

**CONTRIBUȚII PRIVIND STUDIUL PREFORMULĂRII UNOR SUBSTANȚE
BIOACTIVE CU APLICAȚII ÎN TEHNOLOGIA FARMACEUTICĂ MODERNĂ**

Teză de doctorat – Rezumat

pentru obținerea titlului științific de doctor la

Universitatea Politehnică Timișoara

în domeniul de doctorat Inginerie chimică

autor farm. Bianca-Beatrice BAUL

conducători științifici Prof.univ.dr.ing. Francisc Péter/ Prof.univ.dr.ing. Ionuț-Valentin

Ledeți

luna 09 anul 2023

Ingineria produselor farmaceutice este, în esență, o ramură a ingineriei chimice care vizează designul și obținerea de (noi) formulări/preparate destinate utilizării de către subiecți umani, pe una dintre căile de administrare, și anume enterală (orală/*per os*), rectală/intrarectală, sublinguală, inhalatorie, topică (cutanată) și parenterală (cu toate posibilitățile de realizare ale acesteia) [1–4]. Obținerea de noi formulări, care să prezinte atât proprietăți fizico-chimice îmbunătățite, cât și un profil biofarmaceutic adecvat este apanajul ingineriei chimice farmaceutice, denumită uzual tehnologie farmaceutică, domeniu în care conlucrează chimiști și farmaciști. Fiind un domeniu interdisciplinar, coroborarea cunoștințelor dintre specialiști din domeniul ingineriei chimice, chimiei analitice a medicamentului și a științelor farmaceutice este absolut necesară, astfel încât rezultatele obținute să poată fi utilizate în optimizarea profilului biofarmaceutic al compușilor de interes farmaceutic [5,6].

Formulările farmaceutice conțin în compoziție cel puțin un ingredient farmaceutic activ (IFA, uzual folosit și în abrevierea API, provenită din limba engleză – „active pharmaceutical ingredient”), alături de o serie de alți compuși, denumiți excipienți, fiecare având un anumit rol în formulare: liant, diluant, antioxidant, modulator al curgerii (glisant și lubrifiant), dezagregant, ameliorator de gust/miros (colorant/aromatizant), conservant, agent formator de film etc. [7,8]. Stabilitatea IFA și a formulărilor farmaceutice corespunzătoare sunt astăzi de mare importanță în cercetarea și tehnologia farmaceutică. Calitatea unui ingredient farmaceutic activ sau a produselor farmaceutice finite (PFF) este dependentă de timp și influențată de mai mulți parametri, cum ar fi expunerea la lumină și aer, temperatura și umiditatea. În plus, profilul de stabilitate al unui ingredient farmaceutic activ este influențat de compoziția formulării, datorită prezenței excipienților sau de caracteristicile materialelor de ambalare.

Pentru formulările originale, inovative, lansate pe piața farmaceutică după costisitorul proces de descoperire al medicamentului („drug discovery”) care presupune costuri și studii uriașe, la expirarea brevetului, producătorii de formulări generice lansează pe piață forme generice, uzual cu compoziții diferite în ceea ce privește selecția excipienților, dar pentru care nu realizează mereu coerent studii de preformulare și bioechivalență [5,9–12]. Deși autoritățile de reglementare autorizează la nivelul fiecărei țări utilizarea clinică a formulărilor

medicamentoase generice pe baza studiilor de bioechivalență, care constau în evaluarea farmacocineticii după administrarea unei singure doze, nu există suficiente date privind echivalența clinică între formulările generice și cele originale, respectiv privind eficacitatea clinică și siguranța acestora [13,14].

Cererea de piață a produselor farmaceutice generice este în creștere exponențială la nivel global, dar mai ales pe continentele asiatic și african. Astfel, pentru a răspunde la nevoile pacienților, în cadrul laboratoarelor de producție ale formelor generice trebuie să existe baza materială și instrumentală specifică care să poată satisface nevoia producătorilor de generice, atât în screening-ul produselor originale, cât și pentru designul formelor generice produse de către aceștia. Datele de preformulare, și anume studiile de investigație fizico-chimică asupra substanțelor active și a excipienților publicate în literatură servesc drept punct de plecare în ingineria produselor farmaceutice, de la nivel de laborator până la nivel industrial [12].

Ca urmare a acestor considerente, tema aleasă aduce o contribuție la studiul caracterizării fizico-chimice a unor agenți antihipertensivi, preponderent din clasa sartanilor (candesartan, olmesartan, telmisartan, valsartan și losartan), respectiv moxonidina, datele obținute reprezentând un portofoliu absolut necesar în ingineria chimică și farmaceutică de la scară de laborator la scară de producție, facilitând alegerea unor protocoale de lucru sigure pentru preformularea și formularea acestor active farmaceutice.

Teza este structurată în **patru capitole**:

Primul capitol reprezintă un studiu de literatură care face o trecere în revistă a stadiului actual al cunoașterii în domeniu, pornind de la importanța temei în contextul actual al ingineriei produselor farmaceutice, evidențiind necesitatea realizării studiilor de preformulare în contextul științific actual. De asemenea, sunt prezentate câteva aspecte esențiale privind biodisponibilitatea și administrarea orală, solubilitatea și sistemul biofarmaceutic de clasificare al medicamentelor, principalele tehnici de îmbunătățire a solubilității ingredientelor active, terapia hipertensiunii și clasele de medicamente antihipertensive (inhibitori ai enzimei de conversie a angiotensinei, blocați ai receptorilor de angiotensină (sartani), blocante ale canalelor de calciu, antagoniști β -adrenergici, diuretice, antagoniști α -adrenergici, agenți cu acțiune centrală și alți agenți). Tot în cadrul acestui capitol, sunt prezentate principalele proprietăți fizico-chimice ale substanțe active studiate în teză (sartani – candesartan, olmesartan, telmisartan, valsartan, losartan, respectiv moxonidină), precum și tehnicile de lucru instrumentale utilizate în studiu: analiza spectroscopică UV-VIS, analiza spectroscopică FTIR, analiza termică și cinetica degradării în mediu eterogen.

Capitolul 2 prezintă contribuțiile originale ale tezei de doctorat, și cuprinde cele 4 subcapitole (Stabilitatea în stare solidă și cinetica degradării pentru candesartan cilexetil - compus pur și formulare farmaceutică; Stabilitatea în stare solidă și cinetica degradării pentru alți sartani – studiu comparativ; Stabilitatea termică și cinetica degradării moxonidinei ca ingredient pur vs. formulare farmaceutică; Obținerea și caracterizarea în stare solidă a unor aducți binari ai telmisartanului. Comportarea la dizolvare. Studii în soluție), fiecare subcapitol fiind structurat în patru subcapitole distincte, și anume: Scopul studiului; Premisele studiului; Rezultate și discuții; Concluziile studiului.

Studiile de preformulare realizate pe diverse substanțe active pot furniza informații prețioase legate de stabilitatea în timp activelor farmaceutice, a modalităților prin care această stabilitate poate fi crescută dar și informații legate de conducerea proceselor în formulare prin selectarea adecvată a condițiilor experimentale, precum temperatură, presiune, umiditate, timpi de contact, iluminare etc. Din acest punct de vedere, studiile de stabilitate termică și prelucrarea datelor folosind conceptele cineticii în mediul eterogen furnizează informații prețioase legate de stabilitatea în timp, de mecanismele de descompunere (în mediu inert și/sau oxidativ), precum și de efectul stabilizant/destabilizant pe care îl pot avea substanțele auxiliare din formulare (excipienți) asupra IFA.

Comportamentul termic al ingredientelor farmaceutice active (IFA) ca și componente pure în amestecuri binare cu excipienți și în formulările farmaceutice este de mare importanță în știința medicamentelor [15–20]. Chiar dacă în cazul produselor farmaceutice, termenul „stabilitate” este de obicei corelat cu pierderea ingredientului farmaceutic activ din formulare, „stabilitatea în stare solidă” poate desemna, de asemenea, răspunsul unui IFA sau a unei formulări farmaceutice la stresul termic. Cu toate acestea, în ambele cazuri, descompunerea ingredientului farmaceutic activ datorită proceselor chimice sau chiar tranzițiilor fizice (tranziții de fază precum polimorfismul și cristalizarea) în prezența excipienților, dictează termenul de valabilitate al formulării [21,22]. În plus, o selecție adecvată a excipienților poate duce la formulări cu termene de valabilitate mai lungi, deoarece prezența excipienților poate avea un efect stabilizator asupra descompunerii ingredientului farmaceutic activ în formulare, în raport cu același ingredient ca și compus pur [23–28].

