

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
"IULIU HAȚIEGANU"
CLUJ-NAPOCA**



LUCIA MARIA NEMETI (căs. RUS)

**STUDII ANALITICE ȘI DE STABILITATE ÎN
CLASA UNOR DIURETICE ÎNRUDITE CU
TIAZIDELE**

**Rezumatul tezei de doctorat
în vederea obținerii titlului științific de
Doctor în Științe Medicale, domeniul Farmacie**

**Conducător științific
Prof. Dr. MARIUS BOJIȚĂ**

2011

CUPRINS

INTRODUCERE.....	1
STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII	3
1. Hipertensiunea arterială și insuficiența cardiacă.....	3
1.1. Etiologia și patogenia hipertensiunii arteriale primare (HTA).....	3
1.2. Mecanismul de producere al edemului în insuficiența cardiacă.....	4
2. Diuretice înrudite cu tiazidele utilizate în terapie	6
2.1. Descoperirea și dezvoltarea diureticelor tiazidice și a celor înrudite cu tiazidele.....	6
2.2. Principalii reprezentanți în clasa diureticelor înrudite cu tiazidele	7
2.3. Diuretice înrudite cu tiazidele oficinale	9
2.4. Relații structură chimică- activitate biologică.....	9
2.5. Obținerea diureticelor înrudite cu tiazidele	11
2.6. Proprietățile fizico-chimice ale diureticelor înrudite cu tiazidele	12
2.7. Proprietăți farmacologice ale diureticelor înrudite cu tiazidele	14
2.7.1. Mecanismul de acțiune al diureticelor înrudite cu tiazidele	14
2.7.2. Farmacocinetica diureticelor înrudite cu tiazidele	17
2.7.3. Interacțiuni medicamentoase	19
2.7.4. Indicații și mod de administrare.....	21
2.7.5. Reacții adverse. Contraindicații, precauții.....	24
2.7.6. Produse farmaceutice care conțin diuretice înrudite cu tiazidele.....	27
3. Caracterizarea analitică a diureticelor înrudite cu tiazidele	30
3.1. Metode volumetrice	30
3.2. Metode spectrale.....	31
3.2.1. Metode spectrofotometrice UV-VIS	31
3.2.2. Metoda spectrometrică IR	35
3.3. Metode cromatografice	37
3.3.1. Cromatografia pe strat subțire (CSS).....	37
3.3.2. Cromatografia de lichide de înaltă performanță (HPLC).....	38
3.4. Rezonanța magnetică nucleară (RMN).....	51
3.5. Metode termice	53
3.6. Studii de stabilitate.....	55

CONTRIBUȚII PERSONALE.....	59
4. Analiza spectrală a indapamidului	59
4.1. Analiza spectrală UV a indapamidului	59
4.2. Dozarea spectrofotometrică UV a indapamidului din comprimatele cu cedare imediată (2,5mg/cp), respectiv cu cedare întârziată (1,5mg/cp).....	62
4.3. Analiza spectrală în infraroșu (IR) a indapamidului.....	78
4.4. Dozarea indapamidului din comprimate cu cedare imediată (2,5mg/cp) prin metoda spectrală în infraroșu apropiat (NIR)	82
5. Analiza cromatografică HPLC-UV a indapamidului.....	101
5.1. Determinarea cantitativă RP-HPLC a indapamidului și a produșilor săi de degradare.....	104
6. Analiza termică (Analiza Calorimetrică Diferențială (DSC), Analiza Termogravimetrică (TG)) a indapamidului.....	118
7. Analiza prin difracție de raze X (RX) a indapamidului.....	125
8. Studiul interacțiunii indapamidului cu ciclodextrine.....	129
8.1. Proprietățile ciclodextrinelor	130
8.2. Formarea complexului de incluziune.....	133
8.3. Metode de preparare ale complecșilor de incluziune.....	135
8.4. Utilizarea ciclodextrinelor în domeniul medicamentului.....	137
8.5. Obținerea și analiza unor compuși de incluziune ai indapamidului în ciclodextrine.....	139
8.5.1. Obținerea și analiza compușilor de incluziune IDP/BCD	142
8.5.2. Obținerea și analiza compușilor de incluziune IDP/HPBCD	154
8.5.3. Obținerea și analiza compușilor de incluziune IDP/TABCD	162
8.5.4. Obținerea și analiza compușilor de incluziune IDP/GCD.....	170
9. Obținerea și analiza unor forme solide ale indapamidului	178
10. Evaluarea stabilității diferitelor formulări în etapa de preformulare a comprimatelor de indapamid 2,5mg/cp și 1,5mg/cp	200
10.1. Obținerea și analiza amestecurilor binare IDP/excipient =1:1 (m/m)	204
CONCLUZII GENERALE.....	220
BIBLIOGRAFIE	225

