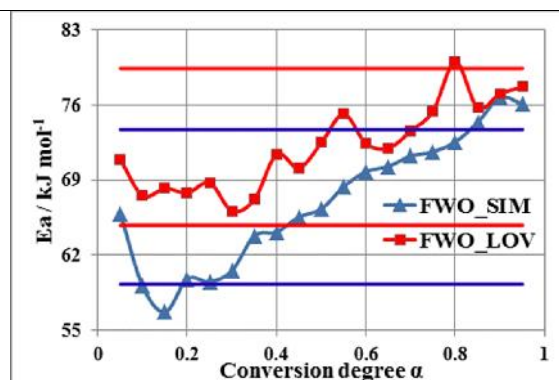
În cazul LOV, varia ia E_a în jurul mediei a fost sub 10% pentru toate gradele de conversie , cu excep ia întâlnit la = 0.80. Valoarea medie a E_a a fost 66.6 kJ·mol⁻¹ utilizând metoda KAS, variind între 61.6 i 74.4 kJ·mol⁻¹, respectiv prin metoda FWO, valoarea medie a fost 72.1 kJ·mol⁻¹, variind între 67.6 i 80.0 kJ·mol⁻¹. Trebuie men ionat faptul c valorile medii ale E_a au fost calculate strict pentru a putea raporta varia ia fiec rei valori fa de media calculat .



(a)



(b)



(c)

Figura 48. Varia ia E_a vs. α conform metodelor Friedman (a), Kissinger-Akahira-Sunose (b) i Flynn-Wall-Ozawa (c) pentru SIM i LOV [55]

Metodele integrale sugereaz un proces de degradare a LOV într-o singur etap , îns rezultatele nu sunt în concordan cu cele oferite de metoda diferen ial FR. Pentru a putea evalua procesele individuale care intervin în procesul global de descompunere, a fost utilizat metoda NPK. Suprafe ele de reac ie 3D ob inute pentru ambele statine sunt prezentate în Figura 49, iar rezultatele în Tabelul 25.

Pentru SIM, principalul proces de descompunere este reprezentat de o transformare chimic (o degradare) caracterizat de o varian explicitat = 70.2% i cu un ordin de reac ie $n= 1/3$. Chiar dac al doilea proces individual de descompunere are o contribu ie mai mic la degradare în termeni de varian explicitat (= 28.5%), contribu ia sa energetic la procesul global este mai mare: 32.7 kJ·mol⁻¹ pentru procesul 2 vs. 30.0 kJ·mol⁻¹ pentru procesul 1 (Tabelul 25).

În cazul LOV, procesul de degradare este similar cu cel observat în cazul SIM, dar în acest caz, ambele procese individuale sunt degrad ri chimice caracterizate de acela i ordin de reac ie ($n= 1$). Contribu iile energetice ale celor dou procese la valoarea medie a E_a sunt comparabile: 36.0 kJ·mol⁻¹ pentru procesul 1 vs. 38.2 kJ·mol⁻¹ pentru procesul 2).

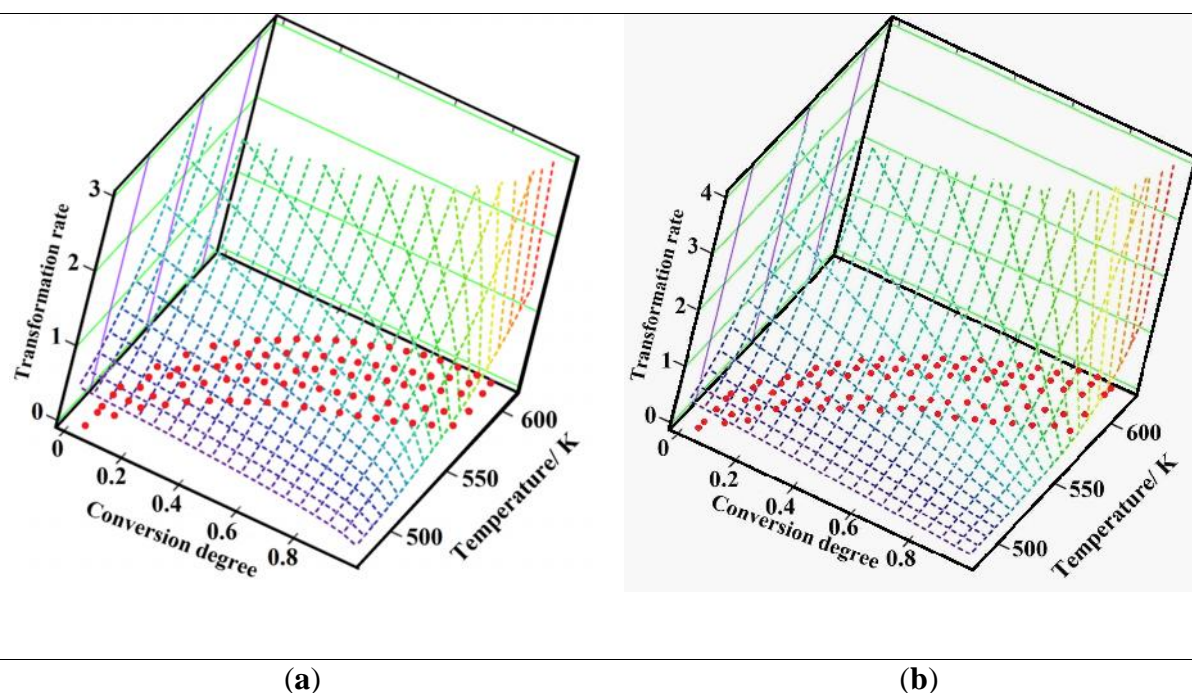


Figura 49. Suprafe ele de reac ie 3D ob inute pentru SIM (a) i LOV (b) [55].

Tabelul 25. Rezultatele analizei cinetice prin metoda NPK pentru SIM i LOV (adaptare dup [55])

Statina	Procesul	Conversion degree (%)	E_a (kJ·mol ⁻¹)	A (s ⁻¹)	n	m	Ecua ia	
							Šestak-Berggren	\bar{E}_a (kJ·mol ⁻¹)
SIM	1	70.2	42.8±4.1	$2.76 \cdot 10^4$	1/3	-	$(1-x)^{1/3}$	62.7 ± 3.7
	2	28.5	114.7±2.9	$4.54 \cdot 10^{11}$	1	-	$(1-x)$	
LOV	1	71.8	50.2±3.2	$1.20 \cdot 10^5$	1	-	$(1-x)$	74.4 ± 2.8
	2	27.9	137.4±1.7	$1.74 \cdot 10^{14}$	1	-	$(1-x)$	

În termeni de energie de activare, cele dou statine prezint o stabilitate asem n toare. Rezultatele pot fi explicate prin faptul c edificiiile moleculare sunt aproximativ identice, diferind strict prin gruparea unei a doua grup ri metil în restul butiric în cazul SIM. Rezultatele furnizate de metoda NPK sunt în acord cu cele ob inute prin metodele izoconversionale (în ceea ce prive te valoarea medie a energiei de activare), îns doar metoda diferen ial indic existen a unui proces de termoliz complex, multistadial, iar separarea în procese individuale a fost posibil doar prin utilizarea metodei NPK, care furnizeaz i tripleta cinetic .

Concluzii par iale

- A fost studiat procesul de descompunere a dou statine similare – LOV i SIM, folosind metode prev zute de protocolul *ICTAC 2000*;
- Rezultatele studiului au fost raportate la studii deja publicate de c tre alte grupuri de cercet tori;
- Datele DTG au fost prelucrate în vederea estim rii parametrilor cinetici ai descompunerii folosind trei metode izoconversionale – una diferen ial (FR) i dou integrale (KAS i FWO);
- Procesarea datelor cinetice prin cele dou tipuri de metode conduce la rezultate contradictorii: metoda diferen ial sugereaz un proces de descompunere multistadial, iar metodele integrale sugereaz un proces de descompunere într-o singur etap ;
- Metoda NPK a condus la ob inerea tripletei cinetice far utilizarea niciunei aproxima ii, i totodat a permis separarea proceselor care intervin în termodegradare.
- Conform metodei NPK, ambele statine sunt degradate prin contribu ia a dou procese individuale de natur chimic , f r transform ri fizice ($n = 0, m = 0$). Contribu ia fiec rui proces la valoarea medie a E_a a fost de aproximativ 50%, din moment ce produsul $k_1 \cdot E_1$ este aproximativ egal cu produsul $k_2 \cdot E_2$ pentru ambele statine.

I.3.3. Studii de compatibilitate a unor substan e de interes farmaceutic cu diver i excipien i în stare solid (studii de preformulare)

Prin excipien i se în eleg acele substan e de provenien natural , de semisintez sau de sintez care sunt utilizate, de obicei în amestecuri, în preparatele finale farmaceutice i care au rolul de a asigura stabilitatea acestora de la preparare i pân la administrare. Excipien ii sunt compu i auxiliari, care nu au efecte farmacologice, fiind considera i „vehicule” pentru substan ele active, i îndeplinind diverse roluri în formularea farmaceutic final : agen i de vehiculare, de diluare, de lubrefiere, de conservare sau corectare a propriet ilor organoleptice etc. Din perspectiva administr rii, excipien ii ajut la ob inerea unei forme farmaceutice u or administrabile, dar totodat pot modula procesele de dezintegrare în organism, cu efect direct asupra ced rii, biodisponibilit ii i farmacocineticii [271].

Tehnologia farmaceutic introduce no iunea de „excipient ideal”, ca fiind acel excipient care nu interac ioneaz cu substan a activ , asigur stabilitatea în timp a formei farmaceutice în care este integrat i nu produce efecte biologice asupra organismului [271].

Ca urmare a celor men ionate anterior, este evident de ce excipien i sunt considera i „compu i cheie” în domeniul tehnologiei farmaceutice, i anume datorit faptului c pot influen a direct timpul de via a al unei formulări (a a numitul „shelf life”), dar mai ales din prisma faptului c pot afecta direct biodisponibilitatea medicamentului. Chiar dac reac iile în stare solid decurg cu viteze mult mai mici decât cele care au loc în solu ie sau în mediu condensat, prezen a excipien ilor în formele farmaceutice solide pot determina apari ia unor interac iuni de natur fizic , dar mai ales chimic , iar *in vivo* pot provoca diverse deregl ri fiziologice [272].

La nivel mondial, exist preocup ri continue pentru evaluarea compatibilit ii între substan e active i excipien i folosind tehnici de screening fizico-chimic complex, printre care se amintesc analiza termic , spectroscopia FTIR, RMN, GC-MS, tehnici HPLC, PXRD etc. Deoarece modalit ile de prezentare a lucr rilor în circuitul ISI legate de compatibilitatea între substan e active i excipien i difer în func ie de grupul de autori, unii men ionând „compatibility studies”, al ii „incompatibility studies”, respectiv „interaction studies”, „solid state characterization of binary mixtures” etc., este destul de dificil a ob ine o imagine de ansamblu asupra num rului de publica ii; de cele mai multe ori, c utarea în baze de date se face dup denumirea substan ei active i unul din cuvintele cheie: „compatibility”, „incompatibility”, „excipient”, „binary mixtures” etc. Pentru a putea eviden ia totu i

contribu iile în domeniu, am realizat o serie de c ut ri în baza de date Thomson Reuters ISI Web of Science [86], rezultatele fiind prezentate în Tabelul 26.

Tabelul 26. Rezultate sintetice privind informa iile furnizate de Thomson Reuters [86]

Cuvinte cheie c utate	Num r rezultate g site	Distribu ia pe ri	Distribu ia pe afilierea de publicare
„pharmaceutical compatibility”	707	SUA: 154 Brazilia: 88 India: 59 China: 49 România: 48 Anglia: 40 Germania: 30 Italia:29 Fran a: 29 Spania: 20	Univ Med Farm Timisoara (25) West University Of Timisoara (24) Universidade De Sao Paulo (18) Pfizer (17) University Of Oradea (14) Universidade Federal De Santa Catarina Ufsc (14) Polytechnic University Of Timisoara (14)
„excipient interaction”	1684	SUA: 414 India: 298 Anglia: 129 Germania: 104 Brazilia: 87 China: 64 Italia:62 Fran a: 53 România: 45 Spania: 20	University Of Copenhagen (29) Roche Holding (29) Glaxosmithkline (24) Purdue University System (23) Pfizer (23) King Abdulaziz University (23) Univ Med Farm Timisoara (22) Bristol Myers Squibb (22)
„excipient compatibility”	621	India: 143 Brazilia: 92 SUA: 81 România: 51 Italia:28 Anglia: 24 Egipt: 20 Polonia: 17 Germania: 16 Spania: 13	Univ Med Farm Timisoara (28) West University Of Timisoara (27) Universidade De Sao Paulo (16) Polytechnic University Of Timisoara (16) Universidade Federal De Pernambuco (15)
„solid state stability pharmaceutical”	1218	SUA: 419 Anglia: 119 Japonia: 76 India: 75 China: 64 Germania: 56 ... România: 19	Pfizer (68) Purdue University System (46) University Of Minnesota Twin Cities (44) University Of Connecticut (30) Merck Company (29) ... Victor Babes Univ Med Pharm (16) West University Of Timisoara (12)

Conform datelor prezentate în Tabelul 26, preocup rile pentru domeniul compatibilit ii între substan e active i excipieni i exist la nivel mondial, fiind sus inute i de

un număr considerabil de publicații. La nivel național, indiferent de modalitatea de c utare, coala timi orean a adus i aduce un număr considerabil de contribu ii în domeniu, situându-se al turi sau chiar dep ind alte centre universitare de prestigiu, dar i marile produc toare de forme farmaceutice. Ca urmare a acestui considerent, se poate concluziona c studiile prezentate în Capitolul I.3.3. sunt de interes nu doar la nivel local, ci i interna ional.

Diverse tehnici instrumentale au fost utilizate pentru evaluarea compatibilit ții sau a incompatibilit ții între substanța activ în amestec cu excipientul studiat. Tehnicile utilizate sunt termooanalitice (TG/DTG/HF), spectroscopie FTIR, DSC i XRD. Toate aceste tehnici au fost prezentate extensiv în studii de specialitate de tip articol original, dar i de tip „review” [272–308]. Exemple de interac iuni între substan a activ i excipien i sunt prezentate în literatur . Astfel, pot ap rea reac ii de transacilare, transesterificare, hidroliz , reac ii Maillard, echilibre acido-bazice etc., îns o dat identificate tipurile de reac ii care apar în stare solid în sisteme farmaceutice, pot fi luate anumite precau ii, astfel încât acestea s nu mai apar i astfel s fie asigurat stabilitatea substan ei active, dar i a formul rilor farmaceutice [308].

Am publicat, pân în prezent împreun cu grupul de cercetare un număr de 13 lucr ri în circuitul ISI privind compatibilitatea dintre anumite substan e active i excipien i, precum diclofenac [5], procain i benzocain [18, 71], simvastatin [23, 45], fosinopril [63], lisinopril i zofenopril [47], lovastatin [21], amiodaron [52], albendazol [36], donepezil [60], levodopa [61] i nortriptilin [64].

Pentru a eviden ia metodologia de cercetare adoptat în Capitolul I.3.3., am ales ca lucrare un studiu de compatibilitate între simvastatin (SMV) i opt excipien i farmaceutici, i anume „**Selection of solid-state excipients for simvastatin dosage forms through thermal and nonthermal techniques**” [45].

În acest studiu, au fost selecta i opt excipien i de uz curent, cu rol diferit în formulare, i anume amidon (St), celuloza microcristalin (MC), lactoza monohidrat (LM), polivinilpirolidona (PVP), silice coloidal (SiO₂), talc (T), citrat de magneziu (MgC) i sorbitol (Sb). Studiile de compatibilitate au fost realizate ini ial pe amestecuri binare preparate la temperatur ambiental (FTIR i PXRD), apoi completate prin analiz termic (TG/DTG/HF), pentru a evalua influen a tratamentului termic asupra stabilit ii componentelor sistemelor binare. Comportarea probelor binare s-a raportat întotdeauna la substan a activ .

Simvastatina este comercializat în numeroase forme generice dup expirarea brevetului, ca substan activ unic per formulare (Zocor®) sau în combina ie cu alte substan e active precum sitagliptin (Juvissync ®), niacin (Simcor ®) sau ezetimib (Vytorin

®) [266]. Ca urmare a acestor considerente, studiile de preformulare pot oferi producătorilor de generice, puncte de plecare în selecția adecvată a excipienților.

Simvastatina (SMV) a fost un produs comercial Fluka de puritate farmaceutică, folosit ca atare, fără purificare suplimentară. Excipienții folosiți au avut tot puritate farmaceutică, fiind folosiți tot fără operații de purificare prealabilă și au avut următoarea proveniență: amidon (Grain Processing Corporation, USA), celuloza microcristalină (ParChem Trading Ltd., USA), lactoza monohidrat (Tablettose 80, Meggle, Germany), polivinilpirolidonă (BASF, Germany), silice coloidală (Aerosil 200 Evonik Degussa, Germany), talc (Luzenac Pharma, Italy), citrat de magneziu (Fluka, Germany) și sorbitol (Sigma, Germany).

Amestecurile binare au fost obținute prin triturarea în mojar de agat timp de aproximativ 5 minute a unor mase egale (raport 1:1, *m:m*) de simvastatină și fiecare excipient în parte. Deși în comprimat, raportul între substanța activă și excipient nu este 1:1, acest raport masic a fost ales pentru a maximiza probabilitatea de a observa posibilă interacțiune.

Compoziția fazelor a fost analizată folosind un aparat de difracție de raze X (Rigaku Ultima IV), care operează la 40 kV și 40 mA. Difractogramele au fost obținute folosind radiația monocromatică CuK α .

Inițial, au fost înregistrate difractogramele corespunzătoare SMV, fiecărui excipient și respectiv cele ale amestecurilor binare (Figura 50). Difractogramele au fost reprezentate grafic ca intensitate (unități arbitrare) în funcție de unghiul de difracție (2θ). Utilizarea acestei metode de analiză este foarte potrivită deoarece fiecare substanță cristalină prezintă un model unic de difracție, iar interacțiunea dintre doi compuși cristalini sau dintre un compus cristalin și unul amorf determină apariția unor modificări în profilul de difracție. Tehnica a fost utilizată cu succes și în alte studii de compatibilitate [274, 275, 277, 287, 295, 306], dar întotdeauna însoțit de cel puțin altă tehnică instrumentală, precum analiza termică.