Ca urmare a acestor considerente, tema aleasă aduce o contribuție la studiul caracterizării fizico-chimice a unor agenți antihipertensivi, preponderent din clasa sartanilor (candesartan, olmesartan, telmisartan, valsartan și losartan), respectiv moxonidina, datele obținute reprezentând un portofoliu absolut necesar în ingineria chimică și farmaceutică de la scară de laborator la scară de producție, facilitând alegerea unor protocoale de lucru sigure pentru preformularea și formularea acestor active farmaceutice.

Cele două obiectivele principale ale tezei de doctorat sunt:

- Investigații instrumentale și analitice ale activelor farmaceutice selectate din clasa agenților antihipertensivi, folosind ca tehnici de lucru metode spectroscopice (FTIR), termoanalitice și cinetice;
- Obținerea și caracterizarea în stare solidă a unor compuși binari ai telmisartanului. Comportarea la dizolvare. Studii în soluție.

Primul studiu realizat a constatat în evaluarea stabilității în stare solidă și cinetica degradării pentru candesartan cilexetil - compus pur și formulare farmaceutică. Scopul acestui studiu a fost acela de a evalua impactul prezenței excipienților într-o formulare farmaceutică care conține candesartan cilexetil, asupra descompunerii ingredientului farmaceutic activ și de a investiga comparativ cinetica degradării în timpul termolizei, într-o atmosferă oxidativă, sub stres termic controlat. Pentru a realiza acest lucru, probele au fost alese după cum urmează: candesartan cilexetil pur (CC) și un comprimat comercial ce conține 32 mg IFA (CCTAB). Ca prim instrument de investigare, a fost aleasă spectroscopia UATR-FTIR (Figura 1), pentru a

confirma puritatea și identitatea probelor, precum și pentru a verifica dacă au avut loc interacțiuni între IFA și excipienți în comprimat, în condiții ambientale.

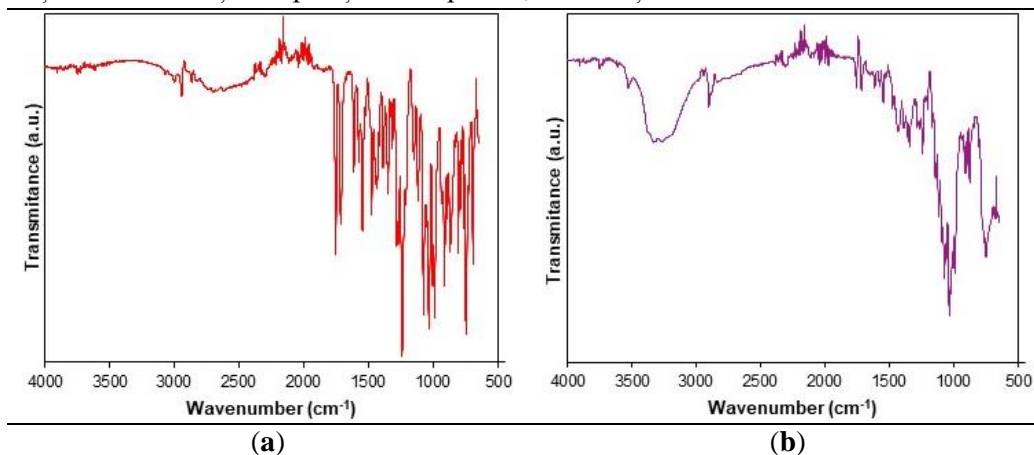


Figura 1. Spectrele UATR-FTIR înregistrate pentru probele analizate: (a) CC și (b) comprimatul (CCTAB)

Ulterior, probele au fost investigate prin analiză termică (Figura 2), iar elucidarea mecanismului de descompunere s-a realizat numai după efectuarea unui studiu cinetic aprofundat, și anume utilizarea metodei cinetice neparametrice modificate (NPK, Figura 3), întrucât rezultatele altor metode cinetice (ASTM E698, Friedman și Flynn–Wall–Ozawa) au condus la inadvertențe.

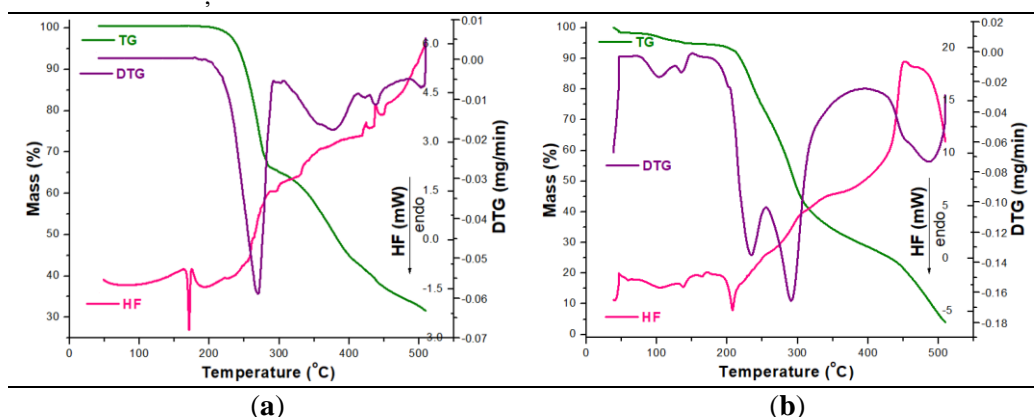


Figura 2. Curbele termoanalitice (TG/DTG/HF) înregistrate în atmosferă oxidativă de aer sintetic la $\beta = 5 \text{ } ^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ pentru probele analizate: (a) CC și (b) CCTAB.

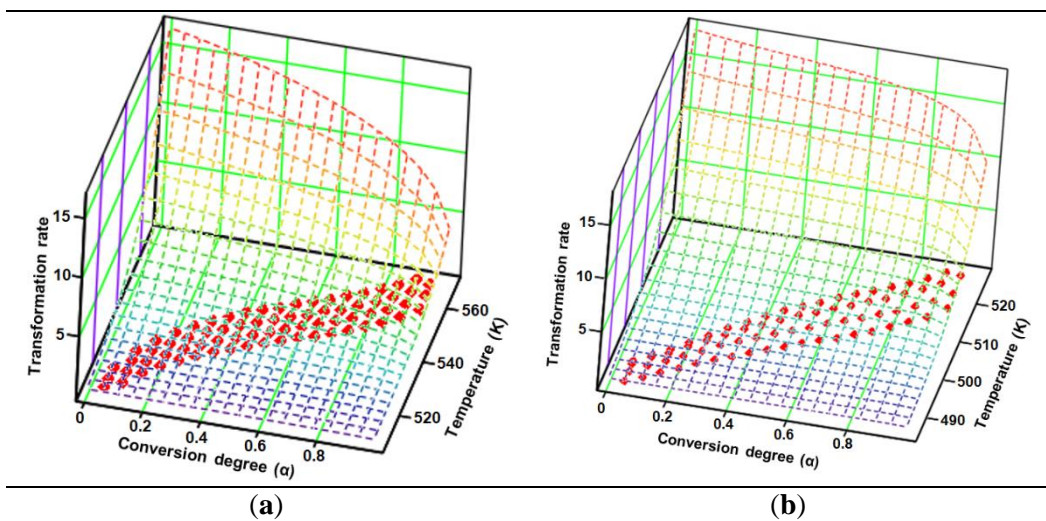


Figura 3. Valorile experimentale (puncte roșii) și suprafața de reacție generată de parametrii cinetici, conform metodei cinetice neparametrice modificate (NPK), pentru (a) CC și (b) CCTAB.

În comparație cu rezultatele cinetice oferite de metodele alese anterior (ASTM E698, FR și FWO – Tabelul 1), cele oferite de metoda NPK au fost în concordanță pentru candesartan cilexetil în toate cazurile; pentru CCTAB, rezultatele au confirmat datele evidențiate de metoda FWO, și anume un efect stabilizator asupra descompunerii candesartanului cilexetil în formularea farmaceutică, față de CC, datorită prezenței excipienților.

