

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ – ХЕМИЈСКИ ФАКУЛТЕТ

НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ

Предмет: Пријава теме докторске дисертације Младена Ђурђевића, мастер хемичара, дипломираног биохемичара, докторанда Универзитета у Београду – Хемијског факултета, истраживача-приправника запосленог у Универзитету у Београду – Институту за хемију, технологију и металургију – Институту од националног значаја за Републику Србију (ИХТМ)

Молим Наставно-научно веће Универзитета у Београду – Хемијског факултета да одобри тему докторске дисертације под насловом:

„Повећање растворљивости активних фармацеутских супстанци киселинско-базним интеракцијама: проучавање интеракција у раствору и својстава чврсте фазе у хетерогеним системима одабраних молекула и слабих органских киселина или база“

ОБРАЗЛОЖЕЊЕ ТЕМЕ

Научна област: Хемија

Ужа научна област: Аналитичка хемија

1. Предмет научног истраживања

Растворљивост активних фармацеутских супстанци (АФС) у воденим системима у највећој мери зависи од киселинско-базних равнотежа и равнотежа које се у хетерогеном систему успостављају између раствора и издвојене чврсте фазе. Промена рН вредности водених раствора слабо растворних АФС утиче на њихову растворљивост због изражених промена степена дисоцијације, јонске силе раствора и активитета појединачних у раствору присутних јона, природе контрајона (обично јона који потичу од пуфера и/или позадинског електролита), солватације и стабилности молекула у раствору насталом хетерогеном систему [1-3].

Метода киселинско-базне суперсолубилизација (КБС, енгл. *acid-base supersolubilization*) описана је као начин за изразито повећање растворљивости слабо растворљивих АФС применом концентрованих раствора слабих киселина (ако је АФС база) или база (ако је АФС киселина). Применом слабих органских киселина или база у великом вишку у односу на АФС издвојена чврста фаза обично нема стехиометријски дефинисан састав, а у комплексном хетерогеном систему који настају може имати значајан утицај на растворљивост АФС [4-6]. У првим објављеним радовима на ову тему показано је да концентровани раствори слабих органских киселина могу да доведу до значајног повећања растворљивости халоперидола и до настанка аморфних чврстих фаза, различитих од почетне АФС [4]. Са друге стране, испитивање изолованих соли халоперидола са slabим карбоксилним киселинама (нпр. винска, глутарна, малеинска), показало је да структура

киселине и стехиометријски однос компонената могу утицати на настанак различитих кристалних облика, укључујући хидрате и полиморфне форме [7-8]. На основу досадашњих студија може се закључити да су повећање растворљивости АФС и природа изоловане чврсте фазе уско повезани. Новија истраживања са другим базним и киселим АФС потврђују да су структура слабе киселине или базе, њена концентрација и природа добијене чврсте фазе кључни и за КБС [6, 9].

Предмет предложене докторске дисертације је испитивање механизма који доводе до повећане растворљивости две АФС различитих киселинско-базних својстава: халоперидола, као слабо растворљиве органске базе, и ибупрофена, као органске киселине. Као модел базне АФС одабран је халоперидол, слабо растворљива органска база за коју је претходно показано изразито повећање растворљивости у концентрованим растворима слабих органских киселина [4] Ибупрофен је одабран као модел киселе АФС са израженом рН-зависном растворљивошћу, ради провере КБС система у концентрованим растворима слабих органских киселина, у којима се не очекује повећање растворљивости засновано на промени степена јонизације. Поред система халоперидола са одабраним slabим органским киселинама, биће испитан и контролни систем халоперидол-етаноламин, аналоган систему ибупрофен-органска киселина, у ком јонизација АФС није очекивана. Овакво поређење ће омогућити да се од ефеката јонизације разграниче други концентрационо зависни фактори који могу допринети повећању растворљивости у овим системима.

Истраживање ће обухватати системе халоперидола са сирћетном и деутеросирћетном, винском и глутарном киселином, као и систем халоперидол-етаноламин као упоредни систем за проверу КБС механизма. Упоредни део истраживања обухватиће растворљивост ибупрофена у концентрованим растворима одабраних киселина. Овај систем је одабран као систем у ком нису очекиване киселинско-базне интеракције ни КБС. Додатно ће бити урађена и физичко-хемијска карактеризација раствора малих органских киселина кроз одређивање густине, електричне и моларне проводљивости ради добијања података о промени средине у растворима са повећањем концентрације киселина. Ови подаци ће омогућити додатан увид у промене до којих долази у систему по додатку слабо растворљивих АФС у растворе слабих киселина.