Profilurile de difracție corespunzătoare simvastatinei, excipienților și amestecurilor binare SMV+Excipient în raport masic 1:1, înregistrate la temperatura de 25 °C, sunt prezentate în Figura 50. Analiza prin PXRD a simvastatinei indică prezența unor maxime de difracție la următoarele valori ale unghiului (valori 2θ): 7.6; 9.25; 9.95; 10.7; 14.75; 15.4; 16.35; 17.05; 17.5; 18.55; 19.2; 21.80; 22.30; 25.65; 26.15; 27.6; 28.05 și 31.65, indicând structura cristalină a substanței active. Difractogramele înregistrate pentru probe din cele opt amestecuri binare nu au indicat nicio modificare față de cele obținute pentru substanțele pure, putând fi considerate suprapuneri între spectrele caracteristice acestora (Figura 50 a-g). În concluzie, această analiză demonstrează faptul că prezența excipientului în condiții ambientale nu influențează cristalinitatea, respectiv natura substanței active.

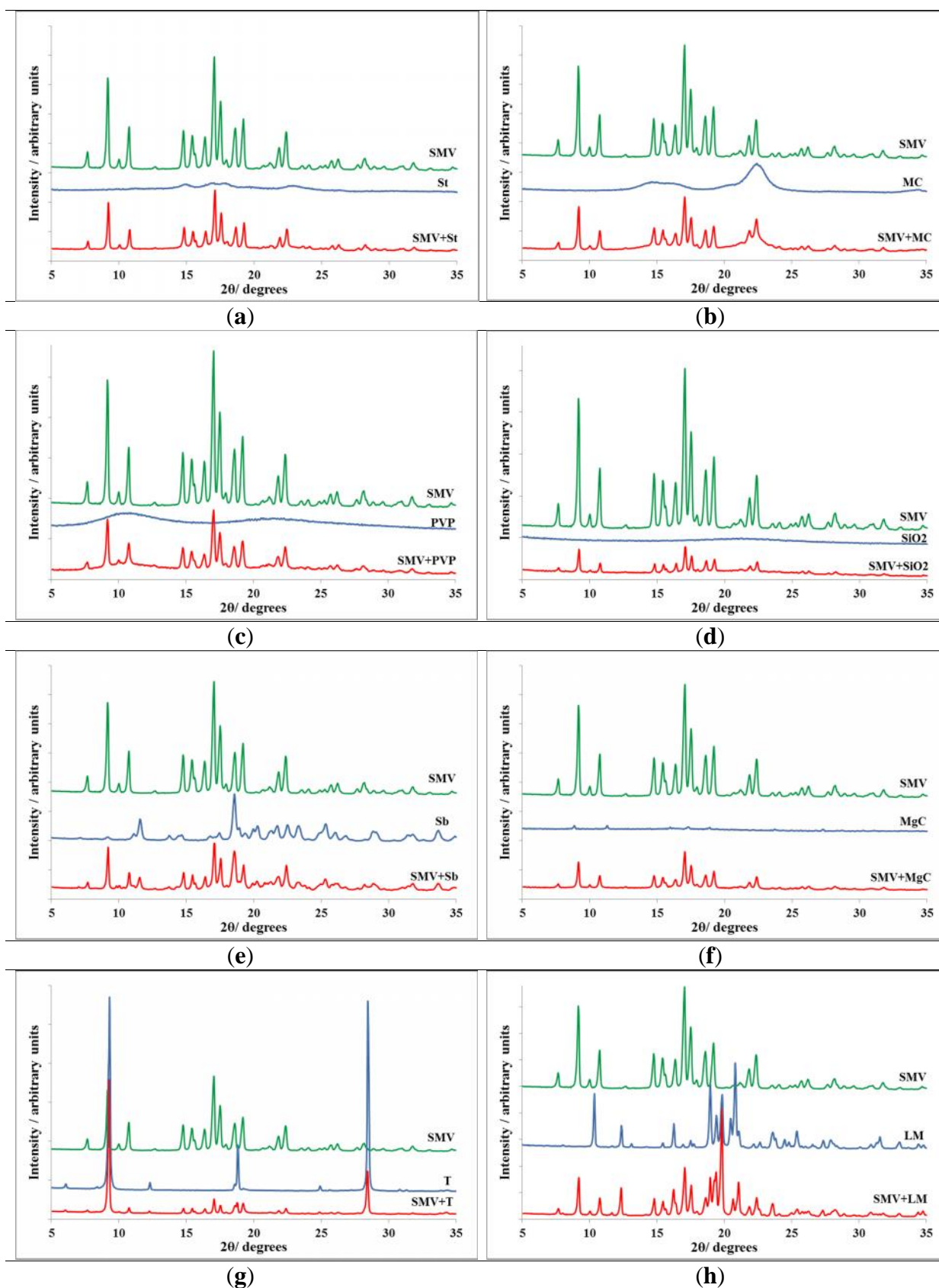


Figura 50. Difractogramele de raze X ob inute pentru SMV, excipient i amestecul binar 1:1 (m/m) în condi ii ambientale, pentru: **(a)** amidon; **(b)** celuloza microcristalin ; **(c)** polivinilpirolidona; **(d)** silice coloidal ; **(e)** sorbitol; **(f)** citrat de magneziu; **(g)** talc i **(h)** lactoz monohidrat [45].

În cazul amestecului SMV+LM au fost observate diferențe între difractogramele înregistrate pentru probele pure vs. amestecul binar (Figura 50h). Astfel, profilul de difracție al amestecului binar nu prezintă semnalul caracteristic la 10.30° corespunzător lactozei monohidrat, sugerând astfel o posibilă interacțiune între componente. Pentru a putea confirma rezultatele furnizate de această tehnică instrumentală, s-au utilizat alte două tehnici instrumentale, și anume spectroscopia FTIR și analiză termică.

Analiza FTIR a fost realizată în modul ATR (Attenuated Total Reflection), obținându-se spectrele ATR-FTIR. A fost utilizat un spectrometru Bruker Vertex 70 (Bruker Daltonik GmbH, Germany) echipat cu un dispozitiv ATR Platinum, Bruker Diamond Type A225/Q. Spectrele au fost înregistrate pe domeniul $4000-400\text{ cm}^{-1}$, cu o rezoluție de 1 cm^{-1} și 64 de scanări. În studii de compatibilitate, tehnica ATR este preferabil față de tehnica clasică de dispersie în pastilă de KBr, deoarece condițiile de prelucrare și obținere a pastilei (triturare, comprimare) pot induce interacțiuni între componente, datorate condițiilor de lucru extreme. În figura 51 sunt prezentate spectrele ATR-FTIR înregistrate pentru SMV, excipienți și amestecurile binare corespunzătoare.

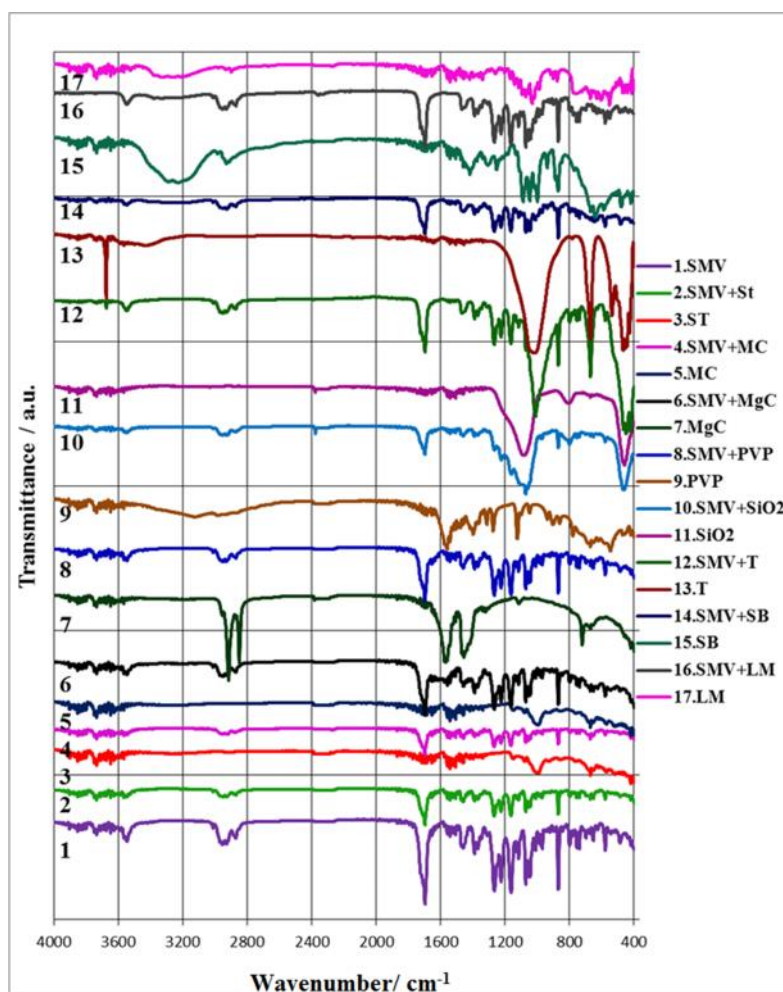


Figura 51. Spectrele ATR-FTIR înregistrate pentru SMV, excipienți și amestecurile binare

[45]

Spectrul ATR-FTIR al SMV a fost prezentat anterior, atribuirile benzilor fiind deja discutate într-un studiu precedent [48]. Deoarece este de a teptat ca interac iunile între SMV i excipien i s apar între grupele func ionale reactive ale acestora i mai pu in probabil între grup ri pu in reactive în condi iile de lucru alese, au fost investigate benzile caracteristice pentru grupele func ionale C–H, O–H, C=O carbonilic esterice, respectiv C–O–C lactonic /esteric . Rezultatele ob inute sunt prezentate în Tabel 27.

Tabelul 27. Rezultatele comparative ob inute prin spectroscopie ATR-FTIR pentru bezile caracteristice SMV ca substan activ pur , respectiv în amestecuri binare (adaptare dup [45])

Proba	Benzile ATR-FTIR caracteristice / cm^{-1}				
	O-H	C-H	C=O	$\delta_{\text{C-O-C}}$ lacton	$\delta_{\text{C-O-C}}$ ester
SMV	3545	2947; 2923; 2868; 1456	1695	1265	1161
SMV+St	3544	2949; 2922; 2866; 1456	1697	1263	1159
SMV+MC	3545	2949; 2918; 2866; 1456	1697	1263	1161
SMV+MgC	3545	2949; 2918; 2866; 1457	1696	1261	1161
SMV+PVP	3543	2945; 2920; 2868; 1457	1697	1265	1161
SMV+SiO ₂	3543	2945; 2918; 2866; 1456	1704	--	--
SMV+T	3541	2944; 2920; 2866; 1448	1690	1260	1161
SMV+SB	3543	2945; 2925; 2868; 1456	1695	1263	1161
SMV+LM	3537	2948; 2920; 2869; 1450	1691; 1720	1260	1161

Analiza spectrelor ATR-FTIR înregistrate pentru amestecurile binare confirm rezultatele ob inute prin tehnica PXRD pentru cinci din cei opt excipien i analiza i, i anume amidon (St), celuloz microcristalin (MC), citrat de magneziu (MgC), polivinilpirolidon (PVP) i sorbitol (Sb).

Spectroscopia FTIR a demonstrat c în condi ii de preparare i p strare ambientale, structura molecular a simvastatinei nu sufer modific ri în prezen a celor cinci excipien i deja aminti i, toate benzile caracteristice SMV g sindu-se la acela i num r de und ca pentru substan a activ , respectiv fiind deplasate în spectru la un num r de und diferit (într-un interval de $\pm 5 \text{ cm}^{-1}$).

Diferen e semnificative sunt observate în cazul unor amestecuri binare, dup cum urmeaz :

- SMV+SiO₂: apare o modificare structural la nivelul ambelor grup ri C–O–C (lactonic i esterice), ambele benzi disp rând din spectru; de asemenea, banda caracteristic grup rii C=O este deplasat la un num r de und mai

mare (1704 cm^{-1}); nu sunt sesizate modific ri majore la nivelul grup rilor de tip O–H i C–H;

- SMV+T: o interac iune probabil este sugerat prin implicarea grup rii C=O, dar poate fi confirmat doar prin analiz termic ;
- SMV+LM: în spectrul ATR-FTIR apar modific ri ale benzilor corespunz toare grup rilor O–H (deplasat în spectru la numere de und mai mici, 3537 cm^{-1}), respectiv C=O (band despicat sub form de dublet, deplasat la 1720 cm^{-1}), rezultatele fiind în acord cu cele ob inute prin PXRD.

Spectroscopia ATR-FTIR ofer , a adar, o serie de informa ii legate de posibila incompatibilitate dintre SMV i silice coloidal , talc, respectiv lactoz monohidrat. Confirmarea datelor ob inute preliminar din cele dou tehnici investiga ionale aplicate asupra probelor men inute în condi ii de temperatur ambiental se poate realiza prin analiza termic a acestora.

Datele termoanalitice TG/DTG/HF au fost înregistrate în atmosfer dinamic de aer în condi ii neizoterme, la o vitez de înc lzure $= 10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ folosind un instrument Perkin-Elmer DIAMOND. Probe cu masa de $\sim 5\text{ mg}$ au fost supuse stresului termic de la temperatur ambiental pân la $500\text{ }^{\circ}\text{C}$, în creuzete deschise din aluminiu. Datele DTA (μV) au fost transformate în date de flux termic HF (mW). Pentru a evalua acurate ea m sur torilor, curbele au fost înregistrate de trei ori i rezultatele au fost practic identice.

Analiza termic este una dintre metodele cele mai sensibile ce pot fi utilizate în studii de preformulare în mediu solid [273, 274, 283–285, 287–298, 302], i ca urmare a fost utilizat i în acest studiu, când au fost înregistrate comparativ datele termoanalitice pentru SMV, excipien i i amestecurile binare (Figurile 52-54).

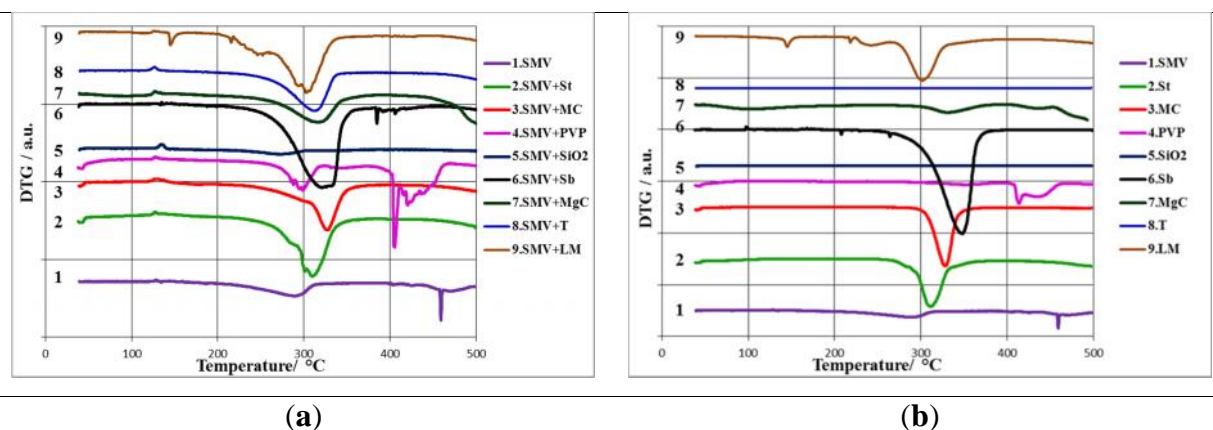


Figura 52. Curbele DTG ob inute pentru SMV i amestecurile binare (a), respectiv excipien i (b) [45]

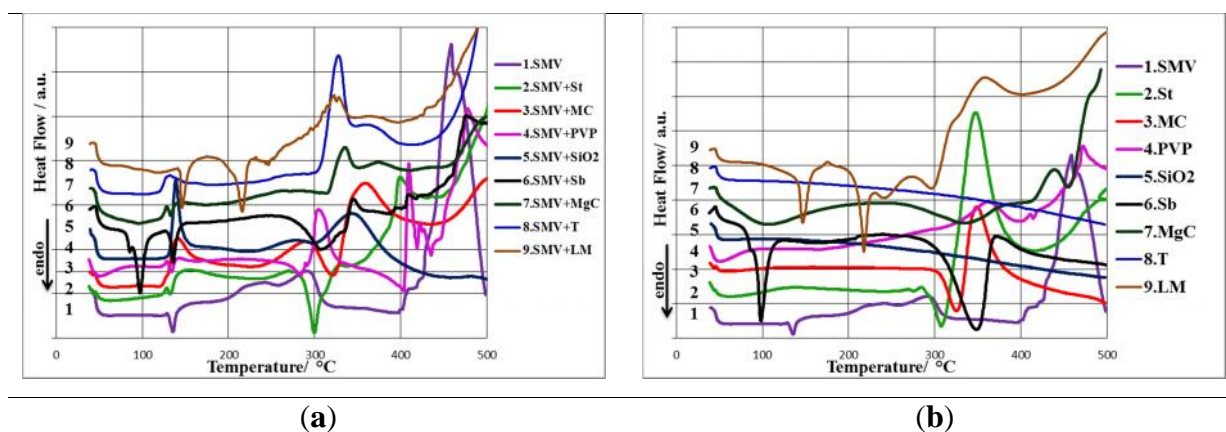


Figura 53. Curbele HF ob inute pentru SMV i amestecurile binare (a), respectiv excipien i (b) [45]

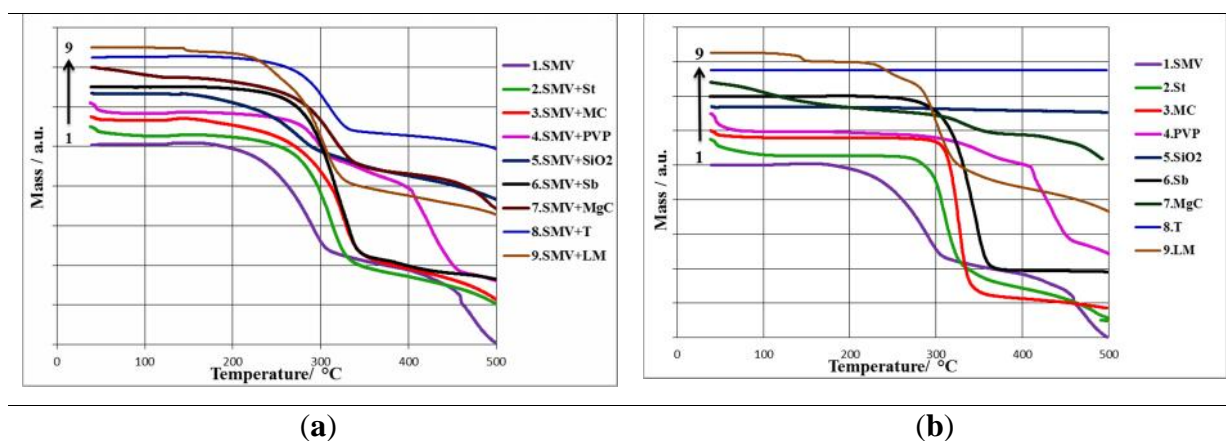


Figura 54. Curbele TG ob inute pentru SMV i amestecurile binare (a), respectiv excipien i (b) [45]

Tratamentul termic la SMV cu o vitez de înc lzire $=10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ în atmosfer oxidativ în regim neizoterm indic un proces de descompunere multistadial. SMV este stabil termic pân la $160\text{ }^{\circ}\text{C}$, când apare un proces cu cre tere de mas . Cre terea de mas este în acord cu structura chimic a SMV, care con ine un inel hexaatomic lactonic, stabil în atmosfer anhidr i inert . Deschiderea ciclului lactonic poate avea loc în prezen a vaporilor de ap , procesul fiind investigat anterior pentru SMV con inut în comprimate [309]. Deschiderea inelului lactonic este confirmat de cre terea de mas observat ($m=3.85\%$), corespunzând la o mas suplimentar de 16.11 g per mol de SMV (cre tere de mas teoretic 4.30%), care corespunde la un mol de ap per mol de SMV.