Tabel 1. Valorile energiilor de activare aparente (E_a) vs. gradul de conversie (α), obținute prin metodele izoconversionale și valoarea \bar{E}_a .

Gradul de conversie α	E_a (kJ/mol) = $f(\alpha)$ pentru			
	CC		CCTAB	
	Fr	FWO	Fr	FWO
0,05	152,9	168,5	197,0	307,3
0,10	153,1	163,3	215,0	278,5
0,15	152,1	160,3	215,7	263,6
0,20	151,0	158,5	179,2	248,4
0,25	151,3	157,1	133,1	227,6
0,30	149,0	156,0	120,6	208,1
0,35	149,2	155,1	112,7	192,1
0,40	153,6	154,7	125,1	181,0
0,45	155,8	154,9	126,3	173,6
0,50	156,8	155,2	134,5	168,0
0,55	157,3	155,5	140,6	164,6
0,60	158,0	155,9	137,9	161,8
0,65	158,5	156,3	144,8	159,6
0,70	158,9	156,7	159,6	158,8
0,75	158,6	157,0	176,1	160,2
0,80	158,5	157,4	166,4	161,7
0,85	157,8	157,7	161,1	161,7
0,90	158,8	157,9	149,2	160,3
0,95	162,8	158,6	201,3	163,7
\bar{E}_a (kJ/mol)	$155,5 \pm 0,9$	$157,7 \pm 0,7$	$157,7 \pm 7,2$	$194,8 \pm 10,5$

Metoda NPK a sugerat faptul că ambele probe au fost degradate prin contribuția a două etape, etapa principală fiind degradarea chimică, iar etapa secundară fiind o transformare fizică (Tabelul 2). Excipienții aleși în formulare par să aibă un efect stabilizator, deoarece energia de activare aparentă pentru descompunerea comprimatului a fost de 192,5 kJ/mol, iar energia de activare aparentă pentru descompunerea IFA pur a fost de 154,5 kJ/mol.

Tabel 2. Rezultatele analizei cinetice după utilizarea metodei NPK modificate

Proba	Etapa	λ (%)	A (s ⁻¹)	E_a (kJ/mol)	n	m	$f(\alpha)$	\bar{E}_a (kJ/mol)
CC	1	87,0	$1,6 \cdot 10^{16} \pm 2,1 \cdot 10^4$	$162,8 \pm 9,1$	1/3	0	$(1-x)^{1/3}$	154,5 $\pm 11,1$
	2	8,5	$8,6 \cdot 10^{13} \pm 4,4 \cdot 10^9$	$147,2 \pm 2,0$	0	1/3	$x^{1/3}$	
CCTA B	1	75,3	$9,6 \cdot 10^{20} \pm 4,5 \cdot 10^6$	$198,2 \pm 11,5$	1/4	0	$(1-x)^{1/4}$	192,5 $\pm 16,6$
	2	24,5	$4,6 \cdot 10^{18} \pm 7,8 \cdot 10^8$	$176,1 \pm 5,1$	0	5/3	$x^{5/3}$	

Datele acestui studiu constituie prima lucrare ISI publicată din tematica tezei de doctorat [29].

Al doilea studiu a vizat stabilitatea în stare solidă și cinetica degradării pentru alți sartani – un studiu comparativ al cărui scop a fost acela de a evalua stabilitatea termică și cinetica degradării pentru telmisartan (TELM), valsartan (VLS) olmesartan medoxomil (OLM), și losartan potasic (LOS), pentru a avea o imagine de ansamblu asupra stabilității principalilor compuși utilizați în terapie din această clasă. Metodele cinetice utilizate au fost metoda preliminară ASTM E698, respectiv metoda FWO și FR. De asemenea, pentru OLM au fost investigate două procese din punct de vedere cinetic, și anume procesul de deshidratare, respectiv primul proces de termoliză oxidativă. Ca urmare a coroborării informațiilor obținute din analiza datelor cinetice, se poate concluziona că toate procesele de descompunere ale sartanilor analizați sunt complexe. Astfel, procesele analizate în acest studiu constau din secvențe de reacții complexe (processe ce implică reacții paralele și succesive, processe cu etape reversibile și processe cu tranziție la regim de difuziune), curbele E_a vs. α prezintă minime, maxime și porțiuni în care E_a este independent de conversie.

Pentru fiecare sartan în parte au fost prezentate în teză dependențele liniare obținute în urma utilizării metodei ASTM E698 (a), avansul reacției în funcție de temperatură pe intervalul procesului investigat cinetic (b), variația vitezei de reacție în funcție de temperatură (c), reprezentarea liniarizată a dependenței Flynn–Wall–Ozawa la cele cinci viteze de încălzire selectate (d), dependența Friedman la cele cinci viteze de încălzire selectate (e), respectiv analiza variației E_a vs. α pentru cele două metode izoconversionale utilizate. Astfel, în cazul OLM (Figurile 4-5) au putut fi identificate două procese distincte, dintre care primul are loc în intervalul 170-195 °C și corespunde unei proces de deshidratare (conținut de apă teoretic 0,5 moli/mol OLM, conținut de apă determinat 0,52 moli/mol OLM), rezultatul fiind în acord cu

hemihidratul menționat în brevetul EP1801111 [30]. Este cunoscut faptul că deshidratarea hidraților activelor farmaceutice are loc în general la temperaturi apropiate de temperatura normală de fierbere a apei, având în vedere că în rețeaua moleculară se formează legături de hidrogen care sunt uzual învinse la această temperatură [31]. În cazul acestui hemihidrat, se observă că pierdea apei din rețea are loc la temperaturi considerabil mai mari, ceea ce indică o legare puternică a acesteia în rețeaua cristalină. Metoda ASTM E698 indică o energie de activare foarte mare ($342,9 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$), atipică pentru procesele de termoliză a activelor farmaceutice.

Metodele izoconversionale FR și FWO sugerează valori inexplicabil mai mari, așa cum se vede în Figura 4f; astfel, în cazul metodei FWO, se observă o scădere continuă a valorilor E_a cu avansul reacției, de la valoarea extremă de $518,8 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ (pentru o conversie de 5%) la $244,2 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ (pentru o conversie de 95%).