CUVINTE CHEIE: indapamid, diuretice înrudite cu tiazidele, metode de analiză din formă farmaceutică, impurități, complecși de incluziune cu ciclodextrine, forme solide, studii de stabilitate în etapa de preformulare

STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII

Diureticele tiazide și diureticele înrudite cu tiazidele reprezintă o clasă de medicamente de elecție pentru tratamentul bolilor cardiovasculare, fiind utilizate în mod curent atât intraspitalicesc cât și în practica medicală comunitară.

Diureticele înrudite cu tiazidele sunt diferite structural de acestea (nu au în structura lor inelul tiazidic), dar prezintă același mecanism de acțiune (împiedicarea reabsorbției apei și a sărurilor la nivel renal consecutiv eliminării acestora prin urină) și aceleași proprietăți farmacologice. Ele se utilizează frecvent ca primă linie de tratament în hipertensiunea ușoară și moderată, și sunt parte integrantă în tratamentul insuficienței cardiace simptomatice. Prezintă o mare siguranță la administrare, și de asemenea, efecte secundare reduse.

Lucrarea este structurată în două părți: o parte bibliografică și o parte de contribuții personale.

În prima parte a lucrării s-a realizat un studiu bibliografic asupra diureticelor înrudite cu tiazidele. Această parte este structurată în trei capitole. *Primul capitol* conține o prezentare a etiologiei și patogeniei hipertensiunii arteriale primare precum și a mecanismului de producere a edemului în insuficiența cardiacă (1, 2).

În *capitolul al doilea* s-a realizat o trecere în revistă a celor mai importante date din cadrul descoperirii și dezvoltării diureticelor tiazidice și a celor înrudite. Au fost prezentați apoi principalii reprezentanți în clasa diureticelor înrudite cu tiazidele (clortalidona, indapamid, xipamid, clopamid, metolazona, quinetazona), cu structura chimică a fiecăruia dintre aceștia, caracteristicile lor fizico- chimice, profilul farmacologic.

În *capitolul al treilea* au fost prezentate datele întâlnite în literatura de specialitate referitoare la caracterizarea analitică a diureticelor înrudite cu tiazidele. Au fost prezentate astfel metodele volumetrice, spectrale (UV-VIS și IR), cromatografice (CSS, HPTLC, HPLC), termice (DSC, TG) precum și cele de rezonanță magnetică nucleară (RMN ¹H, RMN ¹³C) aplicate la analiza calitativă (identificare, control de puritate) și cantitativă (dozare) a compușilor aparținând acestei clase de substanțe medicamentoase. Capitolul se încheie cu prezentarea mecanismelor prin care se poate degrada o substanță medicamentoasă (hidroliza, fotodegradarea, interacțiunea cu excipienții) și de asemenea cu câteva considerente legate de impuritățile farmaceutice. Sunt prezentate de asemenea impuritățile indapamidului oficializate în Farmacopeea Europeană.

CONTRIBUȚII PERSONALE

Partea a doua a lucrării cuprinde studiile efectuate în cadrul stagiului de doctorat. Acestea s-au concentrat asupra indapamidului (IDP) și sunt cuprinse în șapte capitole. Motivația acestei alegeri a fost reprezentată de faptul că, în momentul începerii studiului, datorită utilizării lui tot mai extinse în practica clinică concomitent cu lipsa de pe piața românească de medicamente a unui produs autohton care să-l conțină, producătorii români de medicamente începeau să fie interesați de condiționarea indapamidului în forme farmaceutice.

Direcțiile de cercetare urmărite au fost următoarele: (1) elaborarea de metode analitice pentru determinarea indapamidului ca atare și din forme farmaceutice; (2) obținerea și caracterizarea complexilor de incluziune ai indapamidului cu diverse ciclodextrine (β -ciclodextrina, hidroxipropil β -ciclodextrina, triacetil β -ciclodextrina, γ -ciclodextrina); (3) obținerea unor forme solide ale indapamidului prin recristalizare din diverși solvenți sau amestecuri de solvenți precum și caracterizarea acestora; (4) evaluarea stabilității diferitelor formulări în etapa de preformulare a comprimatelor de indapamid cu cedare imediată (2,5mg/cp) și întârziată (1,5mg/cp).