Procesul ulterior de degradare are loc în domeniul de temperatur $360\text{-}500\text{ }^{\circ}\text{C}$, cu o pierdere de mas rapid în intervalul $450\text{-}500\text{ }^{\circ}\text{C}$. Aceste procese sunt acompaniate de procese pe curba DTG astfel: cre terea de mas apare în intervalul $159\text{-}163\text{ }^{\circ}\text{C}$, respectiv

dou maxime la 282 °C (primul proces), respectiv 459 °C (al doilea proces). Efectele termice asociate acestor procese sunt eviden iate pe curba HF, un efect endoterm cu maxim la 134 °C datorat tranzi iei de faz solid-lichid, urmat de dou efecte exoterme cu maxime la 285 °C i 459 °C (intens), asociate cu procese intense de termoliz a SMV.

Pentru studiile de compatibilitate cu excipien i, cele mai relevante informa ii le ofer curbele HF, prin compararea acestora cu cele înregistrate în condi ii identice pentru compu ii puri. Datele termoanalitice sunt prezentate sintetic în Tabelul 28.

Tabelul 28. Datele termoanalitice ob inute la analiza sistemelor binare (adaptare dup [45])

Proba	Procesul	TG		DTG _{max} / °C	HF		m / %
		T _{inceput} / °C	T _{final} / °C		T _{inceput} / °C	T _{max} / °C	
SMV	I	160	360	282	123	134	56
	II	360	500	459	186	285	43
SMV+ST	I	177	349	307	127	130	66
	II	349	500	-	272	298	16
SMV+MC	I	157	368	323	113	139	72
	II	368	500	-	280	316; 353	18
SMV+PVP	I	192	320	294	124	132	23
	II	321	410	405	254	280; 302	14
	III	410	500	419	366	401; 409	47
SMV+SiO ₂	I	140	288	267	120	134	29
	II	288	500	-	293	337	26
SMV+Sb	I	171	344	316	70	84; 96; 135	83
	II	344	500	384	260	304; 342	13
SMV+MgC	I	43	115	-	47	90	5
	II	115	367	308	127	132	47
	III	367	500	-	252	309; 332	17
SMV+T	I	169	331	305	112	127	34
	II	331	500	-	296	325; 357	9
SMV+LM	I	89	189	144	137	145	3
	II	189	353	244; 301	176	215; 241	68
	III	353	500	-	287	320	12

Conform datelor din Tabelul 28, pentru anumite amestecuri binare profilul termic al SMV prezint o serie de modific ri. Astfel, amestecurile binare cu St, MC, PVP, Sb i MgC indic modificarea nesemnificativ a intervalului de topire în toate cele cinci cazuri, plasarea maximului fiind la ± 5 °C comparativ cu SMV pur . Ca urmare a acestor observa ii, se poate concluziona c diferen ele sunt mici i c interac iunile nu sunt confirmate.

Pentru amestecurile binare cu T i SiO₂, a fost observat dispari ia peakului ce indic topirea SMV, în domeniile respective de temperatur fiind eviden iate procese de descompunere exoterme, cu maxime la 127 i 134 °C. De asemenea, nici pentru amestecul SMV+LM nu se evideniaz procesul de topire al substan ei active, primul proces identificat pe curba HF fiind cel cu maxim la 145 °C, datorat prezen ei excipientului în amestec.

Interac iunile indicate de tratamentul termic al probelor cu con inut de LM, T i SiO₂ sunt evidente, în compara ie cu utilizarea tehnicilor FTIR i PXRD, îns rezultatele trebuie

corelate și cu faptul că la încălzire, viteza de reacție se mărește. Ca urmare, superioritatea tehnicilor termoanalitice se datorează și faptului că interacțiunile pot fi monitorizate vs. temperatură, și ca atare, rezultatele pot fi implementate în industria farmaceutică în alegerea condițiilor optime pentru parametrii de control din fiecare etapă a fluxului tehnologic.

Concluzii parțiale

- Rezultatele obținute în urma studiului confirm utilitatea și sensibilitatea tehnicilor termoanalitice ca metode de analiză în etapa de preformulare vizând dezvoltarea de noi forme farmaceutice solide;
- Tehnicile de screening instrumental furnizează rapid informații despre interacțiunile care apar între componentele unui sistem binar, atât la temperatură ambientală cât și la încălzire;
- Pe baza rezultatelor furnizate de analiza termică, PXRD și spectroscopie ATR-FTIR, nu au fost evidențiate interacțiuni între SMV și St, MC, PVP, Sb, respectiv MgC, iar în cazul amestecurilor cu T, SiO₂ și LM există indicații de interacțiune;
- Pentru obținerea de noi forme farmaceutice solide generice cu conținut de SMV, este recomandat să se evalueze efectul de excipient la utilizarea talcului, silicei coloidale și lactozei monohidrat.

PARTEA a II-a. PLANURI DE EVOLUŢIE ÎN DEZVOLTARE A CARIEREI PROFESIONALE, TIINŢIFICE ÎN ACADEMICE

II.1. Planuri de evoluŢie şi dezvoltare a carierei profesionale şi tiinŢifice

Privind din exteriorul sistemului universitar, „cariera profesională”, este de cele mai multe ori evaluată strict din punct de vedere al contribuŢiei didactice pe care „cadrul didactic” o prestează. Totuşi, pentru cei ce reprezintă corpul profesoral academic actual, lucrurile nu stau chiar aşa, mai ales în contextul actual, în care se pune din ce în ce mai mult accentul pe clasificarea universităŢilor şi ierarhizarea programelor de studii, realizată în conformitate cu prevederile articolului 193 din Legea EducaŢiei NaŢionale nr. 1/2011. Astfel, Unitatea Executivă pentru FinanŢarea ÎnvăŢământului Superior, a Cercetării, Dezvoltării şi Inovării (UEFISCDI), pe baza HG 789/2011, clasifică unităŢile de învăŢământ superior în 3 categorii distincte, şi anume în: 1) *universităŢi centrate pe educaŢie*; 2) *universităŢi de educaŢie şi cercetare tiinŢifică*, respectiv 3) *universităŢi de cercetare avansată în educaŢie*, acestea din urmă reprezentând categoria cu standardul cel mai înalt. Astfel, şi cariera profesională a cadrelor didactice care activează în mediul universitar trebuie să îmbine armonios activitatea didactică cu cea de cercetare tiinŢifică.

II.1.1. Perspectiva de dezvoltare a carierei profesionale în plan didactic

În prezent sunt ConferenŢiar universitar doctor în cadrul disciplinei de Chimie Fizică, Departamentul I, Facultatea de Farmacie, UMF „Victor Babeş” TimiŢoara, fiind titular al cursurilor de *Chimie fizică II* (anul II, specializarea Farmacie), *Principii de Chimie fizică I* (anul I, specializarea AsistenŢă de Farmacie), *Proiectarea medicamentului* (curs opŢional, anul III, specializarea Farmacie), respectiv *Polimorfismul substanŢelor medicamentoase* (curs opŢional, anul V, specializarea Farmacie).

Aşa cum am menŢionat în Capitolul I.1., până în prezent am participat la elaborarea a 7 materiale publicate în edituri recunoscute CNCSIS, atât în calitate de prim autor cât şi coautor, ca suport de studiu pentru disciplina Chimie fizică. Alături de aceste materiale, îmi propun realizarea unor suporturi de curs pentru noile discipline pe care le predau, şi anume:

- Publicarea unui material de curs (carte cu ISBN) legat de *Polimorfismul substanŢelor medicamentoase – principii şi aplicaŢii*, pe baza notelor de curs susinute de studenŢii

anului V Farmacie, în anul universitar 2016/2017. Această disciplină are statutul de disciplină opțională, fiind nou introdusă în programa analitică a Facultății de Farmacie;

- Publicarea unor suporturi de cursuri de laborator (cărți cu ISBN) **actualizate** pentru disciplina *Chimie fizică*, în conformitate cu noile fișe de disciplină și cerințele ARACIS, atât pentru seria Farmacie în limba română, cât și pentru seria Farmacie în limba franceză;
- Elaborarea unui suport de cursuri a unui îndrumător de lucrări practice pentru secția nou înființată Asistență de Farmacie – extensie Lugoj, disciplina *Principii de Chimie fizică*;
- Îmbunătățirea permanentă și adaptarea conținutului cursurilor și a prelegerilor înute studenților cu exemple din domeniul farmaceutic, pentru o mai bună apropiere de conținutul disciplinelor de specialitate (*Tehnologie farmaceutică, Chimie farmaceutică și terapeutică, Toxicologie, Farmacocinetică și Biofarmacie* etc.). Totodată, în elaborarea materialelor se va ține cont și de rezultatele evaluărilor și sugestiile studenților realizate la sfârșitul de semestru;
- Îmbunătățirea și modificarea lucrărilor de laborator efectuate cu studenții de la ciclul Licență, în funcție de infrastructura oferită de UMFVBT prin achizițiile curente.

Totodată, îmi propun următoarele **obiective**:

- Implicarea într-o măsură mai mare în activitatea de coordonare a studenților angrenați în „Programul Voluntariat în activitatea de Dezvoltare Academică (VADA)” implementat la nivelul UMFVBT, prin creșterea numărului de locuri alocate disciplinei de Chimie fizică. Studenții voluntari vor desfășura alături de cadrul didactic activități de tutoriat la lucrări practice din cadrul procesului didactic al Universității de Medicină și Farmacie „Victor Babeș” din Timișoara, conform Legii nr. 78/2014.
- Implementarea în cadrul disciplinelor predate a unor metode interactive de predare și evaluare precum: **Conversația euristică, Brainstorming-ul, Termenii cheie dați în avans, Procedul întrebărilor reciproce**, precum și **Predarea reciprocă**, aceasta din urmă fiind implementat în cadrul unor activități didactice din cadrul disciplinei de Chimie fizică începând cu anul universitar 2011/2012, primind un feedback pozitiv la sfârșitul anului universitar din partea studenților. Această metodă interactivă se realizează uzual cu un grup mic de studenți (seminar sau lucrare practică), când unul (sau mai mulți studenți, în succesiune) preiau rolul cadrului didactic, oferind explicații, punând întrebări celorlalți studenți în legătură cu ce s-a discutat, clarificând eventualele ambiguități și făcând predicții asupra secvențelor următoare. Metoda este folosită atât

pentru studenți, cât și pentru cadrele didactice, care pot evalua modul în care „studentul profesor” a înțeles tematica discutată;

- Introducerea de noi teme în cadrul **Cercului studentesc** „Aplicații ale chimiei fizice în studiul substanțelor farmaceutice și/sau a compușilor cu potențială activitate biologică” existent la nivelul disciplinei, în funcție de necesitățile studenților înscriși;
- Îndrumarea studenților de la licență în ceea ce privește familiarizarea cu unele softuri specifice (AKTS Thermokinetics, SpectraManager, Symyx etc.);
- Coordonarea de noi lucrări prezentate de studenți la manifestări științifice din domeniul (Medis, Gala Studentului Farmacist etc.);
- Susținerea de noi cursuri de Educație Farmaceutică Continuă EFC în cadrul disciplinei (cel puțin două pe an), cu adresabilitate transdisciplinară, pentru Farmaciști, Chimiști, Biologi. Pentru anul universitar 2017/2018, am propus următoarele cursuri: *Noi tendințe privind procesul de degradare a substanțelor de uz farmaceutic din ecosistemul acvatic* (19-21.10.2017, Lectori curs: Prof. univ. Dr. Simu Georgeta-Maria, Conf. univ. Dr. Ledeti Ionuț Valentin), respectiv *Metode de gestionare a formelor farmaceutice expirate* (7-9.06.2018, Lectori curs: Conf. univ. Dr. Ledeti Ionuț Valentin, Prof. univ. dr. Simu Georgeta-Maria).
- Elaborarea de noi teme pentru lucrările de licență, având în vedere faptul că pentru anul 2017/2018 coordonez 4 lucrări de licență (Lezeu Sefora, Kosztor Ioana, Lipsa Roxana, Al Rubaye Zaher), respectiv pentru anul 2018/2019 coordonez 3 lucrări de licență (Baul Bianca-Beatrice, Bîc Sara-Luiza, Cismariu Andreea).
- Încurajarea studenților performenți de a se integra în colectivul de cercetare în care activez, cu perspectiva înscrierii și elaborării studiilor de doctorat sub conducerea mea, după dobândirea abilitării.

II.1.2. Perspectiva de dezvoltare a carierei profesionale în plan științific

În plan științific, îmi propun următoarele obiective:

- Continuarea direcțiilor de cercetare actuale, din tematica 1) prezentată în această teză de abilitare, și anume sinteza de noi derivați heterociclici, respectiv a unor derivați de semisinteză utilizând precursori naturali: în prezent fac parte din comisia de îndrumare a studentei-doctorand Cîrcioban Denisa-Laura, conducător științific Prof. dr. farm. Cristina Dehelean, a cărei tematică de doctorat vizează separarea și funcționalizarea artemisininei, principiul activ din *Artemisia annua*;

- Continuarea direc iilor de cercetare actuale, din tematicile 2) i 3) prezentat în această teză de abilitare, i anume studii de stabilitate termic în stare solid a unor compu i bioactivi i studii de compatibilitate substan activ -excipient: în prezent fac parte din comisia de îndrumare a studentei-doctorand Mihaela Cristea, conduc tor tiințific Prof. dr. chim. Mircea Ștef nescu, a c rei tematic de doctorat vizează studii fizico-chimice i propriet i de complexare ale agentului antihiperlipidemiant atorvastatin ;
- Îndeplinirea tuturor obiectivelor tiin ifice din proiectul PN-II-RU-TE-2014-4-0515, contract nr. 189/01.10.2015, unde îndeplinesc func ia de cercet tor postdoctoral: *Neurodegenerarea i bolile cerebrale: o nou abordare instrumental de analiz i dezvoltare a unor forme farmaceutice*, în care sunt studia i prin tehnicile prezentate în teza de abilitare o serie de deriva i utiliza i în bolile neurodegenerative, precum Huntington, Alzheimer i Parkinson. Pe lâng acest proiect de cercetare, sunt Director de proiect, Programul Parteneriate în Cercetarea Fundamental Inovativ III-C4-PCFI-2016/2017-02, contract nr. 68/04.01.2016: *Cercet ri fundamentale interdisciplinare privind monitorizarea, evaluarea i corelarea proceselor litogenice cu aspectele etiopatogenice prin screening instrumental inovativ*, volum finan are 135000 RON (30000 euro) i vizez îndeplinirea tuturor obiectivelor asumate în propunerea de proiect până la finele anului 2018, respectiv publicarea a cel pu in 15 puncte factor de impact per proiect. Proiectul are un caracter inovativ deoarece implementează noi metodologii de investigare fizico-chimice instrumentale într-un domeniu de mare interes, i anume tiin a medical . Proiectul se va derula concomitent prin contribu iile celor patru echipe, i anume: caracterizarea compu ilor de interes (de puritate analitic), ce stau la baza compozi iei bilei, respectiv a forma iunilor biliare: colesterolul i deriva ii acestuia, respectiv acizii biliari i pigmen ii biliari; recoltarea intraoperativ a concre iunilor litiazice de la pacien i i preg tirea lor pentru analiz , respectiv corelarea compozi iei cu schemele terapeutice i cu istoricul medical al pacientului; caracterizarea compu ilor i a formul rilor farmaceutice utilizate în tratamentul i preven ia hipercolesterolemiei, ameliorarea simptomelor în criza biliar i a recidivei bolii utilizând tehnici instrumentale, respectiv studiul comport rii în stare solid i a degrad rii tuturor probelor utilizând cinetica neizoterm ca metod de investiga ie inovativ în acest domeniu.
- Am depus în prezent o propunere de proiect de cercetare la UEFISCDI, actualmente în evaluare, în cadrul competi iei Tinere Echipe 2016 (PN-II-RU-TE-2014-4-0606), cu titlul „Tehnici instrumentale hifenate i complementare de analiz , control i recuperare a compu ilor bioactivi utiliza i în terapii hormonale”. Propunerea de proiect a fost dezvoltat ca o abordare multi- i interdisciplinar , combinând tehnicile de analiz

instrumental cu tiin ele farmaceutice i problemele de mediu legate de prezen a hormonilor în ecosistem. Prin fazele i obiectivele propuse, este urm rit o analiz complet a substan elor active utilizate în terapia hormonal de substitu ie i în terapia antagoni tilor hormonal, din faza ini ial (design) pân în faza final (expirare i recuperare). Aceste obiective urm resc utilizarea metodelor de analiz termice i instrumentale, urmate de dezvoltarea unor formule de preformulare solide i semi-solide a substan elor active selectate cu diver i excipien i farmaceutici. Studiul comport rii comparative a substan ei active vs. formul ri farmaceutice comerciale prin tehnic *in vitro* în suc gastric artificial va furniza informa ii despre stabilitatea în solu ie. Studiile privind recuperarea i degradarea unor substan e active utilizate în terapiile hormonale din forme farmaceutice expirate vor fi realizate în ultima faz a acestui proiect.