Истраживања ће обухватати одређивање профила растворљивост одабраних АФС у функцији концентрације киселине/базе и рН (pD) вредности након успостављања равнотежног стања у хетерогеном систему са АФС. На основу добијених профила растворљивости биће идентификоване промене механизма растварања АФС и одређене критичне концентрације киселине при којима су промене, уколико постоје, најзначајније.

Промене у растворима одабраних АФС ће бити испитиване једно- и дводимензионалном NMR спектроскопијом, праћењем концентрационо зависних промена хемијских померања, промене молекулског окружења и конформационог понашања одабраних АФС. NMR спектроскопија ће додатно бити искоришћена и за проучавање измена водоника деутеријумом у деловима молекула халоперидола осетљивим на енолизацију.

Паралелно са испитивањем течне фазе биће одређен састав и урађена карактеризацији чврстих фаза добијених током одређивања растворљивости. АФС и органске киселине у чврстим фазама ће бити квантификоване применом течне хроматографије високих перформанси (HPLC), док ће FTIR спектроскопија, диференцијална скенирајућа калориметрија (DSC), термогравиметријска анализа (TGA) и дифракција x-зрака на праху (PXRD) бити искоришћене за испитивање природе чврстих фаза.

Експериментални резултати ће бити допуњени рачунарским моделовањем. COSMO-RS моделовање ће бити примењено за анализу солватационих својстава испитиваних система. Резултати моделовања биће разматрани заједно са експериментално утврђеним трендовима растворљивости и спектроскопским подацима.

Оригиналност истраживања заснива се на проучавању раствора и чврсте фазе у циљу увида у механизме који доводе до значајног повећања растворљивости у системима АФС и слабих органских киселина или база. Биће размотрен утицај промене степена јонизације АФС, промене молекулског окружења у концентрованим растворима и промена природе чврсте фазе.

2. Основне хипотезе

Истраживање ће бити засновано на следећим хипотезама:

1. повећана растворљивост слабо растворљивих АФС у концентрованим растворима слабих органских киселина или база у којима не долази до формирања соли (КБС) резултат је успостављања комплексних равнотежа које осим промене јонизационог стања и размене протона (протолитичке равнотеже) укључују и агрегацију различитог степена (зависно од структуре АФС и врсте и концентрације киселине/базе), солватационе ефекте и фазне прелазе.
2. Степен и механизам повећања растворљивости слабо растворљивих АФС у системима описаним под хипотезом 1 зависни су од концентрације слабих органских киселина или база.
3. Структура, концентрација и физичко-хемијска својства органске киселине или базе утичу на повећање растворљивости.
4. У концентрованим растворима слабих киселина долази до конформационих промена халоперидола.
5. Промене у саставу и структури чврсте фазе у описаним хетерогеним системима у корелацији су са променама механизма растварања при чему се природа чврсте фазе мења са концентрацијом и тиме у различитој мери утиче на повећање растворљивости.
6. Промене у растворљивости АФС се могу јавити и у системима у којима јонизација није очекивана, што би указало да солватација, молекулска асоцијација и промене у саставу и структури чврсте фазе имају независан допринос повећању растворљивости.

3. Циљ истраживања и очекивани резултати

Општи циљ ове докторске дисертације је стицање увида у начине повећања растворљивости халоперидола и ибупрофена као одабраних АФС у системима слабих органских киселина или слабе органске базе (етаноламина) под утицаја промене степена јонизације АФС, промене молекулског окружења у концентрованим растворима и промена природе чврсте фазе.