Analiza spectrală a indapamidului

În *capitolul al patrulea* al acestei lucrări s-a realizat analiza spectrală a indapamidului. Metodele aplicate au fost spectrofotometria UV-VIS (3, 4) și spectrometria în infraroșu FTIR.

Astfel, în *subcapitolul 4.2* au fost dezvoltate și validate trei metode spectrofotometrice în UV, $\lambda = 242\text{nm}$, derivată de ordinul întâi (d1, $\lambda = 232\text{nm}$) și derivată de ordinul al doilea (d2, $\lambda = 245\text{nm}$) pentru dozarea indapamidului ca atare și din formă farmaceutică. Metodele dezvoltate prezintă liniaritate în domeniul de concentrații 2-20 $\mu\text{g/mL}$ și sunt selective în prezența matricei forme farmaceutice. Exactitatea (acuratețea) metodelor dezvoltate este atestată de valorile erorilor relative ale mediilor regășirilor (0,96; 0,50 respectiv 2,42 < 3,48) iar precizia (fidelitatea) de faptul că valorile coeficienților de variație ai repetabilității ($CV_r = 0,68\%$; 0,71%; -0,98%) respectiv ai reproductibilității ($CV_R = 2,55\%$; 2,56%; -3,49%) sunt în fiecare caz corespunzător (<2%) pentru probabilitatea de eroare considerată (5%).

Metodele spectrofotometrice astfel dezvoltate și validate au fost aplicate la dozarea IDP din comprimatele cu cedare imediată (2,5mg/cp) și întârziată (1,5mg/cp). Conținutul de substanță activă regăsită a fost situat în cazul aplicării metodei directe $\lambda = 242\text{nm}$ în intervalul 100,469% – 106,221% (IDP 2,5mg/cp) respectiv 100,306% - 102,770% (IDP 1,5mg/cp), în cazul derivatei de ordinul întâi (d1, $\lambda = 232\text{nm}$) în intervalul 100,335% – 106,019% (IDP 2,5mg/cp) respectiv 100,035% - 102,421% (IDP 1,5mg/cp) iar în cazul aplicării metodei derivate de ordinul al doilea (d2, $\lambda = 245\text{nm}$) în intervalul 100,407% - 106,161% (IDP 2,5mg/cp) respectiv 100,181% - 102,647% (IDP 1,5mg/cp), în acord cu prevederile farmacopeilor în vigoare.

În *subcapitolul 4.3* al acestei lucrări a fost elaborată și validată o metodă spectrometrică în infraroșu apropiat NIR-chemometrică pentru cuantificarea directă a substanței active din comprimate cu indapamid cu cedare imediată (2,5mg/cp), fără nici o operație prealabilă de prelucrare a probei (5, 6). În paralel a fost elaborată o metodă de referință HPLC pentru analiza cantitativă a indapamidului din comprimate.

În scopul elaborării metodei NIR-chemometrică au fost evaluate diferite modele de calibrare multivariată. Conform rezultatelor obținute se constată că dintre metodele de pretratament ale datelor spectrale aplicate, metoda SNV (Vector Normalization) a condus la obținerea celor mai mici valori pentru RMSECV și a celor mai bune valori pentru coeficientul de corelație r , prezentând cei mai buni parametri statistici la calibrare.

Capacitatea de predicție foarte bună a modelului în care se aplică metoda de pretratament a datelor spectrale SNV (Vector Normalization) este confirmată de probele de control, cu această metodă obținându-se valorile cele mai apropiate comparativ cu concentrațiile teoretice, procentul de regăsire față de acestea fiind cuprins între 99,72 și 101,84%. Aceste rezultate au prezentat o bună similaritate cu cele înregistrate folosind metoda HPLC de referință.

Metoda astfel dezvoltată a fost validată. Cu ajutorul modelului de calibrare reprodus pentru fiecare serie experimentală au fost determinate concentrațiile de

indapamid din probele de validare. Rezultatele obținute la analiza statistică a probelor de validare arată că metoda NIR-chemometrică pentru determinarea indapamidului direct din comprimate este liniară, precisă și exactă.