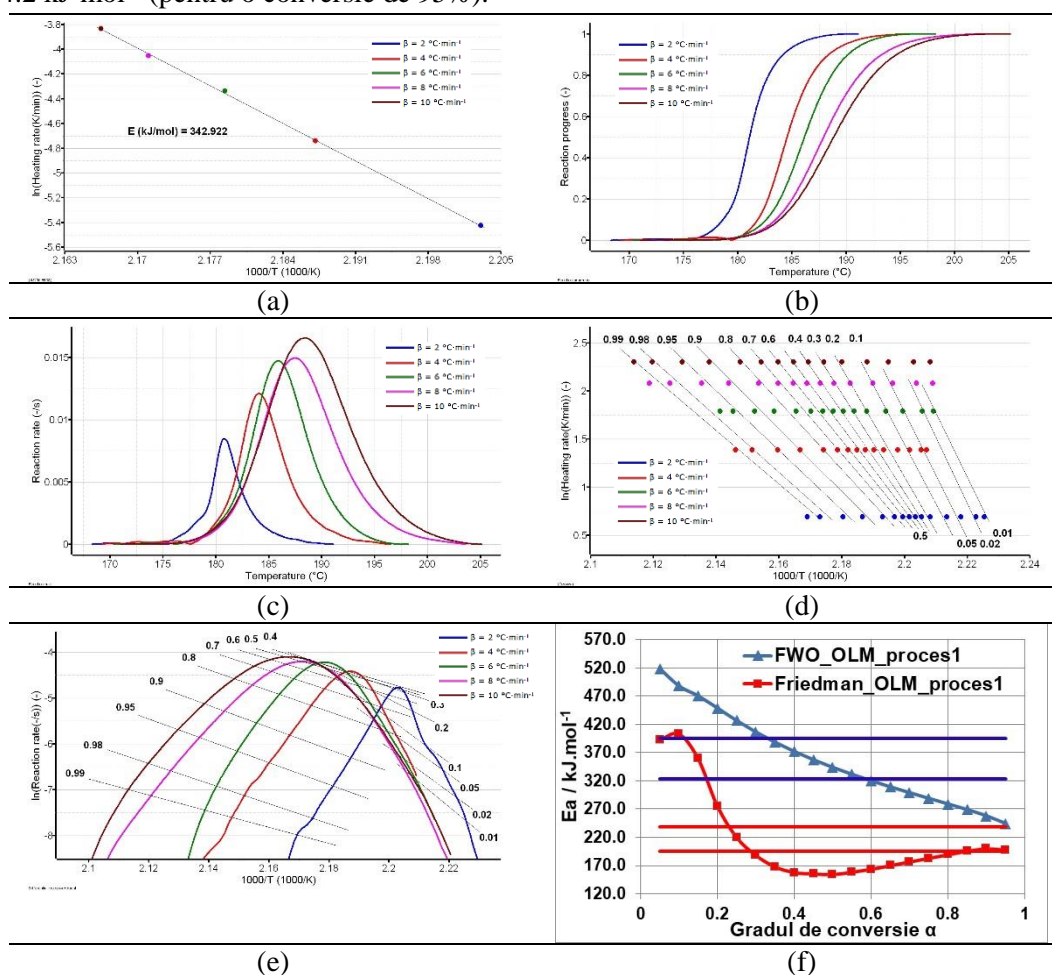


Figura 4. Rezultatele analizei cinetice efectuate asupra deshidratării OLM: (a) metoda cinetică ASTM E698; (b) avansul reacției vs. temperatură; (c) variația vitezei de reacție vs. temperatură; (d) graficul dependenței FWO; (e) graficul dependenței FR și (f) variația E_a vs. α conform metodelor FWO și FR

Această variație monotonă, dar extrem de largă poate fi explicată de influența pe care o are transferul de masă și căldură în cazul acestui hemihidrat: dacă analizăm sistemul olmesartan medoxomil-apă la nivel „macroscopic”, deducem că o moleculă de apă aparține în structura a două molecule de activ farmaceutic, sau altfel spus, la scară molară, 18 grame de apă sunt „legate”/”împărțite” de 2x558,6 grame IFA, adică 1117,2 grame. Aceste molecule de apă, puternic entrapate în rețeaua moleculară a OLM fac ca transferul de masă și termic să deuteze mai greu, necesitând energii mari, care se ”normalizează” o dată cu instaurarea unui regim staționar de difuzie a moleculelor de apă din solid. În timpul unor astfel de procese de deshidratare, au loc variații locale ale presiunii apei gazoase și ale temperaturii, care pot conduce la distorsionarea rezultatelor evaluărilor cinetice, ca urmare pot apărea false dependențe ale energiei de activare cu creșterea conversiei [32,33].

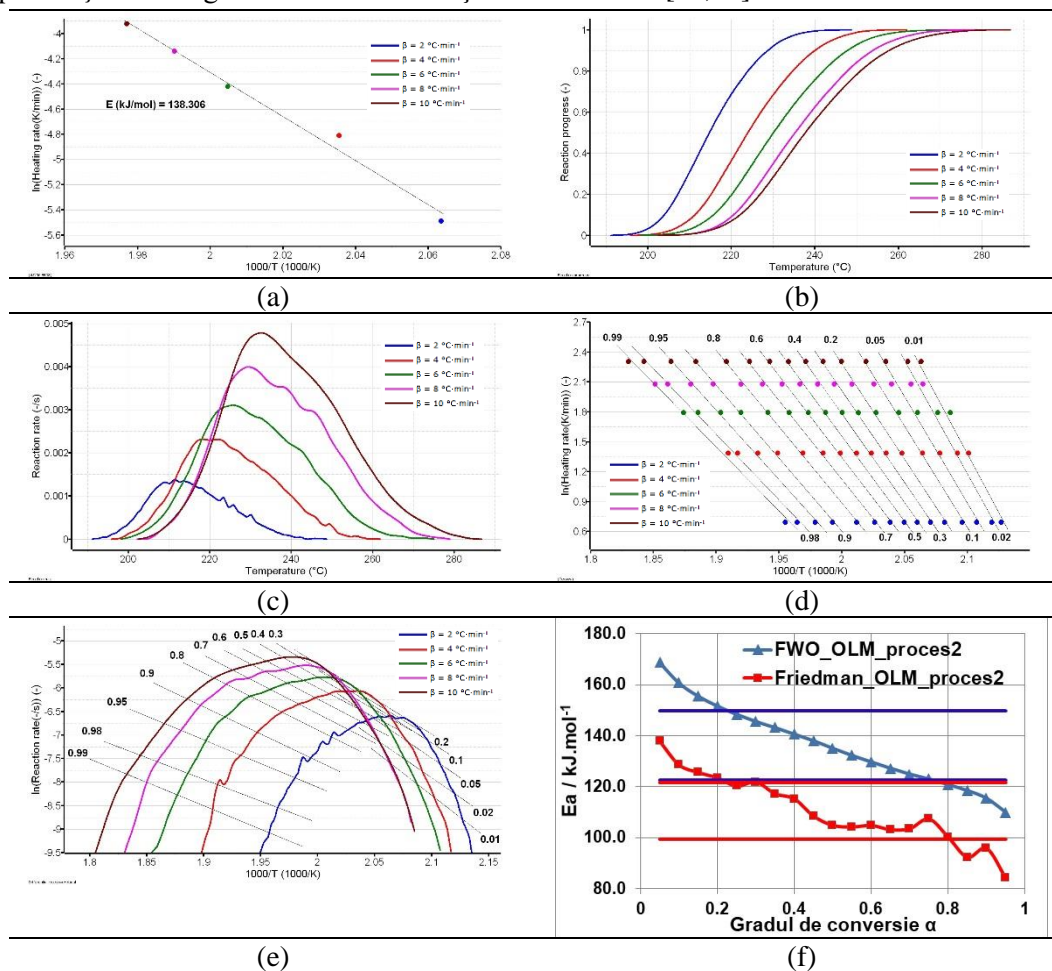


Figura 5. Rezultatele analizei cinetice efectuate asupra descompunerii OLM: (a) metoda cinetică ASTM E698; (b) avansul reacției vs. temperatură; (c) variația vitezei de reacție vs. temperatură; (d) graficul dependenței FWO; (e) graficul dependenței FR și (f) variația E_a vs. α conform metodelor FWO și FR

În cazul procesului de termoliză analizat pentru OLM (Figura 5), proces care urmează deshidratarea, se observă o tendință asemănătoare cu cea de la deshidratare în ceea ce privește variația energiilor de activare prin metoda FWO. În cazul descompunerii OLM anhidru, concurează mai multe procese, lucru certificat și de aspectul curbelor vitezelor de reacție vs. T (Figura 5c). variația observată în Figura 5 f poate fi explicată ca o consecință a procesului de difuzie a vaporilor de apă prin structura solidului activului farmaceutic, iar drept consecință, particulele de reactant își modifică continuu reactivitatea ca urmare a modificării rețelei cristaline, apariția unor defecte în rețea de tip goluri, migrarea acestora etc.

Al treilea studiu a urmărit analiza cineticii de degradare a medicamentului antihipertensiv moxonidină, ca ingredient pur (MOX) și sub forma a două amestecuri solide diferite, unul corespunzător unei formulări farmaceutice (MOXTAB) și celălalt unei formulări farmaceutice îmbogățite în MOX (MOXMIX). Deoarece MOXTAB conține o cantitate foarte mică de IFA (0,4 mg de MOX) per comprimat, am realizat un sistem model care mimează comportamentul ingredientului farmaceutic activ în formularea comercializată, prin adăugarea la nucleul comprimatului triturat a unei cantități necesare de substanță activă, astfel încât amestecul final să conțină o parte de IFA la cinci părți de nucleu. Analiza FTIR a fost efectuată pentru toate cele trei probe, și anume MOX sub formă pură, formularea farmaceutică disponibilă comercial, MOXTAB, care conține 0,4 mg MOX în fiecare comprimat filmat, și MOXMIX (amestecul 5:1 de MOXTAB și MOX), cu scopul de a caracteriza ingredientul farmaceutic activ pur și de a se identifica prezența acestuia în amestecuri. Profilele spectrale ale MOXTAB și MOXMIX sunt mai complexe datorită prezenței excipienților în amestecurile analizate (lactoză hidratată, povidonă K25, crospovidonă și stearat de magneziu). La analiza spectrului formulării farmaceutice MOXTAB, se poate observa faptul că semnalele asociate cu MOX sunt atenuate în intensitate și sunt evidențiate mai multe benzi care pot fi corelate cu prezența excipienților. De exemplu, vibrația de alungire a legăturilor O–H regăsite în structura lactozei determină o bandă largă în intervalul spectral 3450–2990 cm⁻¹ și bandă la 3524 cm⁻¹, în timp ce banda bine definită observată la 1655 cm⁻¹ caracterizează vibrația de alungire a legăturii C=O prezente în structura celorlalți trei excipienți. Cu toate acestea, adăugarea de MOX la MOXTAB în eșantionul MOXMIX este remarcată, deoarece în această probă, mai multe benzi care caracterizează MOX pură pot fi observate, iar intensitatea semnalelor obținute este crescută semnificativ.