Специфични циљеви истраживања:

1. одредити густину, електричну и моларну проводљивост изабраних раствора малих органских киселина и повезати ове параметре са променом састава и својстава испитиваних раствора;
2. испитати утицај концентрације малих органских киселина или база и промена киселинско-базних услова у систему на растворљивост одабраних АФС и утврдити да ли са променом састава система мења и начин на који се растворљивост АФС повећава;
3. утврдити релативни значај промене степена јонизације АФС, молекулског окружења у концентрованим растворима и природе чврсте фазе за повећање растворљивости у испитиваним системима;
4. испитати концентрационо зависне промене молекулског окружења, конформационог понашања и асоцијације халоперидола у растворима одабраних слабих киселина и утврдити њихову повезаност са повећањем растворљивости;
5. утврдити како се са променом концентрације органске киселине мењају састав и структура чврсте фазе и испитати повезаност ових промена са повећањем растворљивости АФС;
6. окарактерисати чврсте фазе применом FTIR, DSC, TGA и PXRD метода;
7. повезати повећање растворљивости са степеном јонизације АФС, концентрацијом киселина/база, густином раствора, променом молекулског окружења у концентрованим растворима и својствима изолованих чврстих фаза;
8. утврдити значај киселинско-базних, солватационих, асоцијативних и фазних промена и предложити механистички модел понашања испитиваних система.

Очекивани резултати истраживања су:

1. дефинисање концентрационих опсега у којима се промена растворљивости АФС може претежно објаснити променом степена јонизације АФС од области у којима на растворљивост у највећој мери утичу промене својстава концентрованих раствора, специфичне интеракције растворених врста и/или промена природе и састава чврсте фазе;
2. идентификацију концентрационо зависних промена хемијског окружења халоперидола, специфичне солватације, конформационих промена и асоцијације растворених врста, као и њихове повезаности са повећањем растворљивости;
3. идентификацију промена чврсте фазе које прате промену механизма растварања и утврђивање њиховог утицаја на равнотежне процесе у систему;

4. олакшано тумачење повећања растворљивости других слабо растворних АФС у системима са малим органским киселинама/базама.

Научни допринос дисертације огледаће се у механистичком раздвајању киселинско-базних, солватационих и фазних доприноса растворљивости у концентрованим системима слабих киселина/база. Резултати ће проширити знања о киселинско-базној суперсолубилизацији, али и показати границе примене тог појма у системима у којима до повећања растворљивости не долази формирањем соли. Добијени резултати могу представљати основу за испитивање сродних система других јонизабилних АФС у присуству слабих органских киселина или база.

4. Методе истраживања

Током истраживања ће бити коришћене различите аналитичке методе. Експерименти ће се изводити уз контролу температуре, времена успостављања равнотеже и састава система.

- **Физичко-хемијска карактеризација раствора слабих органских киселина различитих концентрација.** Промена својстава испитиваних раствора са повећањем концентрације органске киселине или базе ће бити праћена потенциометријски, кондуктометријски и одређивањем густине раствора. рН вредности раствора пре додавања АФС, током успостављања равнотеже и након одвајања фаза, биће измерене употребом специфичне микро-рН стаклене електроде, при чему ће мерења рН вредности у деутерисаној средини бити коригована према литератури и прерачуната у рD вредности. Густина испитиваних раствора биће одређена пре додатка АФС и после одвајања фаза у супернатантима након експеримената за одређивање растворљивости АФС.
- **Одређивање растворљивости АФС.** Растворљивост одабраних АФС у различитим системима органских киселина или базе биће одређена *shake-flask* методом. Након мешања, успостављања равнотеже и седиментације, течна и чврста фаза биће одвојене центрифугирањем. Концентрација АФС у супернатанту ће бити одређена HPLC методом.
- **NMR проучавање раствора.** Супернатанти растворених АФС добијени у деутерисаним системима ће бити анализирани применом ^1H и ^{13}C NMR спектроскопије и дводимензионалних (2D) NMR техника (COSY, HSQC, HMBC и NOESY). Биће анализиране разлике у хемијским померањима, интегралима, мултиплицитетима и промени молекулског окружења између добијених раствора. Н/D измена у молекулу халоперидола ће бити праћена снимањем ^1H NMR спектра истог узорка халоперидола у дефинисаним временским интервалима .
- **Испитивање чврсте фазе.** Добијене чврсте фазе ће након одвајања центрифугирањем бити припремљене за анализу испирањем и сушењем, а садржај АФС и органске киселине/базе биће одређен HPLC методом. На основу добијених резултата ће бити израчунати масени удели и моларни односи компонената чврсте фазе. Одабране изоловане чврсте фазе биће испитане FTIR спектроскопијом,

диференцијалном скенирајућом калориметријом (DSC), термогравиметријском анализом (TGA) и дифракцијом X-зрака на праху (PXRD).