Analiza cromatografică HPLC-UV a indapamidului

Capitolul al cincilea prezintă o metodă HPLC-UV pe fază inversă, cu eluție în gradient, de separare, identificare și cuantificare a indapamidului și a produșilor săi de degradare, cu un timp de analiză de 28 minute. Metoda a fost validată conform reglementărilor de validare recomandate în cazul metodelor HPLC, dovedindu-se a fi specifică, liniară, exactă și fidelă pe domeniul de concentrații 0,803μg/mL-1,207μg/mL pentru indapamid, 0,541μg/mL-8,656μg/mL pentru impuritatea A, 0,521μg/mL-8,336μg/mL pentru impuritatea B, 0,512μg/mL-8,184μg/mL pentru 2-metilindolină, 0,516μg/mL-8,256μg/mL pentru clorura de 1-amino-2-metilindolină, 0,500μg/mL-8,000μg/mL pentru N-(4-cloro-3-sulfamoil-benzoil)-2-metilindolină respectiv 0,544μg/mL-8,704μg/mL pentru acidul 4-cloro-3 sulfamoil benzoic.

Analiza termică (Analiza Calorimetrică Diferențială (DSC), Analiza Termogravimetrică (TG)) a indapamidului

În *capitolul al șaselea* este prezentată caracterizarea termică prin analiză calorimetrică diferențială (DSC) și analiză termogravimetrică (TG) a unui standard de indapamid comparativ cu o probă comercială. Diferențele înregistrate în termogramele DSC respectiv TG ale celor două probe analizate, în ceea ce privește valorile de temperatură la care au loc deshidratarea, topirea respectiv descompunerea acestora precum și valorile entalpiilor corespunzătoare acestor fenomene au condus la concluzia că proba comercială de indapamid prezintă un anumit grad de impurificare comparativ cu standardul analizat în paralel.

Analiza prin difracție de raze X (RX) a indapamidului

În *capitolul al șaptelea* s-a realizat caracterizarea prin difracție de raze X a probei comerciale de indapamid (7), cu evidențierea valorilor pentru unghiurile 2θ ale celor mai intense picuri de difracție ale acestuia. Informațiile referitoare la valorile acestor unghiuri vor fi folosite în continuare în capitolele 8, 9 și 10 în cadrul studiului interacțiunii indapamidului cu diverse ciclodextrine, analizei unor forme solide ale indapamidului, precum și pentru analiza compatibilității dintre acesta și excipienții aleși în etapa de preformulare a comprimatelor cu cedare imediată (2,5mg/cp) respectiv întârziată (1,5mg/cp).

Studiul interacțiunii indapamidului cu ciclodextrine

Pornind de la faptul că indapamidul este o substanță medicamentoasă insolubilă în apă, având numeroase reacții adverse și de asemenea de la faptul că includerea în ciclodextrine respectiv forma solidă în care se găsește o anumită substanță medicamentoasă poate influența substanțial tipul de formă farmaceutică în care ea poate fi condiționată precum și proprietățile acesteia (eficacitatea, stabilitatea), în cadrul studiilor de preformulare ale comprimatelor cu indapamid au fost obținuți compuși de incluziune ai indapamidului în ciclodextrine (8).

Astfel, au fost obținuți compuși de incluziune ai IDP în diverse ciclodextrine (β -ciclodextrina (BCD), hidroxipropil β -ciclodextrina (HPBCD), triacetil β -ciclodextrina (TABCD), respectiv γ -ciclodextrina (GCD)) prin diverse metode (amestecare fizică, frământare, coprecipitare, liofilizare) în raport molar al componentelor de 1:1. S-a

pornit de la premisa că datorită caracterului hidrofob al interiorului cavității ciclodextrinelor, molecula insolubilă de IDP ar putea fi acomodată la acest nivel.

Evidențierea obținerii sau nu a compușilor de incluziune respectiv caracterizarea acestora s-a realizat în *capitolul al optulea* folosind tehnicile de analiză termică (analiza calorimetrică diferențială (DSC), analiza termogravimetrică (TG)) precum și tehnica difracției de raze X (RX) și spectroscopia în infraroșu cu transformantă Fourier (FTIR) (9), pe baza înregistrării modificărilor care apar în termogramele, difractogramele respectiv spectrele în infraroșu ale compușilor de incluziune cu cele înregistrate în cazul probei comerciale de indapamid.