Scopul studiului cinetic a fost de a evalua efectul excipienților asupra degradării MOX. Deoarece degradarea termică a MOX este un proces eterogen în stare solidă, cinetica de descompunere a fost evaluată din curbele TG/DTG folosind același protocol descris anterior.

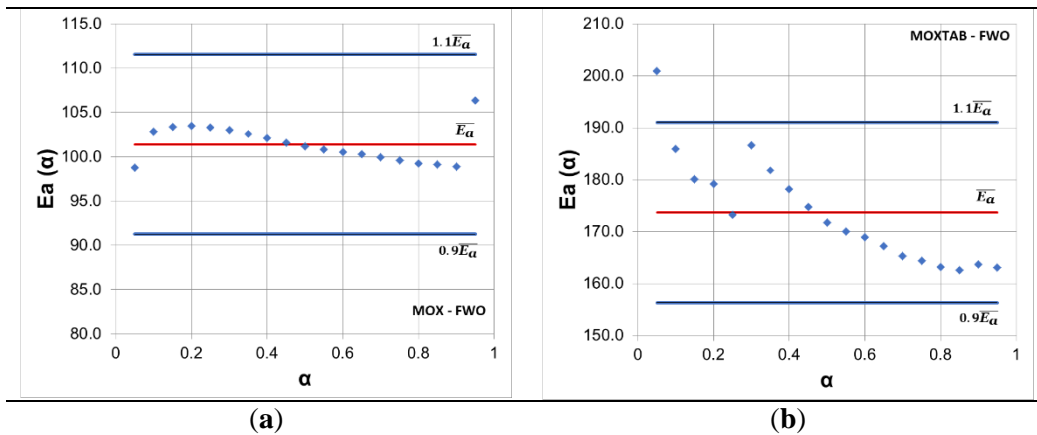
Procesul de degradare investigat cinetic a fost selectat pe baza aspectului curbelor TG/DTG/HF pentru MOX, iar același proces a fost ales atât pentru forma farmaceutică (MOXTAB) cât și pentru amestecul de probă îmbogățit cu MOX (MOXMIX), conform curbelor DTG. Pentru probele analizate, procesul de degradare care a fost investigat din punct de vedere cinetic, a fost ales pe baza aspectului curbelor DTG pentru fiecare viteză de încălzire, iar intervalele de temperatură sunt prezentate în Tabelul 3.

Tabel 3 Intervalul de temperatură conform curbelor DTG pentru procesul de degradare care a fost investigat prin analiză cinetică.

β ($^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$)	Interval de temperatură DTG ($^{\circ}\text{C}$) ales pentru analiza cinetică a probelor		
	MOX	MOXTAB	MOXMIX
5	174–244	187–243	150–227
7	175–247	190–248	154–231
10	175–253	193–254	165–241
15	176–260	199–259	168–243

Analiza datelor obținute (Figura 6) evidențiază faptul că prelucrarea prin integrare a datelor cinetice conform metodei izoconversionale FWO, sugerează faptul că degradarea tuturor probelor se caracterizează printr-un mecanism care nu este dependent de gradul de conversie, când $0,1 \leq \alpha \leq 0,95$. În cazul MOXTAB, există doar o valoare pentru E_a în afara intervalului de încredere, la $\alpha = 5\%$. Pentru toate probele, valorile E_a urmează tendințe diferite până la $\alpha = 0,25$ și pentru $\alpha > 0,3$, sugerând existența unor procese de degradare complexe. Această tendință este mai evidentă pentru MOXTAB și MOXMIX, unde prezența excipienților este motivul acestui comportament.

Metoda izoconversională FR (Figura 6d–f) evidențiază o dispersie mai mare a valorilor E_a vs. α , în afara limitei de 10%. Pentru MOX, valorile E_a sunt mai mari la începutul procesului, la grade de conversie mai mici ($\alpha < 0,2$) și la sfârșitul procesului ($\alpha > 0,85$). În plus, pentru MOXTAB și MOXMIX, variația E_a vs. α este neregulată, mai ales cu valori extreme pentru MOXMIX la $\alpha < 0,25$, sugerând un mecanism complex de descompunere a acestor probe sub stres termic.



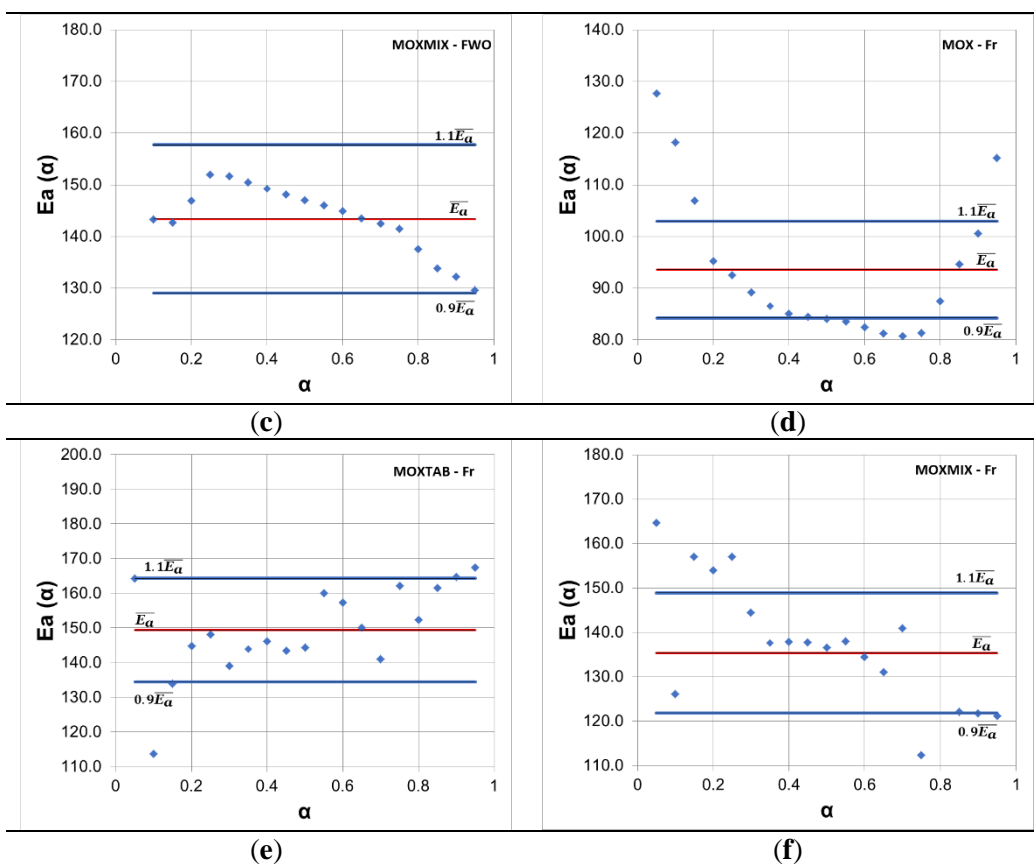


Figura 6 Variația E_a vs. α conform metodei integrale izoconversionale FWO (a,b,c) și metodei diferențiale izoconversionale FR (d,e,f) la analiza proceselor de descompunere pentru: (a,d) MOX; (b,e) MOXTAB și (c,f) MOXMIX.

Datele acestui studiu constituie cea de-a doua lucrare ISI publicată din tematica tezei de doctorat [34].

