

Raport de activitate 2023

Proiect PD 45/2020

De la amorf la cristalin: în căutarea de noi formulări farmaceutice cu stabilitate îmbunătățită a unor medicamente reprezentative din clasa statinelor (CryStatin)

Rezumatul etapei

În această etapă a proiectului au fost efectuate următoarele activități: 3.1 Design rational pentru formarea de co-cristale farmaceutice ale Pravastatin; 3.2 Experimente de co-cristalizare pentru Pravastatin; 3.3 Identificarea de forme solide noi prin XRD și SC pentru probele obținute în urma experimentelor de co-cristalizare pentru Pravastatin; 3.4 Obținerea la scală mare a formelor solide noi ale Pravastatin; 3.5 Determinarea structurii cristaline pentru formelor solide noi ale Pravastatin; 3.6 Experimente de stabilitate și determinarea vitezei de dizolvare pentru formelor solide noi ale Pitavastatin și Pravastatin; 3.7 Diseminarea rezultatelor; 3.8 Management proiect;

Pentru fiecare activitate sunt prezentate în continuare succint rezultatele obținute:

Activitate 3.1 - Design rational pentru formarea de co-cristale farmaceutice ale Pravastatin

Pentru compusul Pravastatin au fost alese următoarele metode de cristalizare și co-cristalizare:

Cristalizare prin răcire, Cristalizarea prin co-dizolvare și evaporare lentă, Cristalizarea prin difuzie de vapori de anti-solvent în lichide, Cristalizarea prin amestecare mecanică cu solvent - moara cu bile.

Activitate 3.2 - Experimente de co-cristalizare pentru Pravastatin

În cadrul acestei activități au fost desfășurate patru tipuri de experimente, utilizând un număr variat de solvenți/amestecuri de solvenți, co-formeri precum și condiții experimentale diferite.

Activitate 3.3 - Identificarea de forme solide noi prin XRD și SC pentru probele obținute în urma experimentelor de co-cristalizare pentru Pravastatin

După analiza datelor înregistrate prin XRD, rezultă că în urma experimentelor de *Cristalizare prin răcire* s-au obținut probe cu o cristalinitate îmbunătățită la probele 1, 2, 3, 5, 8 și 9 Pra Na crist. Aceste probe au fost preparate în solvenții: Tetrahydrofuran, Ethanol, 2,2,2-Trifluoroethanol, Acetone:H₂O (8:2), Acetone și Methanol. Cea mai ridicată cristalinitate s-a obținut pentru proba 1 Pra Na crist.

În urma experimentelor de *Cristalizarea prin co-dizolvare și evaporare lentă* pentru compusul Pravastatin au fost obținute patru forme solide noi: 3 Pra A (co-cristalizare cu Diethylamine), 8 Pra A (co-cristalizare cu Oxalic acid), 9 Pra A (co-cristalizare cu Fumaric acid) și 10 Pra A (co-cristalizare cu Adipic acid).

În urma experimentelor de *Cristalizarea prin difuzie de vapori de anti-solvent în lichide* pentru compusul Pravastatin sodium au fost analizate prin XRD probele 3 Pra Na VD, 5 Pra Na VD, 6 Pra Na VD și

9 Pra Na VD, celelalte probe au fost sub formă de clei și nu au putut fi analizate. În urma acestui experiment nu s-au obținut forme solide noi.

Au fost efectuate opt experimente de *Cristalizarea prin amestecare mecanică cu solvent - moara cu bile*, care au fost analizate prin XRD. În urma experimentelor s-a obținut o formă solidă nouă cu Sodium carbonate anhydrous – probele 3 Pi G1 și 4 Pi G1.

Activitate 3.4 - Obținerea la scală mare a formelor solide noi ale Pitavastatin

Pentru această activitate au fost selecționate două forme solide noi 9 Pra A și 5 Pra Na G1 pentru a fi reproduse la scală mare. Pentru fiecare probă s-a definit un protocol de obținere. După analiza datelor de difracție de raze X rezulta ca cele două forme solide noi au fost obținute la scală mare.