Evaluarea complexșilor de incluziune prin tehnicile termoanalitice a evidențiat deplasări către alte valori de temperatură ale fenomenelor termice caracteristice substanțelor active, modificări ale valorilor entalpiilor corespunzătoare acestor fenomene precum și reducerea ariei picurilor lor și/sau dispariția acestora în sistemele binare, comparativ cu substanțele pure. De asemenea, pentru toți compușii de incluziune, se notează și deplasări ale picurilor corespunzătoare deshidratării ciclodextrinelor spre valori mai mici de temperatură.

Analiza complexșilor de incluziune prin difracție de raze X indică, în cazul unora dintre amestecurile binare, o creștere a gradului de cristalinitate comparativ cu substanțele oaspete (IDP/BCD-coprecipitare), o modificarea a poziției și intensității picurilor de difracție (IDP/GCD-coprecipitare) iar în cazul altora se evidențiază scăderea gradului de cristalinitate consecutiv amorfizării (IDP/BCD-liofilizare, IDP/HPBCD-coprecipitare, liofilizare, IDP/TABCD-coprecipitare, liofilizare, IDP/GCD-liofilizare). Aceste fenomene demonstrează formarea unor noi stări solide și atestă existența de interacțiuni între substanța medicamentoasă și ciclodextrinele luate în lucru în cazul preparării amestecurilor binare prin coprecipitare și liofilizare.

Analiza prin spectrometrie FTIR a substanței medicamentoase studiate, a ciclodextrinelor și a produșilor binari IDP/CD evidențiază diferențe semnificative în spectrele IR ale compușilor binari în comparație cu cele ale substanțelor pure: (1) dispariția unora dintre benzile caracteristice substanțelor active în spectrele compușilor binari și (2) deplasări ale benzilor de absorbție ale substanțelor active spre frecvențe diferite în spectrele compușilor supramoleculari. Aceste rezultate susțin ipoteza formării de noi compuși, cu benzi de absorbție diferite și demonstrează formarea complexșilor de incluziune între indapamid și ciclodextrine.

S-a demonstrat astfel obținerea de compuși de incluziune ai indapamidului cu fiecare dintre ciclodextrinele introduse în studiu prin două dintre metodele de preparare folosite, și anume prin coprecipitare și liofilizare.

Obținerea și analiza unor forme solide ale indapamidului

Studiul în etapa de preformulare a continuat în *capitolul al nouălea* cu obținerea și analiza unor forme solide ale indapamidului prin recristalizare din diverși solvenți sau amestecuri de solvenți (10). S-a încercat astfel obținerea de noi forme solide ale acestuia, prin recristalizare din diverși solvenți (metanol, acetat de etil, acetonitril) sau amestecuri de solvenți (metanol+tetraclorură de carbon, acetonitril+dietileter, acetonitril+diclormetan). Caracterizarea acestora s-a realizat folosind metodele termice (analiza calorimetrică diferențială (DSC) și analiza termogravimetrică (TG)), difracția de raze X (RX), spectrometria în infraroșu cu transformantă Fourier (FTIR) (11), rezonanța magnetică nucleară pe solid (^{13}C RMN) precum și microscopia electronică de baleiaj (SEM).

Pe baza experimentelor de recristalizare și a caracterizării tuturor acestor forme solide nou obținute s-a concluzionat faptul că indapamidul recristalizat din

acetonitril+dietileter reprezintă o formă solidă nouă comparativ cu proba comercială luată în lucru (12). Metodele folosite au demonstrat coexistența a două tipuri de structuri (cristalină și amorfă) în cazul acestei forme solide comparativ cu proba comercială de indapamid.

Evaluarea stabilității diferitelor formulări în etapa de preformulare a comprimatelor de indapamid 2,5mg/cp și 1,5mg/cp

O formulare este considerată a fi corespunzătoare în lipsa interacțiunilor de tipul medicament/excipient sau excipient/excipient. În acest sens, o parte importantă a etapei de preformulare a unei forme farmaceutice stabile o constituie dezvoltarea unei metode rapide și exacte de testare și selecție a excipienților celor mai potriviți.

Lucrarea se încheie cu studiul compatibilității dintre indapamid și excipienții aleși în etapa de preformulare a comprimatelor cu cedare imediată (2,5mg/cp) (13) și întârziată (1,5mg/cp) (14) (*capitolul al zecelea*). În acest sens au fost preparate amestecuri binare 1:1 (m/m) ale indapamidului cu fiecare excipient în parte. Acestea au fost analizate folosind metodele consacrate pentru acest scop, analiza calorimetrică diferențială (DSC), analiza termogravimetrică (TG) (15), difracția de raze X (RX) și spectrometria în infraroșu cu transformantă Fourier (FTIR).