În cel de-al patrulea studiu, am investigat prepararea și caracterizarea unor aducții binari ai telmisartanului cu o serie de aminoacizi, și anume: glicină, L-alanină, acid L-aspartic, L-leucină, L-valină, L-cistină, L-cisteină și L-triptofan. Aducții binari au fost preparați prin metoda triturării în pastă, iar probele au fost investigate ulterior prin spectroscopie ATR-FTIR, analiză termică (TG/DTG/DSC) și studii de solubilitate în fluid gastric artificial, în suc intestinal artificial și în tampon fosfat de pH 7,4, folosind tehnica spectroscopică de absorbție în UV.

Analizând poziția benzilor caracteristice TELM pur vs. TELM în aducții binari, s-a putut observa că există o serie de deplasări de până la 6 cm^{-1} pentru benzile caracteristice grupelor funcționale care pot fi implicate în formare de interacțiuni intermoleculare în cocristale (și anume gruparea COOH prin $-\text{OH}$, dar și $\text{C}=\text{O}$, respectiv atomii de azot din ciclurile benzimidazolice). În cazul aducțiilor binari TELM+AA, deplasările benzilor caracteristice grupărilor „reactive” ale TELM observate nu sunt substanțiale, precum în cazul formării altor cocristale [35,36], dar ele există, confirmând formarea de interacțiuni intermoleculare în fază

solidă.

Prin coroborarea datelor de analiză termică înregistrate, s-a putut observa faptul că aducții binari prezintă o stabilitate termică bună. Tratamentul termic determină în prima instanță topirea/descompunerea aminoacizilor coformatori, urmată de topirea și descompunerea substanței active.

Determinarea profilului de solubilitate al TELM din aducții binari cu aminoacizii selectați s-a realizat prin metoda soluției saturate, pentru determinarea cantitativă a IFA apelându-se la spectrofotometrie de absorbție în UV. În acest scop, unui set de soluții apoase de TELM având concentrațiile c_e cuprinse în intervalul 0,66-26,6 $\mu\text{g/mL}$ li s-a înregistrat spectrul de absorbție în domeniul spectral 220-400 nm, la 25 °C (Figura 7). Dreptele de etalonare, cu ecuațiile corespunzătoare, sunt prezentate în Figura 8.

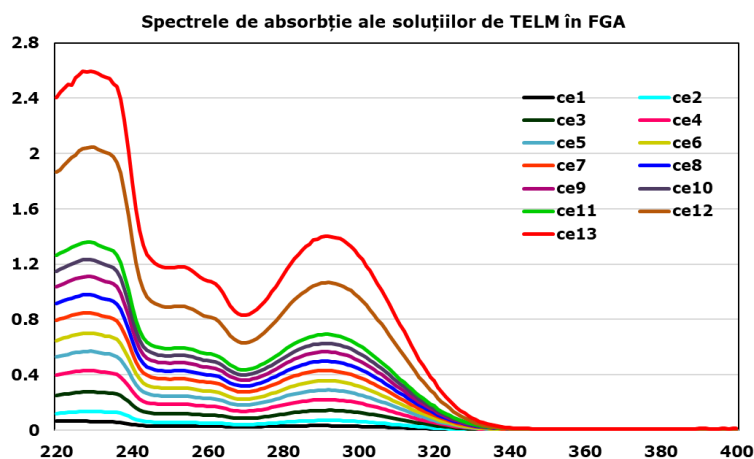


Figura 7 Spectrele de absorbție ale soluțiilor de TELM în FGA

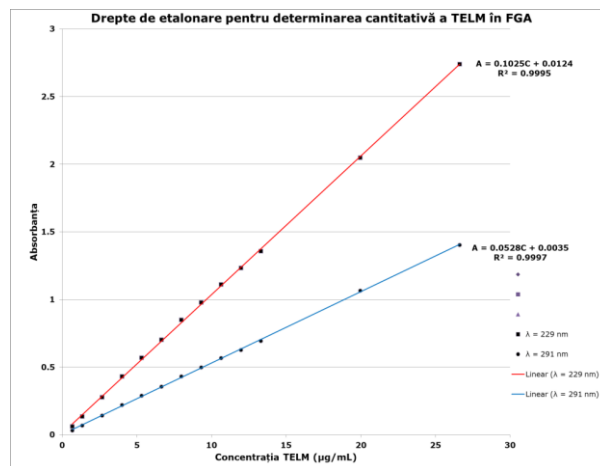


Figura 8 Dreptele de calibrare $A=f(c)$ pentru TELM în FGA la 229 nm (roșu) și 291 nm (albastru)

Datele de solubilitate obținute au sugerat că aminoacizii cu lanț hidrocarbonat scurt prezintă un efect puternic solubilizant asupra TELM în FGA de pH 1,20, chiar dacă la acest pH toate grupările aminice sunt protonate în soluție și interacțiunile ion-ion repulsive între cationii formați (ai aminoacizilor, prin gruparea aminică protonată $-\text{NH}_3^+$ și ai TELM, care la acest pH se găsește sub formă preponderentă TELMH_3^{2+} și minoritar TELMH_2^+ [37]) sunt de așteptat să apară.

Studiile realizate în fluid intestinal artificial și în tampon fosfat au avut o abordare simplificată, ținând cont de faptul că solubilitatea telmisartanului în aceste fluide este extrem de mică, neexistând posibilitatea de a construi drepte de etalonare.

Capitolul 3 prezintă partea experimentală, și anume materialele și metodele de lucru utilizate, protocoalele experimentale și echipamentele utilizate în prezenta teză de doctorat.

Capitolul 4 prezintă concluziile finale, care pot fi rezumate astfel:

- Primul studiu realizat a privit investigarea stabilității în stare solidă și cinetica degradării pentru candesartan cilexetil, atât sub formă de compus pur cât și într-o formulare farmaceutică, în prezența excipienților. Probele au fost investigate prin spectroscopie UATR-FTIR, care a certificat identitatea și puritatea ingredientului farmaceutic activ respectiv a confirmat că nu există interacțiuni între IFA și excipienții din comprimat;
- Curbele termoanalitice TG/DTG/HF caracteristice pentru ingredientul pur (candesartan cilexetil) și formularea farmaceutică au fost înregistrate și discutate la $\beta = 5 \text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$, tragându-se concluzia că profilul termoanalitic al comprimatului dezvăluie unele dintre caracteristicile candesartanului cilexetil însă a diferit semnificativ de cel al ingredientului farmaceutic activ, datorită complexității sale compoziționale;
- A fost realizat un studiu cinetic comparativ, folosind metoda preliminară neizoconversională ASTM E698, apoi metodele izoconversionale Friedman și Flynn-Wall-Ozawa, rezultatele obținute conducând la unele inadvertențe privind stabilitatea candesartanului cilexetil în formularea farmaceutică, în comparație cu activul pur;
- A fost utilizată metoda NPK modificată, singura metodă care a permis obținerea de informații importante cu privire la termoliză, inclusiv mecanismul de descompunere;
- În comparație cu rezultatele cinetice oferite de metodele ASTM E698, FR și FWO, cele oferite de metoda NPK au fost în concordanță pentru candesartan cilexetil în toate cazurile; pentru proba obținută din comprimat, rezultatele au confirmat datele evidențiate de metoda FWO, și anume un efect stabilizator asupra descompunerii candesartanului cilexetil în formularea farmaceutică, față de CC, datorită prezenței excipienților. Metoda NPK a sugerat faptul că ambele probe au fost degradate prin contribuția a două etape, etapa principală fiind degradarea chimică, iar etapa secundară fiind o transformare fizică. Excipienții aleși în formulare au un efect stabilizator, deoarece energia de activare aparentă pentru descompunerea comprimatului a fost de 192,5 kJ/mol, iar energia de activare aparentă pentru descompunerea sartanului pur a fost de 154,5 kJ/mol;
- Al doilea studiu realizat a urmărit evaluarea stabilității termice și cinetica degradării pentru alți agenți antihipertensivi din clasa sartanilor, și anume telmisartan (TELM),

valsartan (VLS), olmesartan medoxomil (OLM) și losartan potasic (LOS), pentru a avea o imagine de ansamblu asupra stabilității principalilor compuși utilizați în terapie din această clasă. Metodele cinetice utilizate au fost metoda preliminară ASTM E698, respectiv metoda FWO și FR. De asemenea, pentru OLM au fost investigate două procese din punct de vedere cinetic, și anume procesul de deshidratare, respectiv primul proces de termoliză oxidativă;