Activitate 3.5 - Determinarea structurii cristaline pentru formelor solide noi ale Pravastatin)

Pentru determinarea unor modele de structură cristalină prin analiza datelor de difracție de raze X pe pulberi am parcurs următoarele etape: pregătirea adecvată a probei, ajustarea parametrilor experimentali și înregistrarea unei difractograme de înaltă rezoluție, introducerea parametrilor experimentali, indexarea difractogramei, determinarea grupului spațial, rafinarea Pawley [6], căutarea unor modele structurale preliminare cu ajutorul algoritmilor de calcul, rafinarea cu ajutorul metodei Rietveld.

Pentru două dintre formele solide noi obținute (9 Pra A și 5 Pra Na G1) am aplicat de determinare a structurii cristaline.

Determinarea structurii cristaline prin Difracție de raze X pentru 9 Pra A:

Pentru obținerea celor mai bune rezultate în urma procesului de indexare au fost aplicate următoarele programe: DICVOL91, TREOR90 și X-Cell. Cele mai bune rezultate au fost obținute după indexarea cu DICVOL91. Soluția structurală aleasă fost $a= 14.1099$, $b= 12.836$, $c= 7.638$, $\alpha= 8.338$, $\lambda= 38.527$, $\beta= 144.925$, $\gamma= 136.357$ sistemul cristalografic *triclinic*. Căutarea unui model structural s-a desfășurat cu ajutorul algoritmului de calcul, Simulated Annealing. În urma rafinării Rietveld nu s-a obținut o figura de merit acceptabilă din punct de vedere cristalografic.

Determinarea structurii cristaline prin Difracție de raze X pentru 5 Pra Na G1:

Pentru obținerea celor mai bune rezultate în urma procesului de indexare au fost aplicate următoarele programe: DICVOL91, TREOR90 și X-Cell. În urma procesului de indexare nu s-a obținut, cu nici un program enumerate mai sus, parametri celului elementare realiști. De aici s-a ajuns la concluzia că proba investigată nu este suficient de cristalină pentru a putea să determinăm structura cristalină din pulberi.

Activitate 3.6 - Experimente de stabilitate și determinarea vitezei de dizolvare pentru formelor solide noi ale Pitavastatin și Pravastatin)

În procesul de dezvoltare a compușilor farmaceutici testele de stabilitate fizico-chimică prezintă o importanță majoră. În particular, stabilitatea în stare solidă a formelor solide noi are implicații importante în procesul de producție și stocare a medicamentelor administrate pe cale orală. În cadrul acestei activități s-a utilizat o procedură de testare accelerată a stabilității, prin expunere la temperatură și umiditate ridicate (în concordanță cu normele Internaționale *ICH Guidelines*). Cele două probe supuse condițiilor experimentale și testate la anumite intervale de timp pentru a vedea dacă apar modificări structurale. Prin compararea difractogramelor am ajuns la concluzia că cele două probe sunt stabile după trei luni de la expunere la la temperatură și umiditate ridicate.

Evaluarea solubilității

Solubilitatea preparatelor 10 Pi G1, 5 Pi VD și 7 Pi VD a fost evaluată printr-o metodă optică nefelometrică. Pentru aceasta s-a folosit un sistem optic echipat cu un detector simultan CCD Silver Nova (Ocean Optics, USA) iar experimentele au fost efectuate la lungimea de undă de $\lambda=660$ nm, cu timp de integrare 500 ms. Verificarea solubilității a fost realizată în apă distilată.

În timp ce solubilitatea preparatelor 7 Pi VD și 10 Pi G1 a fost mai slabă față de standardul de Pitavastatin, compusul 5 Pi VD a prezentat o creșterea a solubilității de aproape 4 ori.

Director proiect
Dr. Miclăuș Maria Olimpia

Borodi M.