- Elaborarea unor noi direc ii de cercetare, printre care prioritar o consider pe cea care vizeaz recuperarea substan elor active din forme farmaceutice expirate, în acord i cu ultimul obiectiv din propunerea de proiect depus spre evaluare, dar i elaborarea unor protocoale de lucru pentru degradarea avansat a substan elor bioactive din ape reziduale, folosind metodele i fundamentarea iin ific a cineticii reac iilor în solu ie.
- Diseminarea rezultatelor cercet rii efectuate în cadrul proiectelor de cercetare, dar i ca studii realizate prin colaborare, prin publicarea în reviste de prestigiu din zona ro ie i galben , conform datelor raportate de UEFISCDI în iunie 2017:, precum Talanta (zona ro ie), Analyst (zona ro ie), Thermochimica Acta, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry (zona galben), Powder Technology (zona ro ie), Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis (zona ro ie). În prezent, am trimis spre recenzare trei lucr ri: una la Journal Thermal Analysis and Calorimetry, respectiv dou la Revista de Chimie.
- În calitate de viitor conduc tor tiin ific al doctoranzilor, voi implementa împreun cu ace tia studii inter- i transdisciplinare, la grani a dintre chimie i farmacie, prin asimilarea acestora în grupul de cercetare din care fac parte;
- Demararea unei direc ii de cercetare care s vizeze ob inerea unor complex i metalici la cifr de coordinare mare, cu con inut de ioni lantanidici. Tematica a fost deja abordat , prin realizarea lucr rii de licen a studentei Iulia Vladu, cu titlul „Studiul ob inerii i caracteriz rii unor complex i metalici ai cefadroxilului”.
- Diseminarea rezultatelor cercet rii prin comunicarea de rezultate la urm toarele conferin e în domeniu:
 - **4th Central and Eastern European Conference on Thermal Analysis and Calorimetry (CEEC-TAC4)** organizat de Central and Eastern European Committee for Thermal Analysis and Calorimetry în perioada 28-31 august

2017 în Chi in u, Republica Moldova, unde al turi de grupul de cercetare, vom participa cu 9 lucr ri, dup cum urmeaz :

1. *Thermal analysis and kinetic study of prochlorperazine and promethazine* - **Ionu Lede i**, Denisa Cîrcioban, Gabriela Vlase, Marius Murariu, Adriana Lede i, Lenu a-Maria uta, Titus Vlase;
 2. *Preformulation studies for selection of excipients for cholinesterase inhibitor tacrine* - **Ionu Lede i**, Lenu a-Maria uta, Marius Murariu, Denisa Cîrcioban, Gabriela Vlase, Adriana Lede i, Titus Vlase;
 3. *Thermal analysis and kinetic study of deprenyl hydrochloride* - Adriana Lede i, Denisa Cîrcioban, Gabriela Vlase, Angelica Caunii, Lenu a-Maria uta, Titus Vlase, **Ionu Lede i**;
 4. *Thermal analysis and kinetic study of 6-ethyl chenodeoxycholic acid and deoxycholic acid* - Marius Murariu, **Ionu Lede i**, Denisa Cîrcioban, Gabriela Vlase, Carmen Axente, Lenu a-Maria uta, Titus Vlase, Adriana Lede i
 5. *Thermal degradation, kinetic analysis and evaluation of biological activity on human melanoma for artemisinin* - Denisa Cîrcioban, **Ionu Lede i**, Gabriela Vlase, Adriana Lede i, Titus Vlase, Cristina Dehelean
 6. *Thermal characterization of rivastigmine* - Gabriela Vlase, Adriana Lede i, Denisa Cîrcioban, Marius Murariu, Angelica Caunii, **Ionu Lede i**, Titus Vlase
 7. *Thermal behaviour of entacapone, a catechol-O-methyltransferase inhibitor used in Parkinson's disease* - Gabriela Vlase, Paul Albu, Adriana Lede i, Denisa Cîrcioban, Marius Murariu, Angelica Caunii, **Ionu Lede i**, Titus Vlase
 8. *Solid state characterization of human gallstones* - Marius Murariu, Sorin Olariu, Codru Ivan, **Ionu Lede i**, Denisa Cîrcioban, Gabriela Vlase, Adriana Lede i, Titus Vlase, Petru Matusz
 9. *Thermal degradation and kinetic analysis for artemether and artesunate* - Denisa Cîrcioban, Nicolae Doca, **Ionu Lede i**, Gabriela Vlase, Adriana Lede i, Titus Vlase, Cristina Dehelean
- **13th Mediterranean Conference on Calorimetry and Thermal Analysis - Medicta 2017** organizat de AICAT-GICAT (Associazione Italiana di Calorimetria e Analisi Termica e Gruppo Interdivisionale di Calorimetria e Analisi Termica della Società Chimica Italiana) împreun cu celelalte asocia ii

de analiz termic i calorimetrie din ri mediteraneene (AFCAT, CATPOR, GECAT, HSTA), în perioada 24-27 septembrie 2017 în Loano, Italia, unde al turi de grupul de cercetare, vom participa cu 6 lucr ri, dup cum urmeaz :

1. *Thermal stability of Benserazide as pure compound and in binary mixture with Levodopa vs. commercial pharmaceutical formulation* - **Ionu Lede i**, Denisa Cîrcioban, Gabriela Vlase, Marius Murariu, Adriana Lede i, Lenu a-Maria uta, Titus Vlase;
 2. *Comparative thermal stability of some bile acids* - **Ionu Lede i**, Marius Murariu, Sorin Olariu, Codru Ivan, Denisa Cîrcioban, Gabriela Vlase, Adriana Lede i, Titus Vlase, Petru Matusz
 3. *Preformulation studies for selection of excipients for Ursodeoxycholic acid* - Adriana Lede i, **Ionu Lede i**, Lenu a-Maria uta, Marius Murariu, Denisa Cîrcioban, Gabriela Vlase, Titus Vlase;
 4. *Comparative thermal analysis and kinetic study of Apomorphine and Cabergoline* - Adriana Lede i, Denisa Cîrcioban, Gabriela Vlase, Angelica Caunii, Lenu a-Maria uta, Titus Vlase, **Ionu Lede i**;
 5. *Thermal degradation and kinetic study for thermolysis of Tacrine* - Denisa Cîrcioban, **Ionu Lede i**, Gabriela Vlase, Adriana Lede i, Titus Vlase
 6. *Guest-host interactions and complex formation for artemisinin with cyclodextrins* - Denisa Cîrcioban, **Ionu Lede i**, Gabriela Vlase, Adriana Lede i, Titus Vlase, Florin Borcan, Carmen Axente, Cristina Dehelean
- Cooptarea în echipa de cercetare a unor tineri absolven i cu poten ial, respectiv a unor cercet tori experimenta i cu expertiz în tehnici instrumentale complementare, precum ICP-MS, HPLC, SEM, EDAX;
 - Publicarea (în colectiv) a unui capitol legat de metodele termice de analiz a compu ilor de interes farmaceutic într-un volum prestigios, sub egida Editurii Academiei Române.

II.2. Planuri de evolu ie i dezvoltare a carierei academice

Carierea academic este în strâns conexiune cu cariera didactic i profesional . Ca obiective principale în această direc ie voi urm ri:

- Cre terea vizibilit ii grupului de cercetare în care activez în prezent, prin participarea la manifest ri tiin ifice na ionale i interna ionale de prestigiu;
- Publicarea rezultatelor cercet rii în reviste cu factor de impact cât mai mare, care s confirme importan a cercet rilor întreprinse;
- Afilierea la IOSUD UPT i demararea unor noi direc ii de colaborare cu cercet torii care activeaz în cadrul Facult ii de Chimie Industrial i Ingineria Mediului Timi oara;
- Atragerea de studen i absolven i ai studiilor de licen în domeniul Farmacie c tre studii doctorale în domeniul Chimie, ca urmare a lipsei colii Doctorale în domeniul Farmacie în Timi oara;
- Continuarea colabor rii cu membrii Centrului de Analize Termice i Probleme de Mediu din Timi oara, respectiv demararea unor proiecte comune atât pe plan tiin ific cât i didactic;
- Afilierea la organiza ii academice na ionale i interna ionale de prestigiu – în prezent fiind membru în Societatea de Chimie din România, respectiv în International Association of Physical Chemists;
- Crearea rela iilor de colaborare academic cu grupuri de cercetare na ionale i interna ionale – în prezent am demarat o colaborare cu dr. Bo ena Karolewicz i dr. Agata Górnaiak din cadrul Wroclaw Medical University (Departamentul de Tehnologie a formelor farmaceutice), Polonia, privind studii de compatibilitate, stabilitate termic i mecanismul degrad rii unor compu i din clasa statinelor;
- Participarea în comisii de sus inere a tezelor de doctorat în diverse IOSUD-uri, respectiv în comisii de concurs pe post;
- Participarea în comitetul de organizare a unor conferin e interna ionale – în prezent fac parte din comitetul de organizare al CEEC-TAC4;
- Construirea unei cariere academice i a unei reputa ii profesionale prin dezvoltarea aptitudinilor existente, dar i dobândirea unora noi, o dat cu progresul tehnologic i tiin ific;
- Ob inerea abilit rii, respectiv a titlului de Profesor Universitar pe baza meritocra iei i nu a plutocra iei i nepotismului.

PARTEA a III-a. REFERIN E BIBLIOGRAFICE

1. Ledeti IV, Bercean VN, Badea V, Balan M, Csunderlik C. The Alkylation of 1H-5-mercapto-3-phenyl -1,2,4-triazole and 4H-4-amino-5-mercapto-3-phenyl -1,2,4-triazole. *Rev Chim.* 2010;61(9):833–7.
2. Ledeti IV, Bercean VN, Tanase IM, Creanga AA, Badea V, Csunderlik C. New Azomethine Derivatives of 3-substituted-4H-4-amino-5-ethoxycarbonyl-methylsulfanyl-1,2,4-triazoles as Potential Anti-inflammatory Agents. *Rev Chim.* 2010;61(10):937–9.
3. Bercean VN, Ledeti I V, Badea V, Balan M, Csunderlik C. New heterocyclic tioether derived from 3-substituted-4H-4-amino-5-mercapto- 1,2,4-triazole and succinic acid. *Rev Chim.* 2010;61(11):1028–30.
4. Scopus by Elsevier B.V. <https://www.elsevier.com/solutions/scopus>.
5. Tita B, Fulias A, Bandur G, Ledeti I, Tita D. Application of thermal analysis to study the compatibility of sodium diclofenac with different pharmaceutical excipients. *Rev Chim.* 2011;62(4):443–54.
6. Ledeti I, Simu G, Vlase G, Savoiu G, Vlase T, Suta L-M, Popoiu C, Fulias A. Synthesis and Solid-State Characterization of Zn(II) Metal Complex with Acetaminophen. *Rev Chim.* 2013;64(10):1127–30.
7. Suta L-M, Vlaia L, Fulias A, Ledeti I, Hadaruga D, Mircioiu C. Evaluation Study of the Inclusion Complexes of Some Oxicams with 2-hydroxypropyl-beta-cyclodextrin. *Rev Chim.* 2013;64(11):1279–83.
8. Ledeti I, Simu G, Vlase G, Vlase T, Olariu T, Savoiu G, Suta L, Popoiu C, Fulias A. Ni (II) Coordination Compound with Acetaminophen-Synthesis and Characterization. *Rev Chim.* 2014;65(5):556–9.
9. Ledeti I, Bosca CS, Cosma C, Badea V, Todea A, Bercean VN. Study on Obtaining 3-oxolup-20 (29)-en-28-oic Acid (Betulonic Acid) from (3)- lup-20(29)-en-3,28-diol (betulin). *Rev Chim.* 2014;65(11):1289–93.
10. Fulias A, Soica C, Ledeti I, Vlase T, Vlase G, Suta L-M, Belu I. Characterization of Pharmaceutical Acetylsalicylic Acid - theophylline Cocrystal Obtained by Slurry Method Under Microwave Irradiation. *Rev Chim.* 2014;65(11):1281–4.
11. Ledeti I, Vlase T, Vlase G, Suta L-M, Fulias A, Belu I. Synthesis and Solid - state Characterization of a Cobalt (II) Triazolic Complex. *Rev Chim.* 2014;65(8):897–902.
12. Ilici M, Bercean V, Venter M, Ledeti I, Olariu T, Suta L-M, Fulias A. Investigations

- on the Thermal-Induced Degradation of Transitional Coordination Complexes Containing (3H-2-thioxo-1,3,4-thiadiazol-5-yl)thioacetate Moiety. *Rev Chim.* 2014;56(10):1142–5.
13. Olariu T, Suta L-M, Popoiu C, Ledeti IV, Simu GM, Savoiu G, Fulas A. Alternative Synthesis of Paracetamol and Aspirin under Non-conventional Conditions. *Rev Chim.* 2014;65(6):621–3.
 14. Noditi G, Ledeti I, Simu G, Suta LM, Onetiu D, Fulas A. Microwave - assisted Synthesis of Local Anaesthetic Procaine from Benzocaine. *Rev Chim.* 2014;65(1):65–7.
 15. Pinzaru I, Trandafirescu C, Szabadai Z, Mioc M, Ledeti I, Coricovac D, Ciurlea S, Ghiulai RM, Crainiceanu Z, Simu G. Synthesis and Biological Evaluation of Some Pentacyclic Lupane Triterpenoid Esters. *Rev Chim.* 2014;65(7):848–51.
 16. Pupca G, Bucuras V, Vlase G, Vlase T, Fulas A, Ledeti I. Solid-State Analysis of Some Urinary Calculi. *Rev Chim.* 2014;65(9):1058–62.
 17. Simu GM, Ledeti IV, Muntean SG, Fulas A, Citu IM, Soica C, Onisei D, Savoiu-Balint G, Pinzaru I, Ionescu D. Study of the Interaction of Some Pharmaceutical Compounds with Different Cellulosic Supports Study of the Interaction of Some Pharmaceutical Compounds with Different Cellulosic Supports. *Rev Chim - Bucharest.* 2014;65(6):664–70.
 18. Popovici AR, Vlase G, Vlase T, Suta LM, Popoiu C, Ledeti I, Iovanescu G, Fulas A. Local Anesthetic Agents: III. Study of solid dosage forms with pharmaceutical excipients. *Rev Chim.* 2015;66(7):1046–51.
 19. Suta L-M, Ledeti I, Suci L, Hadaruga D, Fulas A, Belu I. Study Regarding the Behaviour of Encapsulated Piroxicam in Liquid Media. *Rev Chim.* 2015;66(5):718–21.
 20. Ivan C, Suta L-M, Olariu T, Ledeti I, Vlase G, Vlase T, Olariu S, Matusz P, Fulas A. Preliminary Kinetic Study for Heterogenous Degradation of Cholesterol - Containing Human Biliary Stones. *Rev Chim.* 2015;66(8):1253–6.
 21. Ledeti I, Vlase G, Vlase T, Ciucanu I, Olariu T, Todea A, Fulas A, Suta L-M. Instrumental Analysis of Potential Lovastatin - excipient Interactions in Preformulation Studies. *Rev Chim.* 2015;66(6):879–82.
 22. Ivan C, Ledeti I, Vlase G, Vlase T, Fulas A, Olariu S. Study of Solid - State Behaviour of Some Human Gallstones. *Rev Chim.* 2015;66(2):265–70.
 23. Ledeti I, Vlase G, Ciucanu I, Olariu T, Fulas A, Suta L-M. Analysis of Solid Binary Systems Containing Simvastatin. *Rev Chim.* 2015;66(2):240–3.