- Ca urmare a coroborării informațiilor obținute din analiza datelor cinetice, se poate concluziona că toate procesele de descompunere ale sartanilor analizați sunt complexe. Astfel, procesele analizate în acest studiu constau din secvențe de reacții complexe (processe ce implică reacții paralele și succesive, processe cu etape reversibile și processe cu tranziție la regim de difuziune), curbele Ea vs. α prezintă minime, maxime și porțiuni în care Ea este independent de conversie;
- Al treilea studiu a urmărit analiza stabilității termice și cinetica degradării moxonidinei ca ingredient pur vs. două amestecuri solide diferite, unul corespunzător unei formulări farmaceutice comercializate (MOXTAB) și celălalt unei formulări farmaceutice îmbogățite în MOX (MOXMIX). Tehnicile de investigare folosite au fost spectroscopia FTIR și analiza TG/DTG/HF, în timp ce datele termoanalitice au fost prelucrate conform metodei cinetice ASTM E698 și metodelor izoconversionale ale lui Flynn–Wall–Ozawa (FWO) și Friedman (FR). Metodele cinetice au evidențiat faptul că excipienții au un efect stabilizator asupra MOX (din punct de vedere al valorilor Ea), dar mecanismul de descompunere a probelor este complex, conform rezultatelor sugerate de analiza variației Ea cu creșterea gradului de conversie;
- Al patrulea studiu a constatat în obținerea și caracterizarea unor aducți binari ai telmisartanului cu o serie de aminoacizi, și anume: glicină, L-alanină, acid L-aspartic, L-Leucină, L-valină, L-cistină, L-cisteină și L-triptofan. Aducții binari au fost preparați prin metoda triturării în pastă, iar probele au fost investigate ulterior prin spectroscopie ATR-FTIR, analiză termică (TG/DTG/DSC) și studii de solubilitate în fluid gastric artificial de pH 1,20, în suc intestinal artificial de pH 6,80 și în tampon fosfat de pH 7,4, folosind tehnica spectroscopică de absorbție în UV;
- Spectroscopia FTIR indică existența unor deplasări de până la 6 cm^{-1} pentru benzile caracteristice grupelor funcționale care pot fi implicate în formare de interacțiuni intermoleculare în cocristale (și anume gruparea COOH prin –OH, dar și C=O, respectiv atomii de azot din ciclurile benzimidazolice, prin urmare este de așteptat ca sintonul din aducții binari să fie format prin interacțiuni moleculare între aceste grupe funcționale;
- Datele de analiză termică obținute în condiții dinamic-oxidative indică faptul că aducții binari prezintă o stabilitate termică bună; încălzirea aducțiilor determină în prima instanță topirea/descompunerea aminoacizilor coformatori, urmată de topirea și descompunerea telmisartanului;
- Determinarea profilului de solubilitate al TELM din aducții binari cu aminoacizii selectați s-a realizat prin metoda soluției saturate, pentru determinarea cantitativă a IFA apelându-se la spectrofotometrie de absorbție în UV. Din analiza datelor obținute, se

observă că legea Bouguer-Lambert-Beer este valabilă până la o concentrație de 26,6 $\mu\text{g/mL}$, la ambele lungimi de undă la care telmisartanul prezintă maxime de absorbție în domeniul UV (229, respectiv 219 nm).

- A fost determinată solubilitatea telmisartanului la 25 °C în FGA de pH 1,2, obținându-se valorile $193,88 \pm 21,28 \mu\text{g/mL}$ (la 221 nm), respectiv $197,37 \pm 12,45 \mu\text{g/mL}$ (la 291 nm).
- Analiza solubilității aducțiilor binari în fluid gastric artificial de pH 1,2 a fost evaluată în comparație cu telmisartanul pur tot prin spectroscopie UV, aminoacizii selectați fiind practic transparenti spectral la 291 nm, cu toate că soluțiile preparate au fost destul de concentrate (între 1,33 și 6,61 mg/mL), cu excepția triptofanului, care prezintă o absorbție semnificativă datorată restului indolic din structură.
- Din datele de solubilitate obținute, se poate observa că aminoacizii cu lanț hidrocarbonat scurt prezintă un efect puternic solubilizant asupra telmisartanului în fluidul gastric artificial; de asemenea, o creștere considerabilă a solubilității (aproape dublă) este observată la utilizarea acidului L-aspartic ca agent de coformare.
- Aminoacizii cu lanț hidrocarbonat mai mare (VAL și LEU) determină creșteri neesențiale de solubilitate pentru activul farmaceutic, lucru care nu ar justifica potențiala utilizare a lor în formulare.
- Aminoacizii cu conținut de sulf studiați determină scăderea drastică a solubilității telmisartanului în fluidul gastric artificial, și prin urmare nu vor fi luați în vedere drept coformatori pentru designul de aducții binari.
- Studiile realizate în fluid intestinal artificial și în tampon fosfat au avut o abordare simplificată, ținând cont de faptul că solubilitatea telmisartanului în aceste fluide este extrem de mică, neexistând posibilitatea de a construi drepte de etalonare.
- Având în vedere faptul că soluțiile saturate obținute ca urmare a folosirii metodei soluției saturate au putut fi dozate fără diluare prin spectroscopie UV, atât pentru fluidul intestinal artificial cât și pentru tamponul fosfat, a permis dozarea telmisartanului din aducții binari prin aceeași metodă.
- Deoarece influența mediului de dizolvare determină deplasarea batocromă maximului de absorbție al activului farmaceutic de la 229 nm la 235 nm, această lungime de undă nu a mai putut fi folosită pentru dozare, neexistând posibilitatea de a prepara soluții etalon de concentrații rezonabile în cele două fluide. Ca urmare a avantajului faptului că maximum de absorbție de la 291 nm se menține și cu creșterea pH-ului, dozarea la această lungime de undă a fost posibilă. Astfel, se poate concluziona că toți aminoacizii au efect solubilizant considerabil asupra telmisartanului (creștere a solubilității de până la 13 ori) în fluidul intestinal artificial, cu excepția cistinei, pentru care creșterea de solubilitate este neesențială.
- Mărirea pH-ului cu 0,60 de unități în tamponul fosfat față de fluidul intestinal artificial determină o creștere destul de accentuată a solubilității telmisartanului în prezența aminoacizilor. Acest lucru ar putea fi explicat atât prin creșterea solubilității intrinseci a activului farmaceutic, dar și prin apariția unor echilibre de ionizare în care este implicat atât TELM, cât și aminoacizii. Faptul că la o așa variație mică de pH, creșterea

solubilității este considerabilă, arată potențialul de utilizare al acestor aducți în terapie, în dezvoltarea unor forme farmaceutice cu absorbție la nivelul mucoasei intestinale, aceasta fiind locul principal al absorbției activelor farmaceutice administrate per os.