Pe baza rezultatelor DSC/TG, RX și FTIR înregistrate s-a concluzionat că toți excipienții aleși în etapa de preformulare sunt compatibili cu IDP astfel că aceștia pot fi utilizați în continuare pentru obținerea comprimatelor cu cedare imediată (IR, 2,5mg/cp) respectiv cu cedare întârziată (SR, 1,5mg/cp).

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. Beers M, Berkow R, editors. The Merck Manual. 17 ed: USA: Merck Research Laboratories; 1999.
2. Braunwald E, Fauci A, Kasper D, Hauser S, et al, editors. Harrison's Principles of Internal Medicine. 15 ed. New York: McGraw-Hill, Health Professions Division; 2001.
3. El-Gindy A, Emara S, Hadad GM. Determination of certain drugs in binary mixtures formulations by second derivative ratio spectrophotometry and LC. II Farmaco. 2004; 59:[703-12 pp.].
4. Süslü İ, Altinöz S. Two derivative spectrophotometric determinations of indapamide in pharmaceutical dosage forms. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 2002; 30:[357-64 pp.].
5. Ito M, Suzuki T, Yada S, Kusai A, Nakagami H, Yonemochi E, et al. Development of a method for the determination of caffeine anhydrate in various designed intact tablets by near-infrared spectroscopy: A comparison between reflectance and transmittance technique. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 2008; 47:[819-27 pp.].
6. Xiaobo Z, Jiewen Z, Povey M, Holmes M, Hanpin M. Variables selection methods in near-infrared spectroscopy. Analytica Chimica Acta. 2010; 667:[14-32 pp.].
7. Smrkolj M, Meden A. Crystal structure of indapamide determined from powder diffraction data. Pharmazie. 2006; 61(12):[999-1004 pp.].
8. Radi A-E, Eissa S. Electrochemical study of indapamide and its complexation with β -cyclodextrin. J Incl Phenom Macrocycl Chem [Internet]. 2011; 71:[95-102 pp.].
9. Sbârcea L, Udrescu L, Drăgan L, Trandafirescu C, Sasca V, Barvinschi P, et al. Characterization of Fosinopril Natrium-hydroxypropyl- β -cyclodextrin Inclusion Complex. Revista de Chimie. 2011; 62(3):[349-51 pp.].
10. Ghugare P, Dongre V, Karmuse P, Rana R, Singh D, Kumar A, et al. Solid state investigation and characterization of the polymorphic and pseudopolymorphic forms of indapamide. J Pharm Biomed Anal. 2010; 51(3):532-40.
11. Kacso I, **Rus L**, Pop M, Borodi G, Bratu I. Structural characterization of ambazone salt with niflumic acid. Spectros Int J . 2012; 27(1):[49-58 pp.].
12. **Rus LM**, Kacso I, Borodi G, Aluaş M, Tomuţa I, Iuga C, et al. Solid form of indapamide recrystallized from acetonitrile/diethyl ether solvent mixture. AIP Conference Proceedings. 2012; 1425(39):[39-42 pp.].
13. **Rus LM**, Tomuţa I, Iuga C, Maier C, Kacso I, Borodi G, et al. Compatibility studies of indapamide/pharmaceutical excipients used in tablet preformulation. Farmacia. 2012; (1):[92-101 pp.].
14. **Rus LM**, Tomuţa I, Iuga C, Maier C, Kacso I, Borodi G, et al. Indapamide slow release tablet preformulation: interactions with excipients analysis. Clujul Medical. 2011; 84(4):[550-5 pp.].
15. 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. Revista de chimie. 2011; 62(4):[443-54 pp.].



Europass Curriculum Vitae

Informații personale

Nume / Prenume Lucia Maria Nemeti (căsătorită Rus)
Data și locul nașterii: 16.03.1977, Cluj-Napoca, Cluj, România
Naționalitatea: Română
Starea civilă: căsătorită
Adresa: 5, Strada Scorțarilor, ap. 6, Cluj-Napoca, România
Email: lucia.rus@umfcluj.ro