24. Tanasescu RN, Fulas A, Ledeti I, Miron MI, Matusz P. Evaluation of Mineral Composition in the Area of the Cortical Osteoporotic Bone: a Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) and Scanning Electronic Microscopy (SEM) Study. *Rev Chim.* 2015;66(12):2047–50.
25. Udrescu L, Fulas A, Ledeti I, Vlase G, Barvinschi P, Kurunczi L, Sbarcea L. Host - guest System of Zofenopril and Randomly Methylated α -cyclodextrin Preparation, characterization and solubility. *Rev Chim.* 2015;66(1):17–20.
26. Suta LM, Matusz P, Ledeti A, Ivan C, Murariu M, Ledeti I. Embedding of Biliary Calculi in Plastic Materials: A viable solution for increasing their mechanical resistance during sampling. *Mater Plast.* 2016;53(1):19–22.
27. Ledeti A, Vlase G, Ledeti I, Vlase T, Matusz P, Dehelean C, Circioban D, Stelea L, Suta LM. Thermal Stability of Desipramine and Imipramine. *Rev Chim.* 2016;67(2):336–8.
28. Antal D, Pinzaru I, Borcan F, et al. Inclusion Complexes of the Aurone Sulfuretin and the Chalcone Butein from *Cotinus coggygria* Wood in Two Cyclodextrin Types: First data on physico-chemical properties. *Rev Chim.* 2016;67(6):1104–9.
29. Antal D, Ardelean F, Pinzaru I, et al. Effects of cyclodextrin complexation on the anti-cancer effects of *Cotinus coggygria* extract and its constituents, butein and sulfuretin. *Rev Chim.* 2016;67(8):1618–22.
30. Ledeti I, Vlase G, Vlase T, Murariu M, Trandafirescu C, Soica C, Suta LM, Dehelean C, Ledeti A. Non-isothermal Isoconversional Kinetic Study Regarding the Degradation of Albendazole. *Rev Chim.* 2016;67(3):549–52.
31. Ledeti A, Vlase G, Circioban D, Ledeti I, Stelea L, Vlase T, Caunii A. Comparative Stability of Levodopa Under Thermal Stress in both Oxidative and Inert Media. *Rev Chim.* 2016;67(12):2648–50.
32. Murariu MS, Olariu S, Ivan C, Ledeti I, Vlase T, Vlase G, Ledeti A, Iacob N, Miclaus GD, Matusz P. Correlations Between Morphology and Instrumental Analysis of Human Gallstones - Preliminary Study. *Rev Chim.* 2016;67(3):575–9.
33. Suta L-M, Vlase G, Vlase T, Savoiiu-Balint G, Olariu T, Belu I, Ledeti A, Murariu M-S, Stelea L, Ledeti I. Thermal Characterization of Cholesterol in Air vs . Nitrogen Atmosphere. *Rev Chim.* 2016;67(1):84–6.
34. Suta L-M, Vlase G, Vlase T, et al. Solid State Stability of Cholesterol: Preliminary kinetic analysis. *Rev Chim.* 2016;67(1):113–5.
35. Suta LM, Vlase G, Ledeti A, et al. Solid-State Thermal Behaviour of Cholic Acid. *Rev Chim.* 2016;67(2):329–31.

36. Trandafirescu C, Soica C, Ledeti A, Borcan F, Suta L-M, Murariu M, Dehelean C, Ionescu D, Ledeti I. Preformulation Studies for Albendazole: A DSC and FTIR analysis of binary mixtures with excipients. *Rev Chim.* 2016;67(3):463–7.
37. Fulias A, Vlase G, Grigorie C, Ledeti I, Albu P, Bilanin M, Vlase T. Thermal behaviour studies of procaine and benzocaine: Part 1. Kinetic analysis of the active substances under non-isothermal conditions. *J Therm Anal Calorim.* 2013;113(1):265–71.
38. Ledeti I, Fulias A, Vlase G, Vlase T, Bercean V, Doca N. Thermal behaviour and kinetic study of some triazoles as potential anti-inflammatory agents. *J Therm Anal Calorim.* 2013;114(3):1295–305.
39. Soica C, Fulias A, Vlase G, Dehelean C, Vlase T, Ledeti I. Synthesis and thermal behavior of new ambazone complexes with some transitional cations. *J Therm Anal Calorim.* 2014;118(2):1305–11.
40. Fulias A, Vlase G, Soica C, Bercean V, Vlase T, Ledeti I. Thermal behaviour of a modified encapsulation agent: Heptakis-6-iodo-6-deoxy-beta-cyclodextrin. *J Therm Anal Calorim.* 2014;118(2):961–6.
41. Ledeti I, Vlase G, Vlase T, Doca N, Bercean V, Fulias A. Thermal decomposition, kinetic study and evolved gas analysis of 1,3,5-triazine-2,4,6-triamine. *J Therm Anal Calorim.* 2014;118(2):1057–63.
42. Fulias A, Vlase G, Vlase T, Onetiu D, Doca N, Ledeti I. Thermal degradation of B-group vitamins: B1, B2 and B6: Kinetic study. *J Therm Anal Calorim.* 2014;118(2):1033–8.
43. Fulias A, Vlase G, Vlase T, Suta L-M, Soica C, Ledeti I. Screening and characterization of cocrystal formation between carbamazepine and succinic acid. *J Therm Anal Calorim.* 2015;121(3):1081–6.
44. Ledeti I, Vlase G, Vlase T, Fulias A. Kinetic analysis of solid-state degradation of pure pravastatin versus pharmaceutical formulation. *J Therm Anal Calorim.* 2015;121(3):1103–10.
45. Ledeti I, Vlase G, Vlase T, Suta L-M, Todea A, Fulias A. Selection of solid-state excipients for simvastatin dosage forms through thermal and nonthermal techniques. *J Therm Anal Calorim.* 2015;121(3):1093–102.
46. Fulias A, Vlase G, Ledeti I, Suta L-M. Ketoprofen–cysteine equimolar salt: Synthesis, thermal analysis, PXRD and FTIR spectroscopy investigation. *J Therm Anal Calorim.* 2015;121(1):1087–91.
47. Sbarcea L, Udrescu L, Ledeti I, Szabadai Z, Fulias A, Sbarcea C. -Cyclodextrin

- inclusion complexes of lisinopril and zofenopril: physicochemical characterization and compatibility study of lisinopril- β -cyclodextrin with lactose. *J Therm Anal Calorim.* 2016;123(3):2377–90.
48. Ledeti I, Vlase G, Vlase T, Fulias A, Suta LM. Comparative thermal stability of two similar-structure hypolipidemic agents: Simvastatin and Lovastatin—kinetic study. *J Therm Anal Calorim.* 2016;125(2):769–75.
 49. Ledeti I, Vlase G, Vlase T, Bercean V, Fulias A. Kinetic of solid-state degradation of transitional coordinative compounds containing functionalized 1,2,4-triazolic ligand. *J Therm Anal Calorim.* 2015;121(3):1049–57.
 50. Fulias A, Ledeti I, Vlase G, et al. Thermal degradation, kinetic analysis, and apoptosis induction in human melanoma for oleanolic and ursolic acids. *J Therm Anal Calorim.* 2016;125(2):759–68.
 51. Ledeti A, Vlase G, Vlase T, Circioban D, Dehelean C, Ledeti I. Kinetic study for solid-state degradation of mental disorder therapeutic agents: Amitriptyline, desipramine and imipramine. *J Therm Anal Calorim.* 2016;1–11.
 52. Ledeti A, Vlase G, Vlase T, Bercean V, Murariu MS, Ledeti I, Suta LM. Solid-state preformulation studies of amiodarone hydrochloride. *J Therm Anal Calorim.* 2016;126(1):181–7.
 53. Ledeti I, Bercean V, Vlase G, Vlase T, Ledeti A, Suta L-M. Betulonic acid: Study of thermal degradation by kinetic approach. *J Therm Anal Calorim.* 2016;125(2):785–91.
 54. Ledeti A, Vlase G, Vlase T, Circioban D, Dehelean C, Ledeti I, Suta L-M. Binary adduct formation of desipramine with dicarboxylic acids. *J Therm Anal Calorim.* doi: 10.1007/s10973-016-5967-8
 55. Ledeti I, Vlase G, Vlase T, Fulias A, Suta LM. Comparative thermal stability of two similar-structure hypolipidemic agents: Simvastatin and Lovastatin—kinetic study. *J Therm Anal Calorim.* 2016;125(2):769–75.
 56. Ledeti I, Murariu M, Vlase G, Vlase T, Doca N, Ledeti A, Suta L-M, Olariu T. Investigation of thermal-induced decomposition of iodoform. *J Therm Anal Calorim.* 2017;127(1):565–70.
 57. Ledeti A, Vlase G, Vlase T, Circioban D, Dehelean C, Ledeti I. Kinetic study for solid-state degradation of mental disorder therapeutic agents. *J Therm Anal Calorim.* doi: 10.1007/s10973-016-6064-8
 58. Vlase G, Bolcu C, Modra D, Budiul MM, Ledeti I, Albu P, Vlase T. Thermal behavior of phthalic anhydride-based polyesters. *J Therm Anal Calorim.* 2016;126(1):287–92.
 59. Blajovan R, Ledeti I, Vlase G, Ledeti A, Vlase T. Study of thermal induced excipient-

- excipient interactions: polyvinyl alcohol and polyvinylpyrrolidone with other pharmaceutical excipients. *J Therm Anal Calorim.* 2016;126(1):171–9.
60. Ledeti I, Bolintineanu S, Vlase G, Circioban D, Dehelean C, Suta LM, Caunii A, Ledeti A, Vlase T, Murariu M. Evaluation of solid-state thermal stability of donepezil in binary mixtures with excipients using instrumental techniques. *J Therm Anal Calorim.* 2017;1–7.
 61. Ledeti I, Bolintineanu S, Vlase G, Circioban D, Ledeti A, Vlase T, Suta L-M, Caunii A, Murariu M. Compatibility study between antiparkinsonian drug Levodopa and excipients by FTIR spectroscopy, X-ray diffraction and thermal analysis. *J Therm Anal Calorim.* 2017;1–9.
 62. Tita B, Ledeti I, Bandur G, Tita D. Compatibility study between indomethacin and excipients in their physical mixtures. *J Therm Anal Calorim.* 2014;118(2):1293–304.
 63. Sbarcea L, Ledeti I, Dragan L, Kurunczi L, Fulas A, Udrescu L. Fosinopril sodium–hydroxypropyl- β -cyclodextrin inclusion complex. *J Therm Anal Calorim.* 2015;120(1):981–90.
 64. Ledeti I, Budiul M, Matusz P, et al. Preformulation studies for nortriptyline: Solid-state compatibility with pharmaceutical excipients. *J Therm Anal Calorim.* 2017;1–9.
 65. Ledeti I, Fulas A, Vlase G, Vlase T, Doca N. Novel triazolic copper (II) complex: synthesis, thermal behaviour and kinetic study. *Rev Roum Chim.* 2013;58(4–5):441–50.
 66. Niculescu M, Budrugaec P, Ledeti I, Pode V, Birzescu M. Synthesis and Characterization of the Polynuclear Coordination Compound Obtained Through the Reaction of 1,3-propanediol with $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$. *Rev Roum Chim.* 2013;58(4–5):387–92.
 67. Niculescu M, Roșu D, Ledeti I, Miclea M, Budrugaec P. Thermal and spectroscopic studies of Ni (II)-Fe (III) heteropolynuclear coordination compound obtained through the reaction of 1,2-ethanediol with metallic nitrates. *Rev Roum Chim.* 2013;58(6):543–52.
 68. Birzescu M, Miclea M, Roșu D, Ledeti I, Rafaila M, Sasca V, Niculescu M. Synthesis and Thermal Analysis of the Nickel (II) Oxalate Obtained Through the Reaction of Ethylene Glycol with $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. *Rev Roum Chim.* 2014;59(6–7):553–61.
 69. Dehelean CA, Soica C, Ledeti I, Aluas M, Zupko I, Găluțan A, Cinta-Pinzaru S, Munteanu M. Study of the betulin enriched birch bark extracts effects on human carcinoma cells and ear inflammation. *Chem Cent J.* 2012;6(1):137.
 70. Fulas A, Vlase G, Vlase T, Soica C, Heghes A, Craina M, Ledeti I. Comparative

- kinetic analysis on thermal degradation of some cephalosporins using TG and DSC data. *Chem Cent J*. 2013;7(1):70.
71. Fulias A, Ledeti I, Vlase G, et al. Thermal behaviour of procaine and benzocaine Part II: compatibility study with some pharmaceutical excipients used in solid dosage forms. *Chem Cent J*. 2013;7(1):140.
 72. Noditi G, Fulias A, Ledeti I. Methotrexate as coordination complex ligand: Study of interaction with Zn(II). *Dig J Nanomater Biostructures*. 2014;9(1):251–60.
 73. Fulias A, Popoiu C, Vlase G, Vlase T, Onetiu D, Savoiu G, Simu G, Patrutescu C, Iliu G, Ledeti I. Thermoanalytical and Spectroscopic Study on Methotrexate - Active Substance and Tablet. *Dig J Nanomater Biostructures*. 2014;9(1):93–8.
 74. Ledeti I, Alexa A, Bercean V, Vlase G, Vlase T, Suta LM, Fulias A. Synthesis and degradation of Schiff bases containing heterocyclic pharmacophore. *Int J Mol Sci*. 2015;16(1):1711–27.
 75. Buda V, Andor M, Ledeti A, Ledeti I, Vlase G, Vlase T, Cristescu C, Voicu M, Suciul, Tomescu M. Comparative Solid-State Stability of Perindopril Active Substance vs. Pharmaceutical Formulation. *Int J Mol Sci*. 2017;18(1):164.
 76. Fulias A, Ledeti I, Vlase G, Vlase T. Physico-chemical solid-state characterization of pharmaceutical pyrazolones: An unexpected thermal behaviour. *J Pharm Biomed Anal*. 2013;81–82:44–9.
 77. Ledeti I, Ledeti A, Vlase G, Vlase T, Matusz P, Bercean V, Suta L-M, Piciu D. Thermal stability of synthetic thyroid hormone l-thyroxine and l-thyroxine sodium salt hydrate both pure and in pharmaceutical formulations. *J Pharm Biomed Anal*. 2016;125:33–40.
 78. Udrescu L, Sbarcea L, Fulias A, Ledeti I, Vlase T, Barvinschi P, Kurunczi L. Physicochemical characterization of zofenopril inclusion complex with hydroxypropyl- β -cyclodextrin. *J Serbian Chem Soc*. 2014;79(0):1–20.
 79. Trandafirescu C, Ledeti I, Coricovac D, Soica C, Pinzaru I, Dehelean C, Borcan F. Optimization of hollow aliphatic polyurethane particles used as a drug delivery system. *Mater Plast*. 2016;53(2):205–10.
 80. Savoiu-Balint G, Iovanescu G, Popoiu C, et al. Experimental & Clinical Cardiology Evaluation of the Association of Hyperuricaemia with the dysfunction of endothelium. *Exp Clin Cardiol*. 2014;20(1):1269–76.
 81. Ledeti I, Bercean V, Alexa A, Soica C, Suta L-M, Dehelean C, Trandafirescu C, Muntean D, Licker M, Fulias A. Preparation and antibacterial properties of substituted 1,2,4-triazoles. *J Chem*. 2015;2015:1–5.

82. Niculescu M, Ledeti I, Birzescu M, Ledeti I, Birzescu M. New methods to obtain carboxylic acids by oxidation reactions of 1,2-ethanediol with metallic nitrates. *J Organomet Chem.* 2014;767:108–11.
83. Udrescu L, Sbarcea L, Fulias A, Ledeti I, Vlase G, Barvinschi P, Kurunczi L. Physicochemical Analysis and Molecular Modeling of the Fosinopril -Cyclodextrin Inclusion Complex. *J Spectrosc.* 2014;2014:1–14.
84. Fulias A, Vlase G, Todea A, Vlase T, Ledeti I. Thermal Characterization of Polymeric Coatings for Pharmaceutical Dosage Forms. *Macromol Symp.* 2015;352:59–65.
85. Ledeti I, Avram S, Bercean V, et al. Solid-state characterization and biological activity of betulonic acid derivatives. *Molecules.* 2015;20(12):22691–702.
86. Thomson Reuters' ISI Web of Science. :<https://www.webofknowledge.com/>.
87. Google Scholar. <https://scholar.google.ro>.
88. Proiecte de cercetare derulate în cadrul UMFVBT. http://www.umft.ro/proiecte-de-cercetare_94.
89. Chemistry data and literature - Reaxys | Elsevier. <https://www.reaxys.com/reaxys/session.do>],.
90. Thomson Reuters' ISI Web of Science. :<https://www.webofknowledge.com/>.
91. Olczak T, Smiga M, Kwiecien A, Bielecki M, Wrobel R, Olczak M, Ciunik Z. Antimicrobial activity of stable hemiaminals against *Porphyromonas gingivalis*. *Anaerobe.* 2017;44:27–33.
92. Wang X, Liu X, Jiang Y, Zhao Z. Microwave-assisted synthesis and in vitro antibacterial activity of novel steroidal 1,2,4-triazole Schiff base derivatives. *J Chem Res.* doi: 10.3184/174751914X13969706967486
93. Plech T, Kapron B, Paneth A, Kosikowska U, Malm A, Strzelczyk A, Staczek P, Swiatek L, Rajtar B, Polz-Dacewicz M. Search for factors affecting antibacterial activity and toxicity of 1,2,4-triazole-ciprofloxacin hybrids. *Eur J Med Chem.* 2015;97:94–103.
94. Mioc M, Soica C, Bercean V, et al. Design, synthesis and pharmaco-toxicological assessment of 5-mercapto-1,2,4-triazole derivatives with antibacterial and antiproliferative activity. *Int J Oncol.* 2017;50(4):1175–83.
95. Romagnoli R, Baraldi PG, Cruz-Lopez O, et al. Synthesis and antitumor activity of 1,5-disubstituted 1,2,4-triazoles as cis-restricted combretastatin analogues. *J Med Chem.* 2010;53(10):4248–58.
96. Li Y-H, Zhang B, Yang H-K, Li Q, Diao P-C, You W-W, Zhao P-L. Design, synthesis, and biological evaluation of novel alkylsulfanyl-1,2,4-triazoles as cis-restricted

- combretastatin A-4 analogues. *Eur J Med Chem.* doi: 10.1016/j.ejmech.2016.10.051
97. Paterson I, Gardner NM, Guzmán E, Wright AE. Total synthesis and biological evaluation of novel C2-C6 region analogues of dictyostatin. *Bioorganic Med Chem.* 2009;17(6):2282–9.
98. Farghaly TA, Gomha SM, Mousa EK, Elaasser M. Hydrazonoyl chlorides in the synthesis of pyrazolo[5,1-c][1,2,4]triazole derivatives and their biological activities. *J Chem Res.* 2016;40(8):467–70.
99. Gupta D, Jain D. Synthesis, antifungal and antibacterial activity of novel 1,2,4-triazole derivatives. *J Adv Pharm Technol Res.* 2015;6(3):141.
100. Xu J, Cao Y, Zhang J, Yu S, Zou Y, Chai X, Wu Q, Zhang D, Jiang Y, Sun Q. Design, synthesis and antifungal activities of novel 1,2,4-triazole derivatives. *Eur J Med Chem.* 2011;46(7):3142–8.
101. Li B, Zhang D, Zhang Y, Dan Jiang, Li S, Lei W, Wang H, Lin F. Synthesis and evaluation of novel benzene-ethanol bearing 1,2,4-triazole derivatives as potential antimicrobial agents. *Med Chem Res.* 2017;26(1):44–51.
102. Zoumpoulakis P, Camoutsis C, Pairas G, Sokovi M, Glamo lija J, Potamitis C, Pitsas A. Synthesis of novel sulfonamide-1,2,4-triazoles, 1,3,4-thiadiazoles and 1,3,4-oxadiazoles, as potential antibacterial and antifungal agents. Biological evaluation and conformational analysis studies. *Bioorganic Med Chem.* 2012;20(4):1569–83.
103. Szulczyk D, Tomaszewski P, J????wiak M, Kozio?? AE, Lis T, Collu D, Iuliano F, Struga M. Synthesis and biological activities of ethyl 2-(2-pyridylacetate) derivatives containing thiourea, 1,2,4-triazole, thiadiazole and oxadiazole moieties. *Molecules.* doi: 10.3390/molecules22030409
104. Milczarska B, Foks H, Łancucki M, Fruzinski A, Główka ML, Zwolska Z, Augustynowicz-Kope E. Synthesis and tuberculostatic activity of 2-(4,5-disubstituted-[1,2,4] triazol-3-ylsulphonyl)-N-phenyl-acetamides. *Phosphorus, Sulfur Silicon Relat Elem.* doi: 10.1080/10426500601160736
105. Flieger J, Tatarczak-Michalewska M, Wujec M, Pitucha M, wieboda R. RP-HPLC analysis and in vitro identification of antimycobacterial activity of novel thiosemicarbazides and 1,2,4-triazole derivatives. *J Pharm Biomed Anal.* 2015;107:501–11.
106. Gumrukcuoglu NN., Sokmen BB. BB, Ugras SS., Ugras HI. HI, Yanardag RR. Synthesis, antibacterial, antielastase, antiurease and antioxidant activities of new 1,4-butylene bridged bis-1,2,4-triazole derivatives. *J Enzyme Inhib Med Chem.* 2013;28(1):89–94.