Referințe

1. Ahmed, S.; Amin, M.M.; Sayed, S. A comprehensive review on recent nanosystems for enhancing antifungal activity of fenticonazole nitrate from different routes of administration. *Drug Deliv.* **2023**, *30*.
2. Pınar, S.G.; Oktay, A.N.; Karaküçük, A.E.; Çelebi, N. Formulation Strategies of Nanosuspensions for Various Administration Routes. *Pharmaceutics* **2023**, *15*.
3. Marzaman, A.N.F.; Roska, T.P.; Sartini, S.; Utami, R.N.; Sulistiawati, S.; Enggi, C.K.; Manggau, M.A.; Rahman, L.; Shastri, V.P.; Permana, A.D. Recent Advances in Pharmaceutical Approaches of Antimicrobial Agents for Selective Delivery in Various Administration Routes. *Antibiotics* **2023**, *12*.
4. Rama, B.; Ribeiro, A.J. Role of nanotechnology in the prolonged release of drugs by the subcutaneous route. *Expert Opin. Drug Deliv.* **2023**, *20*, 559–577.
5. Mirdad, A.; Hussain, F.K.; Hussain, O.K. A systematic literature review on pharmaceutical supply chain: research gaps and future opportunities. *Int. J. Web Grid Serv.* **2023**, *19*, 233–258.
6. Alharbi, E.; Skeva, R.; Juty, N.; Jay, C.; Goble, C. A FAIR-Decide framework for pharmaceutical R&D: FAIR data cost–benefit assessment. *Drug Discov. Today* **2023**, *28*, 1–6.
7. Veeravalli, V.; Cheruvu, H.S.; Srivastava, P.; Vamsi Madgula, L.M. Three-dimensional aspects of formulation excipients in drug discovery: a critical assessment on orphan excipients, matrix effects and drug interactions. *J. Pharm. Anal.* **2020**, *10*, 522–531.
8. Kalasz, H.; Antal, I. Drug Excipients. *Curr. Med. Chem.* **2006**, *13*, 2535–2563.
9. Petersen, K.U. Original brands and generic preparations. *Med. Klin.* **2000**, *95*, 26–30.
10. Beall, R.F.; Kesselheim, A.S.; Sarpatwari, A. New drug formulations and their respective generic entry dates. *J. Manag. Care Spec. Pharm.* **2019**, *25*, 218–224.
11. Katoh, H.; Yoshii, M.; Ozawa, K. Comparative study of drug efficacy and drug additives between generic drugs and original drugs. *Yakugaku Zasshi* **2007**, *127*, 2035–2044.
12. Kaur, S.; Hamid, J.U.; Gupta, S. Reverse Engineering of Medicinal and Nutritional Products - Approaches Available for Generic Product Development. *Curr. Anal. Chem.* **2022**, *19*, 130–146.
13. Cotia, A.; Oliveira Junior, H.A.; Matuoka, J.Y.; Boszczowski, Í. Clinical Equivalence between Generic Versus Branded Antibiotics: Systematic Review and Meta-Analysis. *Antibiotics* **2023**, *12*.
14. Dong, Z.; Zhang, S.; Wu, S.; Xie, X.; Sun, G.; Yu, X. Study on the accessibility and affordability of 50 drugs in Wuhan based on the WHO/HAI standardization method. *Front. Public Heal.* **2023**, *11*.
15. Pinto, E.C.; Carmo, F.A. do; Honório, T. da S.; Barros, R. de C. da S.A.; Castro, H.C.R.; Rodrigues, C.R.; Esteves, V.S.D.; Rocha, H.V.A.; Sousa, V.P. de; Cabral, L.M. Influence of the Efavirenz Micronization on Tableting and Dissolution. *Pharmaceutics* **2012**, *4*, 430–441.
16. Viet Nguyen, K.; Laidmäe, I.; Kogermann, K.; Lust, A.; Meos, A.; Viet Ho, D.; Raal, A.; Heinämäki, J.; Thi Nguyen, H. Preformulation Study of Electrospun Haemanthamine-

- Loaded Amphiphilic Nanofibers Intended for a Solid Template for Self-Assembled Liposomes. *Pharmaceutics* **2019**, *11*, 499.
17. Modhave, D.; Barrios, B.; Paudel, A. PVP-H₂O₂ Complex as a New Stressor for the Accelerated Oxidation Study of Pharmaceutical Solids. *Pharmaceutics* **2019**, *11*, 457.
 18. Oliveira, L.J.; Stofella, N.C.F.; Veiga, A.; Federle, S.; Toledo, M. da G.T.; Bernardi, L.S.; Oliveira, P.R.; Carvalho Filho, M.A.S.; Andrezza, I.F.; Murakami, F.S. Physical-chemical characterization studies of ketoprofen for orodispersible tablets. *J. Therm. Anal. Calorim.* **2018**, *133*, 1521–1533.
 19. Ledeti, I.; Ledeti, A.; Vlase, G.; Vlase, T.; Matusz, P.; Bercean, V.; Şuta, 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.
 20. Bandas (Ratiu), C.; Orha, C.; Misca, C.; Lazau, C.; Sfirloaga, P.; Olariu, S. Photocatalytical Inactivation of *Enterococcus faecalis* from Water Using Functional Materials Based on Natural Zeolite and Titanium Dioxide. *Chinese J. Chem. Eng.* **2014**, *22*, 38–43.
 21. Faya, P.; Seaman, J.W.; Stamey, J.D. Using accelerated drug stability results to inform long-term studies in shelf life determination. *Stat. Med.* **2018**, *37*, 2599–2615.
 22. Zilker, M.; Sörgel, F.; Holzgrabe, U. A systematic review of the stability of finished pharmaceutical products and drug substances beyond their labeled expiry dates. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2019**, *166*, 222–235.
 23. Ledeti, I.; Pusztai, A.M.; Murariu, M.; Olariu, S.; Ivan, C.; Circioban, D.; Vlase, G.; Ledeti, A.; Vlase, T.; Matusz, P. Comparative instrumental investigations of some bile acids. *J. Therm. Anal. Calorim.* **2018**, *134*, 1345–1350.
 24. Ledeti, A.; Vlase, G.; Vlase, T.; Circioban, D.; Dehelean, C.; Ledeti, I.; Suta, L.M. Binary adduct formation of desipramine with dicarboxylic acids: An instrumental study. *J. Therm. Anal. Calorim.* **2018**, *131*, 167–173.
 25. Ledeti, I.; Bolinteanu, 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**, *130*, 433–441.
 26. Ledeti, I.; Pusztai, A.M.; Muresan, C.M.; Circioban, D.; Vlase, G.; Murariu, M.; Suta, L.-M.; Vlase, T.; Ledeti, A.; Suci, O.; et al. Study of solid-state degradation of prochlorperazine and promethazine. *J. Therm. Anal. Calorim.* **2018**, *134*, 731–740.
 27. Wu, C.; You, J.; Wang, X. Study on the thermal decomposition of famciclovir. *J. Therm. Anal. Calorim.* **2018**, *131*, 1361–1371.
 28. Dartora, P.C.; Loureiro, M. da R.; de Camargo Forte, M.M. Crystallization kinetics and morphology of poly(lactic acid) with polysaccharide as nucleating agent. *J. Therm. Anal. Calorim.* **2018**, *134*, 1705–1713.
 29. Buda, V.; Baul, B.; Andor, M.; Man, D.E.; Ledeti, A.; Vlase, G.; Vlase, T.; Danciu, C.; Matusz, P.; Peter, F.; et al. Solid state stability and kinetics of degradation for candesartan—Pure compound and pharmaceutical formulation. *Pharmaceutics* **2020**, *12*.
 30. ANTONCIC, L. Novel polymorph forms of olmesartan medoxomil 2014.
 31. Jurczak, E.; Mazurek, A.H.; Szeleszczuk, Ł.; Pisklak, D.M.; Zielińska-Pisklak, M. Pharmaceutical hydrates analysis—overview of methods and recent advances. *Pharmaceutics* **2020**, *12*, 1–25.
 32. Budrugaec, P.; Segal, E. Some methodological problems concerning nonisothermal kinetic analysis of heterogeneous solid-gas reactions. *Int. J. Chem. Kinet.* **2001**, *33*, 564–

- 573.
33. Segal, E.; Doca, N.; Budruga, P.; Popescu, C.; Carp, O.; Vlase, T. *Analiza termică. Fundamente și aplicații - Analiza cinetică a transformărilor eterogene*; Editura Academiei Române: București, 2013; ISBN 978-973-27-2281-7.
 34. Baul, B.; Ledeti, A.; Circioban, D.; Ridichie, A.; Vlase, T.; Vlase, G.; Peter, F.; Ledeti, I. Thermal Stability and Kinetics of Degradation of Moxonidine as Pure Ingredient vs. Pharmaceutical Formulation. *PROCESSES* **2023**, *11*.
 35. Fuliș, A.; Vlase, G.; Ledeti, I.; Șuta, L.M. Ketoprofen-cysteine equimolar salt: Synthesis, thermal analysis, PXRD and FTIR spectroscopy investigation. *J. Therm. Anal. Calorim.* **2015**, *121*, 1087–1091.
 36. Fuliș, A.; Vlase, G.; Vlase, T.; Șuta, L.-M.; Șoica, C.; Ledeti, I. Screening and characterization of cocrystal formation between carbamazepine and succinic acid. *J. Therm. Anal. Calorim.* **2015**, *121*.
 37. Kádár, S.; Csicsák, D.; Tózsér, P.; Farkas, A.; Pála, T.; Mirzahosseini, A.; Tóth, B.; Tóth, G.; Fiser, B.; Horváth, P.; et al. Understanding the pH Dependence of Supersaturation State—A Case Study of Telmisartan. *Pharmaceutics* **2022**, *14*.