- **FTIR спектроскопија.** FTIR спектроскопија ће бити искоришћена за упоредну анализу полазних супстанци и изолованих чврстих фаза. Биће праћени положај, интензитет, облик и промене карактеристичних вибрационих трака.
- **Термичка и дифракциона карактеризација.** Термичке промене у одабраним чврстим фазама ће бити испитане применом диференцијалне скенирајуће калориметрије (DSC) и термогравиметријске анализе (TGA). Дифракција X-зрака на праху (PXRD) ће бити употребљена за испитивање кристалности одабраних чврстих фаза и њихово поређење са полазним АФС.
- **Компјутерско моделовање.** COSMO-RS ће бити употребљен за моделовање солватационих својстава и концентрационо зависних промена у интеракцијама између компонената испитиваних система. Резултати добијених прорачуна биће упоређени са експериментално уоченим трендовима.

5. Оквирни списак литературе

- [1] Serajuddin, A. T. M. Salt formation to improve drug solubility. *Advanced Drug Delivery Reviews* 2007, 59(7), 603-616. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2007.05.010>.
- [2] Li, S.; Wong, S.; Sethia, S.; Almoazen, H.; Joshi, Y. M.; Serajuddin, A. T. M. Investigation of Solubility and Dissolution of a Free Base and Two Different Salt Forms as a Function of pH. *Pharmaceutical Research* 2005, 22, 628-635. <https://doi.org/10.1007/s11095-005-2504-z>.
- [3] Avdeef, A.; Fuguet, E.; Llinàs, A.; Ràfols, C.; Bosch, E.; Völgyi, G.; Verbić, T.; Boldyreva, E.; Takács-Novák, K. Equilibrium Solubility Measurement of Ionizable Drugs-Consensus Recommendations for Improving Data Quality. *ADMET & DMPK* 2016, 4(2), 117-178. <https://doi.org/10.5599/admet.4.2.292>.
- [4] Singh, S.; Parikh, T.; Sandhu, H. K.; Shah, N. H.; Malick, A. W.; Singhal, D.; Serajuddin, A. T. M. Supersolubilization and Amorphization of a Model Basic Drug, Haloperidol, by Interaction with Weak Acids. *Pharmaceutical Research* 2013, 30, 1561-1573. <https://doi.org/10.1007/s11095-013-0994-7>.
- [5] Parikh, T.; Sandhu, H. K.; Talele, T. T.; Serajuddin, A. T. M. Characterization of Solid Dispersion of Itraconazole Prepared by Solubilization in Concentrated Aqueous Solutions of Weak Organic Acids and Drying. *Pharmaceutical Research* 2016, 33(6), 1456-1471. <https://doi.org/10.1007/s11095-016-1890-8>.
- [6] Syed, M. I.; Kandagatla, H. P.; Avdeef, A.; Serajuddin, A. T. M. Supersolubilization and Amorphization of a Weakly Acidic Drug, Flurbiprofen, by Applying Acid-Base Supersolubilization (ABS) Principle. *International Journal of Pharmaceutics* 2024, 663, 124548. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2024.124548>.
- [7] Aitipamula, S.; Wong, A. B. H.; Chow, P. S.; Tan, R. B. H. Pharmaceutical Salts of Haloperidol with Some Carboxylic Acids and Artificial Sweeteners: Hydrate Formation, Polymorphism, and Physicochemical Properties. *Crystal Growth & Design* 2014, 14, 2542-2556. <https://doi.org/10.1021/cg500245e>.
- [8] Acebedo-Martínez, F. J.; Alarcón-Payer, C.; Domínguez-Martín, A.; Frontera, A.; Verdugo-Escamilla, C.; Choquesillo-Lazarte, D. Impact of the Coformer Carbon-Chain Length on the Properties of Haloperidol Pharmaceutical Salts. *Crystal Growth & Design* 2025, 25(9), 3169-3185. <https://doi.org/10.1021/acs.cgd.5c00251>.
- [9] Topalović, I. A.; Marković, O. S.; Pešić, M. P.; Kathawala, M. H.; Kuentz, M.; Avdeef, A.; Serajuddin, A. T. M.; Verbić, T. Ž. Effects of Different Weak Small Organic Acids on Clofazimine Solubility in Aqueous Media. *Pharmaceutics* 2024, 16(12), 1545. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics16121545>.