107. Koparir M, Orek C, Parlak AE, S??ylemez A, Koparir P, Karatepe M, Dastan SD. Synthesis and biological activities of some novel aminomethyl derivatives of 4-substituted-5-(2-thienyl)-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazole-3-thiones. *Eur J Med Chem.* 2013;63:340–6.
108. Abd El Salam HA, Yakout ESMA, Nawwar GAM, El-Hashash MA, Mossa ATH. Synthesis of some new 1,2,4-triazoles containing oyl moiety and evaluation of their antimicrobial and antioxidant activities. *Monatshefte fur Chemie.* 2017;148(2):291–304.
109. El-Serwy WS, Mohamed NA, Abbas EM, Abdel-Rahman RF. Synthesis and anti-inflammatory properties of novel 1,2,4-triazole derivatives. *Res Chem Intermed.* 2013;39(6):2543–54.
110. Al-Aabdullah ES, Asiri HH, Lahsasni S, Habib EE, Ibrahim TM, El-Emam AA. Synthesis, antimicrobial, and anti-inflammatory activity, of novel s-substituted and n-substituted 5-(1-adamantyl)-1,2,4-triazole-3-thiols. *Drug Des Devel Ther.* 2014;8:505–17.
111. Chhabria MT, Suhagia BN, Brahmksatriya PS, Raval PM. Synthesis and antihyperlipidemic activity of some novel 4-(substitutedamino)-5-substituted-3-mercapto-(4H)-1,2,4-triazoles. *Arzneimittel-Forschung/Drug Res.* doi: 10.1016/j.arabjc.2011.05.009
112. El-Sayed NNE, Abdelaziz MA, Wardakhan WW, Mohareb RM. The Knoevenagel reaction of cyanoacetylhydrazine with pregnenolone: Synthesis of thiophene, thieno[2,3-d]pyrimidine, 1,2,4-triazole, pyran and pyridine derivatives with anti-inflammatory and anti-ulcer activities. *Steroids.* 2016;107:98–111.
113. Zhou C-H, Wang Y. Recent Researches in Triazole Compounds as Medicinal Drugs. *Curr Med Chem.* doi: 10.2174/092986712803414213
114. El-Sherief HAH, Hozien ZA, El-Mahdy AFM, Sarhan AAO. One pot synthesis and reactions of novel 5-amino[1,3]thiazolo[3,2-b][1,2,4] triazoles. *Arkivoc*
115. Foroumadi A, Mirzaei M, Emami S, Salari P, Ghaffari F, Amini M, Shafiee A. Synthesis and antifungal activity of some new 1,2,4-triazolo[3,4-b] [1,3,4]thiadiazines. *Daru.* 2002;10(1):34–7.
116. Patel NB, Khan IH, Rajani SD. Antimycobacterial and antimicrobial study of new 1,2,4-triazoles with benzothiazoles. *Arch Pharm (Weinheim).* 2010;343(11–12):692–9.
117. Shivarama Holla B, Veerendra B, Shivananda MK, Poojary B. Synthesis characterization and anticancer activity studies on some Mannich bases derived from 1,2,4-triazoles. *Eur J Med Chem.* doi: 10.1016/S0223-5234(03)00128-4

118. Arora S, Aneja DK, Kumar M, Sharma C, Prakash O. Thermal studies of some biological active oxadiazoles: Non-isothermal kinetic study of potent antibacterial 2-(4-chlorophenyl)-5-(thiophen-2-yl)-1,3, 4-oxadiazole. *J Therm Anal Calorim.* doi: 10.1007/s10973-012-2439-7
119. Perlovich GL, Blokhina S V., Manin NG, Volkova T V., Tkachev V V. Polymorphism and solvatomorphism of bicalutamide: Thermophysical study and solubility. *J Therm Anal Calorim.* doi: 10.1007/s10973-012-2540-y
120. Kratochvil B, Husak M, Jegorov A. Polymorphism and solvatomorphism of solid pharmaceutical substances. *Chem List.* doi: review pharmaceutical drug crystal polymorphism solvatomorphism
121. de Mendonça CMS, de Barros Lima IP, Aragão CFS, Gomes APB. Thermal compatibility between hydroquinone and retinoic acid in pharmaceutical formulations. *J Therm Anal Calorim.* doi: 10.1007/s10973-013-2941-6
122. Gümürükçüo lu N, U ra S, U ra HI, Çakir Ü. Synthesis, extraction and antibacterial studies of some new bis-1,2,4-triazole derivatives part II. *J Incl Phenom Macrocycl Chem.* 2012;73(1–4):359–67.
123. Arafa WAA. Preparation and evaluation of antibacterial activity of some new 1,2,4-triazole derivatives. *J Heterocycl Chem.* 2010;47(5):1109–15.
124. Godhani DR, Jogel AA, Sanghani AM, Mehta JP. Synthesis and biological screening of 1,2,4-triazole derivatives. *Indian J Chem - Sect B Org Med Chem.* 2015;54B(4):556–64.
125. Iradyan MA, Iradyan NS, Minasyan NS, Paronikyan R V., Stepanyan GM. Synthesis and Antibacterial Activity of 3,6-Diaryl-7H-[1,2,4]Triazolo[3,4-b][1,3,4]Thiadiazines. *Pharm Chem J.* 2016;50(1):10–5.
126. Lin Y, Petty SR, Lovell FM, Perkinson NA, Lang SA. The synthesis of 4-substituted-4 *H* -1,2,4-triazole-3-thiols and 3-methylthio-4-substituted-4 *H* ,2,4-triazoles. *J Heterocycl Chem.* 1980;17(5):1077–80.
127. Nutiu M, Bercean VN, Birau M. Synthesis of some 4-aryl-thiosemicarbazides. *Ann West Univ Timisoara, Ser Chim.* 1996;7:7–10.
128. Pertino MW, Verdugo V, Theoduloz C, Schmeda-Hirschmann G. Synthesis and antiproliferative activity of some novel triazole derivatives from dehydroabiatic acid. *Molecules.* doi: 10.3390/molecules19022523
129. Bercean VN, Badea V, Sisu E, Bindila L, Csunderlik C. Simplified method for obtaining 3-aryl-5-mercapto-1,2,4-triazoles. *Rev Chim - Bucharest.* 2003;54(4):368–9.
130. Creanga AA, Bercean VN, Badea V, Patras I, Cocarta A, Tatu C, Csunderlik C.

- Comparative Study for the Synthesis of Some 5-(2-, 3-, 4-pyridyl)Substituted-4H-4-Amino-3-Mercapto-1,2,4-Triazoles. *Rev Chim (Bucharest, Rom.* 2010;61(12):1169–72.
131. Karrouchi K, Chemlal L, Taoufik J, Cherrah Y, Radi S, El Abbes Faouzi M, Ansar M. Synthesis, antioxidant and analgesic activities of Schiff bases of 4-amino-1,2,4-triazole derivatives containing a pyrazole moiety. *Ann Pharm Françaises.* 2016;74(6):431–8.
132. Aouad MR. Synthesis, characterization and antimicrobial evaluation of some new schiff, mannich and acetylenic mannich bases incorporating a 1,2,4-triazole nucleus. *Molecules.* 2014;19(11):18897–910.
133. Sumangala V, Poojary B, Chidananda N, Arulmoli T, Shenoy S. Synthesis and biological evaluation of some Schiff bases of 4-amino-5-(4-methylsulfonyl)benzyl-2,4-dihydro-3H-[1,2,4]-triazole-3-thione. *Med Chem Res.* 2013;22(6):2921–8.
134. Aswathanarayanappa C, Bheemappa E, Bodke YD, Biradar S, Sindhe A, Peethambar SK, Ningegowda R. Synthesis, invitro and invivo anti-hyperglycemic activity of 1,2,4-triazolebenzylidene and 1,3,4-thiadiazole derivatives. *Int J PharmTech Res.* 2014;6(4):1245–55.
135. Sokmen BB, Gumrukcuoglu N, Ugras S, Sahin H, Sagkal Y, Ugras HI. Synthesis, Antibacterial, Antiurease, and Antioxidant Activities of Some New 1,2,4-Triazole Schiff Base and Amine Derivatives. *Appl Biochem Biotechnol.* 2014;175(2):705–14.
136. Ameri A, Khodarahmi G, Hassanzadeh F, Forootanfar H, Hakimelahi GH. Novel Aldimine-Type Schiff Bases of 4-Amino-5-[(3,4,5-trimethoxyphenyl)methyl]-1,2,4-triazole-3-thione/thiol: Docking Study, Synthesis, Biological Evaluation, and Anti-Tubulin Activity. *Arch Pharm (Weinheim).* 2016;662–81.
137. Li X, Li X-Q, Liu H-M, Zhou X-Z, Shao Z-H. Synthesis and evaluation of antitumor activities of novel chiral 1,2,4-triazole Schiff bases bearing -butenolide moiety. *Org Med Chem Lett.* 2012;2(1):26.
138. Chohan ZH, Scozzafava A, Supuran CT. Unsymmetrical 1,1 -disubstituted Ferrocenes: Synthesis of Co(ii), Cu(ii), Ni(ii) and Zn(ii) Chelates of Ferrocenyl -1-thiadiazolo-1 -tetrazole, -1-thiadiazolo-1 -triazole and -1-tetrazolo-1 -triazole with Antimicrobial Properties. *J Enzyme Inhib Med Chem.* 2002;17(4):261–6.
139. Prasanna Kumar BN, Mohana KN, Mallesha L. Synthesis and antiproliferative activity of some new fluorinated Schiff bases derived from 1,2,4-triazoles. *J Fluor Chem.* 2013;156:15–20.
140. Küçükgülzel , Güniz Küçükgülzel , Rollas S, Ötük-Sanı G, Özdemir O, Bayrak , Altu T, Stables JP. Synthesis of some 3-(Arylalkylthio)-4-alkyl/aryl-5-(4-

- aminophenyl)-4H-1,2,4-triazole derivatives and their anticonvulsant activity. *Farm.* 2004;59(11):893–901.
141. Ansari KR, Quraishi MA, Singh A. Schiff's base of pyridyl substituted triazoles as new and effective corrosion inhibitors for mild steel in hydrochloric acid solution. *Corros Sci.* doi: 10.1016/j.corsci.2013.10.009
142. Quraishi MA, Sudheer, Ansari KR, Ebenso EE. 3-Aryl substituted triazole derivatives as new and effective corrosion inhibitors for mild steel in hydrochloric acid solution. *Int. J. Electrochem. Sci.*
143. Sadeghi Erami R, Amirnasr M, Raeissi K, Momeni MM, Meghdadi S. Multidentate Schiff bases as new and effective corrosion inhibitors for mild steel in hydrochloric acid solution: An electrochemical and quantum chemical assessment. *J Iran Chem Soc.* doi: 10.1007/s13738-015-0696-7
144. Brandt CD, Kitchen JA, Beckmann U, White NG, Jameson GB, Brooker S. Synthesis and Structures of 3,5-disubstituted 1,2,4-triazole Head Units and Incorporation of 3,5-dibenzoyl-1,2,4-triazolate into New [2 + 2] Schiff-Base Macrocyclic Complexes. *Supramol Chem.* 2007;19(1–2):17–27.
145. MOBINIKHALEDI A, FORUGHIFAR N, KALHOR M. An efficient synthesis of schiff bases containing benzimidazole moiety catalyzed by bismuth trichloride under microwave irradiation. *Turk J Chem.* 2010;34(1):367–73.
146. Foroughifar N, Mobinikhaledi A, Ebrahimi S, Moghanian H, Fard MAB, Kalhor M. Synthesis of a new class of azathia crown macrocycles containing two 1,2,4-triazole or two 1,3,4-thiadiazole rings as subunits. *Tetrahedron Lett.* 2009;50(7):836–9.
147. Bayrak H, Demirbas A, Demirbas N, Karaoglu SA. Synthesis of some new 1,2,4-triazoles starting from isonicotinic acid hydrazide and evaluation of their antimicrobial activities. *Eur J Med Chem.* 2009;44(11):4362–6.
148. Khanmohammadi H, Abnosi MH, Hosseinzadeh A, Erfantalab M. Synthesis, biological and computational study of new Schiff base hydrazones bearing 3-(4-pyridine)-5-mercapto-1,2,4-triazole moiety. *Spectrochim Acta - Part A Mol Biomol Spectrosc.* 2008;71(4):1474–80.
149. Soni B, Ranawat MS, Sharma R, Bhandari A, Sharma S. Synthesis and evaluation of some new benzothiazole derivatives as potential antimicrobial agents. *Eur J Med Chem.* 2010;45(7):2938–42.
150. Badwaik VB, Aswar a. S. Synthesis, characterization, and biological studies of some Schiff base complexes. *Russ J Coord Chem.* 2007;33(10):755–60.
151. Mostafa YA-H, Hussein MA, Radwan AA, Kfayf AE-HN. Synthesis and antimicrobial

- activity of certain new 1,2,4-triazolo[1,5-a]pyrimidine derivatives. *Arch Pharm Res.* 2008;31(3):279–93.
152. Cansiz A, Koparir M, Demirda A. Synthesis of some new 4,5-substituted-4H-1,2,4-triazole-3-thiol derivatives. *Molecules.* 2004;9(4):204–12.
153. Giannousi K, Avramidis I, Dendrinou-Samara C. Synthesis, characterization and evaluation of copper based nanoparticles as agrochemicals against *Phytophthora infestans*. *RSC Adv.* 2013;3(44):21743.
154. Lo KK-W, Li SP-Y. Utilization of the photophysical and photochemical properties of phosphorescent transition metal complexes in the development of photofunctional cellular sensors, imaging reagents, and cytotoxic agents. *RSC Adv.* 2014;4(21):10560.
155. Gaber M, El-Ghamry H, Atlam F, Fathalla S. Synthesis, spectral and theoretical studies of Ni(II), Pd(II) and Pt(II) complexes of 5-mercapto-1,2,4-triazole-3-imine-2a-hydroxynaphthalene. *Spectrochim Acta - Part A Mol Biomol Spectrosc.* 2015;137:919–29.
156. Berezovskii GA, Bushuev MB, Pishchur DP, Lavrenova LG. Heat capacity of polynuclear $\text{Fe}(\text{HTrz})_3(\text{B}10\text{H} \ 10) \cdot \text{H}_2\text{O}$ and trinuclear $[\text{Fe}_3(\text{PrTrz})_6(\text{ReO}_4)_4(\text{H}_2\text{O})_2](\text{ReO}_4)_2$ complexes (HTrz=1,2,4-triazole, PrTrz=4-propyl-1,2,4-triazole) manifesting $1A_1 \Leftrightarrow 5T_2$ spin transition. *J Therm Anal Calorim.* 2008;93(3):999–1002.
157. Badea M, Olar R, Marinescu D, Vasile G. Thermal behavior of some new triazole derivative complexes. In: *J. Therm. Anal. Calorim.* pp 209–14
158. Calu L, Badea M, Chifiriuc MC, et al. Synthesis, spectral, thermal, magnetic and biological characterization of Co(II), Ni(II), Cu(II) and Zn(II) complexes with a Schiff base bearing a 1,2,4-triazole pharmacophore. *J Therm Anal Calorim.* 2015;120(1):375–86.
159. Qin J, Lei N, Zhu H-L. Synthesis, structural characterization, molecular docking, and urease inhibition studies of dinuclear cobalt(II) complexes derived from 3,5-bis(pyridin-2-yl)-4-amino-1,2,4-triazole. *J Coord Chem.* 2014;67(7):1279–89.
160. Dash C, Shaikh MM, Butcher RJ, Ghosh P. Highly convenient regioselective intermolecular hydroamination of alkynes yielding ketimines catalyzed by gold(I) complexes of 1,2,4-triazole based N-heterocyclic carbenes. *Inorg Chem.* 2010;49(11):4972–83.
161. Dash C, Shaikh MM, Butcher RJ, Ghosh P. A comparison between nickel and palladium precatalysts of 1,2,4-triazole based N-heterocyclic carbenes in hydroamination of activated olefins. *Dalt Trans.* 2010;39(10):2515.