Educație, diplome

2000 – Licențiat în Farmacie, Universitatea de Medicină și Farmacie „Iuliu Hațieganu” Cluj-Napoca, România
2003 – Master în Analiza Medicamentului, Farmacie: "Analiza HPLC a formelor farmaceutice cu Ginkgo biloba" Universitatea de Medicină și Farmacie „Iuliu Hațieganu” Cluj-Napoca, România
2007 – farmacist specialist Laborator farmaceutic: Spitalul Clinic Municipal Cluj - Napoca
2003 – prezent – doctorand (Științe Medicale, Farmacie): „Studii analitice și de stabilitate în clasa unor diuretice înrudite cu tiazidele”, Universitatea de Medicină și Farmacie „Iuliu Hațieganu” Cluj-Napoca, România

Experiența profesională

2007 – prezent – Șef lucrări, Catedra Analiza Medicamentului, Facultatea de Farmacie, Universitatea de Medicină și Farmacie „Iuliu Hațieganu” Cluj-Napoca, România
2004 – 2007 Asistent universitar, Catedra Analiza Medicamentului, Facultatea de Farmacie, Universitatea de Medicină și Farmacie „Iuliu Hațieganu” Cluj-Napoca, România
2002 – 2004 Preparador universitar, Catedra Analiza Medicamentului, Facultatea de Farmacie, Universitatea de Medicină și Farmacie „Iuliu Hațieganu” Cluj-Napoca, România
2000-2002 Farmacist, Farmacia S.C. Sanofarm S.R.L. Dej, România

Cursuri de perfecționare și stagii de cercetare

2006 - Curs: Mettler Toledo Benelux Thermal Analysis Customer Courses, Bruxelles, Belgia
2003 – Curs postuniversitar "Tehnici si metode cromatografice si spectrale – demonstratii practice", Cluj-Napoca, România
2003 – Curs postuniversitar "Curs practic de HPLC – cromatografie de lichide de înalta performanță" Cluj-Napoca, România
2002 – "Laborator de monitorizare terapeutică", spitalul Charles Nicole, Rouen, Franța
2000 – Bursă Erasmus, Facultatea de Farmacie din Grenoble, Franța

Membru al asociațiilor profesionale

2002 - prezent- Societatea de Științe Farmaceutice din România
2002 - prezent- Societatea de Chimie din România
2002 - prezent- Colegiul Farmaciștilor din România

Limbi străine cunoscute	Franceză- Diplôme d'Etudes en Langue Française DELF B2 Engleză
Experiența didactică	<p>Cursuri și lucrări practice de Analiza Medicamentului pentru studenții anului V Farmacie. Lucrări practice de Medicamente Biologice pentru studenții anului IV Farmacie. Cursuri și lucrări practice de Metodologia Cercetării Științifice pentru studenții anului IV Farmacie și pentru studenții anului III Nutriție și Dietetică. <i>Pentru studenți:</i> Analiza Medicamentului: Cursuri standard de Cromatografie pe strat subțire, Analiză termică (Analiză Calorimetrică Diferențială, Analiză Termogravimetrică) și Electroforeză capilară pentru studenții anului V ai Facultății de Farmacie (secția română și secția franceză). Se prezintă generalități și aplicații ale acestor metode la analiza diverselor forme farmaceutice. Metodologia Cercetării Științifice: Cursuri standard de metodologie a cercetării în domeniul farmaceutic pentru studenții anului IV ai Facultății de Farmacie (secția română și secția franceză) și pentru studenții anului III ai Facultății de Nutriție și Dietetică .</p> <p>Manuale editate: Cristina Iuga, Marius Bojiță, Lucia Rus, Codruța Maier, Elena Curea, Analiza Medicamentului. Aplicații practice. Editura Medicală Universitară "Iuliu Hațieganu", Cluj-Napoca, ISBN 973-693-115-3, 2005.</p>
Experiența de cercetare	Experiență în domeniul metodelor termice (Analiză Calorimetrică Diferențială (DSC), Analiză Termogravimetrică (TG)) aplicate la analiza medicamentului. Familiaritate cu tehnici moderne, cromatografice, spectrale. Utilizare a metodelor HPLC, FTIR, UV-VIS, RX și interpretare a datelor instrumentale rezultate în urma aplicării acestora.
Granturi de cercetare	<ol style="list-style-type: none"> 1. Dezvoltarea și optimizarea formulării și preparării unui sistem farmaceutic de uz oral pentru transportul și cedarea substanței medicamentoase cu specificitate la nivelul colonului – Grant CNSIS, 2007-2009, cod 94, membru 2. Forme polimorfice și incapsularea substanțelor bioactive în ciclodextrine pentru îmbunătățirea calitatii medicamentelor (CALIMED) – Grant CEEX, 2005-2008, cod 7, Modulul 1, membru; 3. Diagnosticarea toxicomanilor și monitorizarea consumului acut și cronic de droguri prin metode analitice moderne, aplicate pe probe biologice: sânge, urină, păr (MONITOX) – Grant CEEX, 2006-2008, cod 115, membru; 4. Stresul Oxidativ: diagnostic și implicații toxicologice – Grant CNSIS, 2005-2007, cod 1277, membru; 5. Studii analitice și de stabilitate ale medicamentelor – Educație postuniversitară și implementare – Grant CNSIS, 2002, cod 73, membru;