162. Li DD, Tian JL, Gu W, Liu X, Yan SP. A novel 1,2,4-triazole-based copper(II) complex: synthesis, characterization, magnetic property and nuclease activity. *J Inorg Biochem.* 2010;104(2):171–9.
163. Li D-D, Tian J-L, Gu W, Liu X, Yan S-P. A novel 1,2,4-triazole-based copper(II) complex: Synthesis, characterization, magnetic property and nuclease activity. *J Inorg Biochem.* 2010;104(2):171–9.
164. Tardito S, Bussolati O, Maffini M, et al. Thioamido coordination in a thioxo-1,2,4-triazole copper(II) complex enhances nonapoptotic programmed cell death associated with copper accumulation and oxidative stress in human cancer cells. *J Med Chem.* 2007;50(8):1916–24.
165. Gaccioli F, Franchi-Gazzola R, Lanfranchi M, Marchiò L, Metta G, Pellinghelli MA, Tardito S, Tegoni M. Synthesis, solution equilibria and antiproliferative activity of copper(II) aminomethyltriazole and aminomethylthioxotriazoline complexes. *J Inorg Biochem.* 2005;99(8):1573–84.
166. Tyagi P, Chandra S, Saraswat BS, Yadav D. Design, spectral characterization, thermal, DFT studies and anticancer cell line activities of Co(II), Ni(II) and Cu(II) complexes of Schiff bases derived from 4-amino-5-(pyridin-4-yl)-4H-1,2,4-triazole-3-thiol. *Spectrochim Acta - Part A Mol Biomol Spectrosc.* 2015;145:155–64.
167. Tyagi P, Tyagi M, Agrawal S, Chandra S, Ojha H, Pathak M. Synthesis, characterization of 1,2,4-triazole Schiff base derived 3d-metal complexes: Induces cytotoxicity in HepG2, MCF-7 cell line, BSA binding fluorescence and DFT study. *Spectrochim Acta - Part A Mol Biomol Spectrosc.* 2017;171:246–57.
168. Chohan ZH, Sumrra SH, Youssoufi MH, Hadda TB. Metal based biologically active compounds: Design, synthesis, and antibacterial/antifungal/cytotoxic properties of triazole-derived Schiff bases and their oxovanadium(IV) complexes. *Eur J Med Chem.* 2010;45(7):2739–47.
169. Tabatabaee M, Bordbar M, Ghassemzadeh M, Tahriri M, Tahrir M, Mehri Lighvan Z, Neumüller B. Two new neutral copper(II) complexes with dipicolinic acid and 3-amino-1H-1,2,4-triazole formed under different reaction conditions: Synthesis, characterization, molecular structures and DNA-binding studies. *Eur J Med Chem.* 2013;70:364–71.
170. Jha A, Murthy YLN, Durga G, Sundari TT. Microwave-assisted synthesis of 3,5-dibenzyl-4-amino-1,2,4-triazole and its diazo ligand, metal complexes along with anticancer activity. *E-J Chem.* 2010;7(4):1571–7.
171. Hanif M, Chohan ZH. Design, spectral characterization and biological studies of

- transition metal(II) complexes with triazole Schiff bases. *Spectrochim Acta - Part A Mol Biomol Spectrosc.* 2013;104:468–76.
172. Gaber M, El-Wakiel NA, El-Ghamry H, Fathalla SK. Synthesis, spectroscopic characterization, DNA interaction and biological activities of Mn(II), Co(II), Ni(II) and Cu(II) complexes with [(1H-1,2,4-triazole-3-ylimino)methyl]naphthalene-2-ol. *J Mol Struct.* 2014;1076:251–61.
173. Cerchiaro G, Ferreira AMDC. Oxindoles and copper complexes with oxindole-derivatives as potential pharmacological agents. In: *J. Braz. Chem. Soc.* pp 1473–85
174. Yélamos C, Gust KR, Baboul AG, Heeg MJ, Schlegel HB, Winter CH. Early transition metal complexes containing 1,2,4-triazolato and tetrazolato ligands: Synthesis, structure, and molecular orbital studies. *Inorg Chem.* 2001;40(25):6451–62.
175. Venter MM, Pinzaru SC, Bercean V, Haiduc I. FT-IR and FT-Raman studies on new 5-mercapto-1,3,4-thiadiazole-2ylcarboxylic derivatives. *Stud Univ Babes-Bolyai.* 2004;Physica 3(XLYX):285–8.
176. Venter MM, Bercean VN, Varga R, Sasca V, Jr. TP, Ciontea L. Solid state structure of a new nickel(ii)(3H-2-thioxo-1,3,4-thiadiazol-2-yl)thioacetato complex. *Stud Univ Babes-Bolyai.* 2010;CHEMIA(XLV, 2, TOM II):217–26.
177. Venter MM, Chi V, Pinzaru SC, Bercean V, Ilici M, Haiduc I. Synthesis and vibrational studies on new complexes of monodeprotonated (5-mercapto-1,3,4-thiadiazole-2-yl)thioacetic acid. *Stud Univ Babes-Bolyai.* 2006;Ser. Chem.(LI 2):65–71.
178. Flekhter OB, Boreko EI, Nigmatullina LR, et al. Synthesis and antiviral activity of betulonic acid amides and conjugates with amino acids. *Russ J Bioorganic Chem.* 2004;30(1):80–8.
179. Flekhter OB, Boreko EI, Nigmatullina LR, Tret'yakova EV, Pavlova NI, Baltina LA, Nikolaeva SN, Savinova OV, Galin FZ, Tolstikov GA. Synthesis and antiviral activity of ureides and carbamates of betulonic acid and its derivatives. *Russ J Bioorganic Chem.* doi: 10.1023/B:RUBI.0000008902.36604.97
180. Flekhter OB, Medvedeva NI, Tolstikov GA, Savinova O V., Boreko EI, Dolgushin FM. Betulonic amides modified at cycle a by amino acids: Synthesis and inhibition of flu A virus reproduction. *Russ J Bioorganic Chem.* 2009;35(1):118–22.
181. Flekhter OB, Karachurina LT, Nigmatullina LR, et al. Synthesis and pharmacological activity of betulin dinicotinate. *Russ J Bioorganic Chem.* 2002;28(6):494–500.
182. Flekhter OB, Baltina LA, Tolstikov GA. Glycals in the stereoselective synthesis of triterpene 2-deoxy- -L-glycosides under conditions of acidic catalysis. *J Nat Prod.*

- 2000;63(7):992–4.
183. Tolstikova TG, Sorokina I V, Tolstikov G a, Tolstikov a G, Flekhter OB. Biological activity and pharmacological prospects of lupane terpenoids: II. Semisynthetic lupane derivatives. *Bioorg Khim.* 2006;32(3):291–307.
184. Zhang J, Chou G, Liu Z, Liu M. Employing rubusoside to improve the solubility and permeability of antitumor compound betulonic acid. *NANOMEDICINE.* 2016;11(21):2829–44.
185. Ayers S, Benkovics T, Marshall J, Tan Y, Strotman NA, Kiau S. Autoxidation Products of Betulonaldehyde. *J Nat Prod.* 2016;79(10):2758–61.
186. Tang N, Shi W, Yan W. Modified Method for Measuring the Solubility of Pharmaceutical Compounds in Organic Solvents by Visual Camera. *J Chem Eng Data.* 2016;61(1):35–40.
187. Yang S-J, Liu M-C, Zhao Q, Hu D-Y, Xue W, Yang S. Synthesis and biological evaluation of betulonic acid derivatives as antitumor agents. *Eur J Med Chem.* 2015;96:58–65.
188. Bebenek E, Chrobak E, Wietrzyk J, Kadela M, Chrobak A, Kusz J, Ksiazek M, Jastrzebska M, Boryczka S. Synthesis, structure and cytotoxic activity of acetylenic derivatives of betulonic and betulonic acids. *J Mol Struct.* 2016;1106:210–9.
189. Grishko V V., Tolmacheva IA, Nebogatikov VO, Galaiko N V., Nazarov A V., Dmitriev M V., Ivshina IB. Preparation of novel ring-A fused azole derivatives of betulin and evaluation of their cytotoxicity. *Eur J Med Chem.* doi: 10.1016/j.ejmech.2016.09.065
190. Pavlova NI, Savinova O V., Nikolaeva SN, Boreko EI, Flekhter OB. Antiviral activity of betulin, betulonic and betulonic acids against some enveloped and non-enveloped viruses. *Fitoterapia.* 2003;74(5):489–92.
191. Tolstikov G a, Flekhter OB, Shultz EE, Baltina LA, Tolstikov AG. Betulin and Its Derivatives . Chemistry and Biological Activity. *Chem Sustain Dev.* 2005;13:1–29.
192. Leong KH, Mahdzir MA, Din MFM, Awang K, Tanaka Y, Kulkeaw K, Ishitani T, Sugiyama D. Induction of intrinsic apoptosis in leukaemia stem cells and in vivo zebrafish model by betulonic acid isolated from *Walsura pinnata* Hassk (Meliaceae). *Phytomedicine.* 2017;26:11–21.
193. Vasilevsky SF, Govdi AI, Shults EE, Shakirov MM, Sorokina I V., Tolstikova TG, Baev DS, Tolstikov GA, Alabugin I V. Efficient synthesis of the first betulonic acid-acetylene hybrids and their hepatoprotective and anti-inflammatory activity. *Bioorganic Med Chem.* 2009;17(14):5164–9.

194. Semenov DE, Zhukova NA, Ivanova EP, Sorokina I V., Baiev DS, Nepomnyashchikh GI, Tolstikova TG, Biryukova MS. Hepatoprotective Properties of Betulonic Acid Amide and Heptral in Toxic Liver Injury Induced by Carbon Tetrachloride in Combination with Ethanol. *Bull Exp Biol Med.* 2015;158(3):336–41.
195. Govdi AI, Sorokina I V., Baev DS, Bryzgalov AO, Tolstikova TG, Tolstikov GA, Vasilevsky SF. Acetylenic derivatives of betulonic acid amide as a new type of compounds possessing spasmolytic activity. *Russ Chem Bull.* 2015;64(6):1327–34.
196. Frederickson LD. An Infrared Study of the C=N Stretching Vibration in Azine Derivatives of Aldehydes and Ketones. *Anal Chem.* 1964;36(7):1349–1355.
197. A. Savel'eva Z, V. Romanenko G, A. Sheludyakova L, V. Larionov S. Synthesis and structure of a complex with the coordinated triaminoguanidinium(2+) ion, [Cu(TAGH₂)Cl₃]Cl·H₂O. *Polyhedron.* 2000;19(14):1737–40.
198. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods.* doi: 10.1016/0022-1759(83)90303-4
199. Dehelean CA, Feflea S, Molnár J, Zupko I, Soica C. Betulin as an antitumor agent tested in vitro on A431, HeLa and MCF7, and as an angiogenic inhibitor in vivo in the CAM assay. *Nat. Prod. Commun.*
200. Yang S, Zhao Q, Xiang H, Liu M, Zhang Q, Xue W, Song B, Yang S. Antiproliferative activity and apoptosis-inducing mechanism of constituents from *Toona sinensis* on human cancer cells. *Cancer Cell Int.* doi: 10.1186/1475-2867-13-12
201. Soica CM, Dehelean CA, Peev C, Aluas M, Zupkó I, Jr KP, Alexa E. Physico-chemical comparison of betulonic acid, betulin and birch bark extract and in vitro investigation of their cytotoxic effects towards skin epidermoid carcinoma (A431), breast carcinoma (. *Nat Prod Res Former Nat Prod Lett.* doi: 10.1080/14786419.2010.545352
202. Budrugaec P, Carp O, Oancea D, Mocioiu O, Zaharescu M. *Aplicații ale analizei termice - volumul I.* Editura Academiei Române, București
203. Budrugaec P. Differential non-linear isoconversional procedure for evaluating the activation energy of non-isothermal reactions. *J Therm Anal Calorim.* 2002;68(1):131–9.
204. Doyle CD. Kinetic analysis of thermogravimetric data. *J Appl Polym Sci.* 1961;5(15):285–92.
205. Flynn JH. The isoconversional method for determination of energy of activation at constant heating rates - Corrections for the Doyle approximation. *J Therm Anal.*

- 1983;27(1):95–102.
206. Ozawa T. Kinetic analysis of derivative curves in thermal analysis. *J Therm Anal.* 1970;2(3):301–24.
207. Budrugaec P, Cucos A. Application of Kissinger, isoconversional and multivariate non-linear regression methods for evaluation of the mechanism and kinetic parameters of phase transitions of type I collagen. *Thermochim Acta.* 2013;565:241–52.
208. Budrugaec P, Segal E. Applicability of the Kissinger equation in thermal analysis. *J Therm Anal Calorim.* 2007;88(3):703–7.
209. Vyazovkin S, Wight CA. Isothermal and Nonisothermal Reaction Kinetics in Solid: In Search of Ways toward Consensus. *J Phys Chem A.* 1997;101(44):8279–84.
210. Serra R, Sempere J, Nomen R. The non-parametric kinetics. A new method for the kinetic study of thermoanalytical data. *J Therm Anal.* 1998;52(1):933–43.
211. Vlase T, Vlase G, Birta N, Doca N. Comparative results of kinetic data obtained with different methods for complex decomposition steps. *J Therm Anal Calorim.* 2007;88(3):631–5.
212. Vlase T, Vlase G, Doca N, Bolcu C. Processing of non-isothermal TG data: Comparative kinetic analysis with NPK method. In: *J. Therm. Anal. Calorim.* pp 59–64
213. Brown ME, Maciejewski M, Vyazovkin S, et al. Computational aspects of kinetic analysis Part A: The ICTAC Kinetics Project-data, methods and results. *Thermochim Acta.* doi: 10.1016/S0040-6031(00)00443-3
214. Vyazovkin S. Computational aspects of kinetic analysis. Part C. The ICTAC Kinetics Project - The light at the end of the tunnel? *Thermochim Acta.* doi: 10.1016/S0040-6031(00)00445-7
215. Burnham AK. Computational aspects of kinetic analysis. Part D: The ICTAC Kinetics Project - Multi-thermal-history model-fitting methods and their relation to isoconversional methods. *Thermochim Acta.* 2000;355(1–2):165–70.
216. Roduit B. Computational aspects of kinetic analysis. Part E: The ICTAC Kinetics Project - Numerical techniques and kinetics of solid state processes. *Thermochim Acta.* doi: 10.1016/S0040-6031(00)00447-0
217. Wall ME, Rechtsteiner A, Rocha LM. Singular value decomposition and principal component analysis. In: Berrar DP, Dunitzky W, Granzow M (eds) *A Pract. Approach to Microarray Data Anal.* Kluwer, pp 91–109
218. Sestak J, Berggren G. Study of the kinetics of the mechanism of solid-state reactions at increasing temperatures. *Thermochim Acta.* 1971;3(1):1–12.

219. Rodante F, Vecchio S, Tomassetti M. Kinetic analysis of thermal decomposition for penicillin sodium salts - Model-fitting and model-free methods. In: J. Pharm. Biomed. Anal. pp 1031–43
220. Rodante F, Vecchio S, Tomassetti M. Multi-step decomposition processes for some antibiotics. A kinetic study. In: Thermochim. Acta. pp 7–18
221. Fu M, Perlman M, Lu Q, Varga C. Pharmaceutical solid-state kinetic stability investigation by using moisture-modified Arrhenius equation and JMP statistical software. J Pharm Biomed Anal. doi: 10.1016/j.jpba.2015.01.014
222. Shahcheraghi SH, Khayati GR, Ranjbar M. An advanced reaction model determination methodology in solid-state kinetics based on Arrhenius parameters variation: Part II. validation and application to crystallization of amorphous Cu₄SO₄O₃. J Therm Anal Calorim. doi: 10.1007/s10973-016-5473-z
223. Brown ME, Maciejewski M, Vyazovkin S, et al. Computational aspects of kinetic analysis. Thermochim Acta. 2000;355(1–2):125–43.
224. Brown ME, Maciejewski M, Vyazovkin S, et al. Computational aspects of kinetic analysis Part A: The ICTAC Kinetics Project-data, methods and results. Thermochim Acta. 2000;355(1–2):125–43.
225. Vyazovkin S, Burnham AK, Criado JM, Pérez-Maqueda LA, Popescu C, Sbirrazzuoli N. ICTAC Kinetics Committee recommendations for performing kinetic computations on thermal analysis data. Thermochim Acta. 2011;520(1–2):1–19.
226. Friedman HL. New methods for evaluating kinetic parameters from thermal analysis data. J Polym Sci Part B Polym Lett. 1969;7(1):41–6.
227. Ozawa T. A New Method of Analyzing Thermogravimetric Data. Bull Chem Soc Jpn. 1965;38(11):1881–6.
228. Kissinger HE. Reaction Kinetics in Differential Thermal Analysis. Anal Chem. 1957;29(11):1702–6.
229. Akahira T, Sunose T. Research report, Trans joint convention of four electrical institutes. Chiba Inst Technol (Sci Technol). 1971;16:22–31.
230. Serra R, Sempere J, Nomen R. The non-parametric kinetics. A new method for the kinetic study of thermoanalytical data. J Therm Anal. 1998;52(1):933–43.
231. Segal E, Doca N, Budrugaec P, Popescu C, Carp O, Vlase T. Analiza termic . Fundamente i aplica ii. Analiza cinetic a transform rilor heterogene. Editura Academiei Române, Bucure ti
232. Marian E, Ti a B, Jurca T, Fulia A, Vica L, Ti a D. Thermal behaviour of erythromycin-active substance and tablets: Part 1. Kinetic study of the active substance

- under non-isothermal conditions. *J Therm Anal Calorim.* 2013;111(2):1025–31.
233. Tita B, Fulias A, Stefanescu M, Marian E, Tita D. Kinetic study of decomposition of ibuprofen under isothermal conditions. *Rev Chim.* 2011;62(2):216–21.
234. Tita B, Marian E, Fulia A, Jurca T, Tita D. Thermal stability of piroxicam. *J Therm Anal Calorim.* 2013;112(1):367–74.
235. Abd-Elmonem MS, Salem WM. STUDY OF KINETIC PARAMETERS OF THERMAL DECOMPOSITION OF CILOSTAZOL UNDER ISOTHERMAL AND NON-ISOTHERMAL CONDITIONS. *IAJPS 2016 J P Sci.* 2016;3(310):1128–38.
236. Shah RB, Bryant A, Collier J, Habib MJ, Khan MA. Stability indicating validated HPLC method for quantification of levothyroxine with eight degradation peaks in the presence of excipients. *Int J Pharm.* doi: 10.1016/j.ijpharm.2008.04.018
237. Collier JW, Shah RB, Gupta A, Sayeed V, Habib MJ, Khan MA. Influence of Formulation and Processing Factors on Stability of Levothyroxine Sodium Pentahydrate. *AAPS PharmSciTech.* doi: 10.1208/s12249-010-9434-8
238. Gika HG, Samanidou VF, Papadoyannis IN. Development of a validated HPLC method for the determination of iodotyrosines and iodothyronines in pharmaceuticals and biological samples using solid phase extraction. *J Chromatogr B Anal Technol Biomed Life Sci.* doi: 10.1016/j.jchromb.2004.10.025
239. Collier JW, Shah RB, Bryant AR, Habib MJ, Khan MA, Faustino PJ. Development and application of a validated HPLC method for the analysis of dissolution samples of levothyroxine sodium drug products. *J Pharm Biomed Anal.* doi: 10.1016/j.jpba.2010.08.025
240. Levothyroxine on Drugbank. <https://www.drugbank.ca/drugs/DB00451>. Accessed 10 June 2017
241. Silverstein RM, Webster FX, Kiemle DJ. Spectrometric Identification of Organic Compounds. *Spectrom Identif Org Compd* 6th ed. doi: 10.1016/0022-2860(76)87024-X
242. Burnham AK. Application of the Sestak-Berggren equation to organic and inorganic materials of practical interest. *J Therm Anal Calorim.* doi: 10.1023/A:1010163809501
243. Simon P. Forty years of the Sestak–Berggren equation. *Thermochim Acta.* doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tca.2011.03.030>
244. Hayase T, Ayaori M, Sato H, Tanaka N, Ohashi K, Uto-Kondo H, Ikewaki K, Ohsuzu F. Impact of low- and high-density lipoprotein cholesterol levels on carotid intima-media thickness differs by smoking status in middle-aged men. *J. Atheroscler. Thromb.*

245. Reiner Ž. Statins in the primary prevention of cardiovascular disease. *Nat Rev Cardiol*. doi: 10.1038/nrcardio.2013.80
246. Deckers JW, Blumenthal RS. Statins for primary prevention of cardiovascular disease. *BMJ*. doi: 10.1136/bmj.d1048
247. Querton L, Buysschaert M, Hermans MP. Hypertriglyceridemia and residual dyslipidemia in statin-treated, patients with diabetes at the highest risk for cardiovascular disease and achieving very-low low-density lipoprotein-cholesterol levels. *J Clin Lipidol*. doi: 10.1016/j.jacl.2012.04.002
248. Sirimarco G, Labreuche J, Bruckert E, et al. Atherogenic dyslipidemia and residual cardiovascular risk in statin-treated patients. *Stroke*. doi: 10.1161/STROKEAHA.113.004229
249. Liberopoulos E, Vlasserou F, Mitrogianni Z, Papageorgantas I, Elisaf M. Prevalence and risk distribution of residual dyslipidemia in statin-treated patients in Greece. *Angiology*. doi: 10.1177/0003319711410226
250. Nicholls SJ, Tuzcu EM, Sipahi I, et al. Statins, high-density lipoprotein cholesterol, and regression of coronary atherosclerosis. *JAMA*. doi: 10.1001/jama.297.5.499
251. Pressel S, Davis BR, Louis GT, Whelton P, Adroge H, Egan D, Farber M, Payne G, Probstfield J, Ward H. Participant recruitment in the Antihypertensive and Lipid-Lowering Treatment to Prevent Heart Attack Trial (ALLHAT). *Control Clin Trials*. doi: 10.1016/S0197-2456(01)00177-5
252. Montecucco F, Quercioli A, Mirabelli-Badenier M, GL V, Mach F. Statins in the treatment of acute ischemic stroke. *Curr Pharm Biotechnol*
253. Brunton, Laurence L., Lazo JS PK (ed). *Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 11th ed. McGraw-Hill, New York
254. Mansley EC, Teutsch SM, Busza JD, White DM, Geisel SS. The Utilization of Medicines beyond Patent Expiration. *Forum Health Econ Policy*. doi: 10.2202/1558-9544.1121
255. Suh D-C., Schondelmeyer SW., Manning Jr. WG., Hadsall RS., Nyman JA. Price trends before and after patent expiration in the pharmaceutical industry. *J Res Pharm Econ*. doi: 10.1300/J063v09n02_03
256. Agrawal M, Thakkar N. Surviving patent expiration: strategies for marketing pharmaceutical products. *J Prod Brand Manag*. doi: 10.1108/10610429710179471
257. Orbay H, Hong H, Koch JM, Valdovinos HF, Hacker TA, Theuer CP, Barnhart TE, Cai W. Pravastatin stimulates angiogenesis in a murine hindlimb ischemia model: A positron emission tomography imaging study with ⁶⁴Cu-NOTA-TRC105. *Am. J.*

- Transl. Res.
258. Luzak B, Boncler M, Rywaniak J, Wilk R, Stanczyk L, Czyz M, Rysz J, Watala C. The effect of a platelet cholesterol modulation on the acetylsalicylic acid-mediated blood platelet inhibition in hypercholesterolemic patients. *Eur J Pharmacol.* doi: 10.1016/j.ejphar.2011.02.026
 259. Luzak B, Rywaniak J, Stanczyk L, Watala C. Pravastatin and simvastatin improves acetylsalicylic acid-mediated in vitro blood platelet inhibition. *Eur J Clin Invest.* doi: 10.1111/j.1365-2362.2012.02661.x
 260. Mirhadi K. Effect of different doses of pravastatin on formalin-induced inflammatory response in mice. *Glob. Vet.*
 261. Lopez-Pedrerera C, Ruiz-Limon P, Valverde-Esteba A, Barbarroja N, Rodriguez-Ariza A. To cardiovascular disease and beyond: new therapeutic perspectives of statins in autoimmune diseases and cancer. *Curr Drug Targets*
 262. Liu J, Zhang J, Shi Y, Grimsgaard S, Alraek T, Fønnebø V. Chinese red yeast rice (*Monascus purpureus*) for primary hyperlipidemia: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Chin Med.* doi: 10.1186/1749-8546-1-4
 263. Gunde-Cimerman N, Cimerman a. Pleurotus fruiting bodies contain the inhibitor of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase-lovastatin. *Exp Mycol.* doi: 10.1006/emyc.1995.1001
 264. Mielcarek J, Naskrent M, Grobelny P. Photochemical properties of simvastatin and lovastatin induced by radiation. *J Therm Anal Calorim.* doi: 10.1007/s10973-008-9322-6
 265. Lovastatin on DrugBank. <https://www.drugbank.ca/drugs/DB00227>.
 266. Simvastatin on DrugBank. <https://www.drugbank.ca/drugs/DB00641>.
 267. Ebrahimi-Kahrizsangi R, Abbasi MH. Evaluation of reliability of Coats-Redfern method for kinetic analysis of non-isothermal TGA. *Trans Nonferrous Met Soc China (English Ed.* 2008;18(1):217–21.
 268. Souza MAF, Conceição MM, Silva MCD, Soledade LEB, Souza AG. Thermal and kinetic study of statins: Simvastatin and lovastatin. *J Therm Anal Calorim.* doi: 10.1007/s10973-006-8193-y
 269. Procópio JVV, de Souza VG, da Costa RA, Correia LP, de Souza FS, Macêdo RO. Application of thermal analysis and pyrolysis coupled to GC/MS in the qualification of simvastatin pharmaceutical raw material. *J Therm Anal Calorim.* 2011;106(3):665–70.
 270. Sovizi MR, Hosseini SG. Studies on the thermal behavior and decomposition kinetic of drugs cetirizine and simvastatin. *J Therm Anal Calorim.* doi: 10.1007/s10973-012-

- 2651-5
271. Augsburger L, Zellhofer M. Tablet Formulation. In: Swarbrick J (ed) *Encycl. Pharm. Sci. Technol.*, 4th ed. CRC Press, pp 3511–21
272. Shantikumar S, Sreekanth G, SurendraNath K V, JaferValli S, Satheeshkumar N. Compatibility study between sitagliptin and pharmaceutical excipients used in solid dosage forms. *J Therm Anal Calorim.* 2014;115(3):2423–8.
273. Teleginski LK, Maciel AB, Mendes C, Silva MAS, Bernardi LS, de Oliveira PR. Fluconazole--excipient compatibility studies as the first step in the development of a formulation candidate for biowaiver. *J Therm Anal Calorim.* 2015;120(1):771–81.
274. de O. Porfírio L, Costa AA, Conceição RR, de O. Matos T, Almeida EDP, Sarmiento VH V, Araújo AAS, de S. Nunes R, Lira AAM. Compatibility study of hydroxypropylmethylcellulose films containing zidovudine and lamivudine using thermal analysis and infrared spectroscopy. *J Therm Anal Calorim.* 2015;120(1):817–28.
275. de Barros Lima ÍP, Lima NGPB, Barros DMC, et al. Compatibility study between hydroquinone and the excipients used in semi-solid pharmaceutical forms by thermal and non-thermal techniques. *J Therm Anal Calorim.* 2015;120(1):719–32.
276. Dias SBT, Nascimento TG, Santos AFO, Nicácio Viana IMM, Almeida RM, Júnior IDB, Macêdo RO, de Araújo-Júnior JX. Polymorphic characterization and compatibility study of clozapine: implications on its stability and some biopharmaceutics properties. *J Therm Anal Calorim.* 2015;120(1):795–805.
277. Gupta S, Chadha R. Evaluation of compatibility among artemether, pyrimethamine and sulphadoxine using analytical and isothermal calorimetry techniques. *J Therm Anal Calorim.* 2015;120(1):759–69.
278. Gao R, Jin Y, Yang Q-Y, Sun B-W, Lin J. Study of stability and drug-excipient compatibility of estradiol and pharmaceutical excipients. *J Therm Anal Calorim.* 2015;120(1):839–45.
279. da Silva EP, Pereira MAV, de Barros Lima IP, Lima NGPB, Barbosa EG, Aragão CFS, Gomes APB. Compatibility study between atorvastatin and excipients using DSC and FTIR. *J Therm Anal Calorim.* 2016;123(2):933–9.
280. Maswadeh HM. Incompatibility study of ibuprofen in ternary interactive mixture by using differential scanning calorimetry. *J Therm Anal Calorim.* 2016;123(3):1963–71.
281. Ghaderi F, Nemati M, Siahi-Shadbad MR, Valizadeh H, Monajjemzadeh F. DSC kinetic study of the incompatibility of doxepin with dextrose. *J Therm Anal Calorim.* 2016;123(3):2081–90.

282. de Souza SMM, e Melo Franco PIB, Leles MIG, da Conceição EC. Evaluation of thermal stability of enalapril maleate tablets using thermogravimetry and differential scanning calorimetry. *J Therm Anal Calorim.* 2016;123(3):1943–9.
283. Doca SC, Albu P, Ceban I, Anghel A, Vlase G, Vlase T. Sodium alendronate used in bone treatment. *J Therm Anal Calorim.* 2016;126(1):189–94.
284. Ceban I, Blajovan R, Vlase G, Albu P, Koppandi O, Vlase T. Thermoanalytical measurements conducted on repaglinide to estimate the kinetic triplet followed by compatibility studies between the antidiabetic agent and various excipients. *J Therm Anal Calorim.* 2016;126(1):195–204.
285. Budiul M, Albu P, Vlase G, Turcu V, Vlase T. Thermogravimetric and calorimetric studies performed on memantine hydrochloride to determine its thermal behaviour and possible drug--excipient interactions. *J Therm Anal Calorim.* 2017;127(1):555–64.
286. Rojek B, Wesolowski M. Compatibility studies of hydrocortisone with excipients using thermogravimetric analysis supported by multivariate statistical analysis. *J Therm Anal Calorim.* 2017;127(1):543–53.
287. Pires SA, Mussel WN, Yoshida MI. Solid-state characterization and pharmaceutical compatibility between citalopram and excipients using thermal and non-thermal techniques. *J Therm Anal Calorim.* 2017;127(1):535–42.
288. Bezerra GSN, Pereira MAV, Ostrosky EA, Barbosa EG, de Moura M de FV, Ferrari M, Aragão CFS, Gomes APB. Compatibility study between ferulic acid and excipients used in cosmetic formulations by TG/DTG, DSC and FTIR. *J Therm Anal Calorim.* 2017;127(2):1683–91.
289. Matos APS, Costa JS, Boniatti J, Seiceira RC, Pitaluga A, Oliveira DL, Viçosa AL, Holandino C. Compatibility study between diazepam and tablet excipients. *J Therm Anal Calorim.* 2017;127(2):1675–82.
290. Vlase G, Budiul M, P\uatu\ucescu C, Albu P, Vlase T. An extensive compatibility study of mycophenolate mofetil with different excipients by spectroscopic and thermoanalytical investigation techniques. *J Therm Anal Calorim.* 2017;1–12.
291. Vlase G, Budiul M, Vlase T, Albu P, Lede\ucci A. Thermally induced interactions between adamantan-2-one and some pharmaceutical excipients. *J Therm Anal Calorim.* 2017;1–13.
292. Silva LAD, Cintra ER, Alonso ECP, Alves GL, Lima EM, Taveira SF, da Cunha-Filho MSS, Marreto RN. Selection of excipients for the development of carvedilol loaded lipid-based drug delivery systems. *J Therm Anal Calorim.* 2017;1–12.
293. Reis TA, Matos BN, Lima EM, Chaker JA, Gratieri T, Cunha-Filho MSS, Gelfuso

- GM. Oxaliplatin preformulation studies for the development of innovative topical drug delivery systems. *J Therm Anal Calorim.* 2017;1–11.
294. Albu P, Budiul M, Mateescu M, Chiriac V, Vlase G, Vlase T. Studies regarding the induced thermal degradation, kinetic analysis and possible interactions with various excipients of an osseointegration agent: zoledronic acid. *J Therm Anal Calorim.* 2017;1–9.
295. Silva JPA, Figueirêdo CBM, de Medeiros Vieira ACQ, de Lyra MAM, Rolim LA, Rolim-Neto PJ, de La Roca Soares MF, Albuquerque MM, Soares-Sobrinho JL. Thermal characterization and kinetic study of the antiretroviral tenofovir disoproxil fumarate. *J Therm Anal Calorim.* 2017;1–9.
296. Borba PAA, Vecchia DD, Riekens MK, Pereira RN, Tagliari MP, Silva MAS, Cuffini SL, de Campos CEM, Stulzer HK. Pharmaceutical approaches involving carvedilol characterization, compatibility with different excipients and kinetic studies. *J Therm Anal Calorim.* 2014;115(3):2507–15.
297. Júlio TA, Zâmara IF, Garcia JS, Trevisan MG. Compatibility of sildenafil citrate and pharmaceutical excipients by thermal analysis and LC--UV. *J Therm Anal Calorim.* 2013;111(3):2037–44.
298. Mura P, Gratteri P, Faucci MT. Compatibility Studies of Multicomponent Tablet Formulations. DSC and experimental mixture design. *J Therm Anal Calorim.* 2002;68(2):541–51.
299. Marini A, Berbenni V, Pegoretti M, Bruni G, Cofrancesco P, Sinistri C, Villa M. Drug-excipient compatibility studies by physico-chemical techniques; The case of Atenolol. *J Therm Anal Calorim.* 2003;73(2):547–61.
300. Bernardi LS, Oliveira PR, Murakami FS, Silva MAS, Borgmann SHM, Cardoso SG. Characterization of venlafaxine hydrochloride and compatibility studies with pharmaceutical excipients. *J Therm Anal Calorim.* 2009;97(2):729.
301. Ding T, Chen L, Zhai L-H, Fu Y, Sun B-W. Compatibility study of rivaroxaban and its pharmaceutical excipients. *J Therm Anal Calorim.* 2017;1–5.
302. Freire FD, Aragão CFS, de Lima e Moura TFA, Raffin FN. Compatibility study between chlorpropamide and excipients in their physical mixtures. *J Therm Anal Calorim.* 2009;97(1):355.
303. Singh A V, Nath LK. Evaluation of compatibility of tablet excipients and novel synthesized polymer with lamivudine. *J Therm Anal Calorim.* 2012;108(1):263–7.
304. Oliveira PR, Bernardi LS, Murakami FS, Mendes C, Silva MAS. Thermal characterization and compatibility studies of norfloxacin for development of extended

- release tablets. *J Therm Anal Calorim.* 2009;97(2):741.
305. e Silva JP, Sousa Lobo JM. Compatibility studies between nebicapone, a novel COMT inhibitor, and excipients using stepwise isothermal high sensitivity DSC method. *J Therm Anal Calorim.* 2010;102(1):317–21.
306. Desai SR, Shaikh MM, Dharwadkar SR. Preformulation compatibility studies of etamsylate and fluconazole drugs with lactose by DSC. *J Therm Anal Calorim.* 2003;71(2):651–8.
307. Macêdo RO, do Nascimento T, Veras JWE. Compatibility and Stability Studies of Propranolol Hydrochloride Binary Mixtures and Tablets for TG and DSC-photovisual. *J Therm Anal Calorim.* 2002;67(2):483–9.
308. Bharate SS, Bharate SB, Bajaj AN. Incompatibilities of Pharmaceutical Excipients with Active Pharmaceutical Ingredients: A Comprehensive Review. *J. Excipients Food Chem.* Vol 1 No 3
309. Chen WL, Guo DW, Shen YY, Guo SR, Ruan KP. Effects of highly hygroscopic excipients on the hydrolysis of simvastatin in tablet at high relative humidity. *Indian J Pharm Sci.* doi: 10.4103/0250-474X.110587