Publicații | Articole publicate în extenso în țară

1. Rus LM, Kacso I, Borodi G, Aluaș M, Tomuță I, Iuga C, et al. Solid form of indapamide recrystallized from acetonitrile/diethyl ether solvent mixture. AIP Conference Proceedings. 2012; 1425(39):[39-42 pp.].
2. Kacso I, Rus L, Pop M, Borodi G, Bratu I. Structural characterization of ambazone salt with niflumic acid, Spectros Int J. 2012; 27(1):49-58.
3. Rus LM, Tomuță I, Iuga C, Maier C, Kacso I, Borodi G, et al. Compatibility studies of indapamide/pharmaceutical excipients used in tablet preformulation. Farmacia. 2012; (1):[92-101 pp.].
4. Rus LM, Tomuță I, Iuga C, Maier C, Kacso I, Borodi G, et al. Indapamide slow release tablet preformulation: interactions with excipients analysis. Clujul Medical. 2011; 84(4):[550-5 pp.].
5. Rus L, Constantinescu D, Drăgan F, Farcaș A, Kacsó I, Borodi Gh, Bratu I, Bojiță M. Inclusion complex of enalapril maleate/ β -cyclodextrin, FT-IR, X-ray diffraction, DSC and molecular modeling. Farmacia. 2007; 55(2): [185-192 pp.].
6. Oprean R, Servais AC, Bodoki E, Oprean L, Rus L, Săndulescu R, Crommen J, Hubert Ph. Enantioseparation of chiral drugs by capillary zone electrophoresis in non-aqueous media. 1. Propranolol enantiomers discrimination. Farmacia. 2007; 55(2):[244-251 pp.].
7. Kiss B, Iuga C, Bojiță M, Rus LL, Nemeti L. Tramadol RP-HPLC quantitative determination method validation. Farmacia. 2003; 51(5):[24-29 pp.].
8. Nemeti L, Iuga C, Bojiță M, Kiss B, Muntean D. HPLC analysis of pharmaceutical dosage forms with Gingko Biloba extracts, Ovidius University Annals of Medical Science – Pharmacy. 2003; 1(1):[92-196 pp.].
9. Rus LL, Kiss B, Iuga C, Bojiță M, Nemeti L, Mandruțau I. HPLC analysis of hidrosoluble vitamins (thiamine, riboflavin, riboflavin-5-phosphate, pyridoxine, cyanocobalamin, nicotinamide), Ovidius University Annals of Medical Science – Pharmacy. 2003; 1 (1):[103-107 pp.].

Articole publicate în rezumat la manifestări științifice internaționale

1. Rus LM, Iuga C, Tomuță I, Kacso I, Borodi G, Bratu I, Bojiță M. Compatibility studies of indapamide/excipients used in slow release tablet preformulation. The 1st Central and Eastern European Conference on Thermal Analysis and Calorimetry (CEEC-TAC1). Craiova, România. 7-10 septembrie 2011.

**"IULIU HATIEGANU"
UNIVERSITY OF MEDICINE AND PHARMACY
CLUJ-NAPOCA**



LUCIA MARIA NEMETI (married RUS)

**ANALYTIC AND STABILITY STUDIES IN A
CLASS OF THIAZIDE-LIKE DIURETICS**

**Summary of the PhD thesis
In order to acquire the scientific title of PhD
in Medical Sciences, Field of Pharmacy**

**Scientific Coordinator
Prof. Dr. MARIUS BOJIȚĂ**

2011

TABLE OF CONTENTS

INTRODUCTION.....	1
THEORETICAL BACKGROUND AND LITERATURE REVIEW ...	3
1. Arterial hypertension and cardiac failure.....	3
1.1. Etiology and pathogeny of primary arterial hypertension (HTA)	3
1.2. Mechanism of occurrence of edema in cardiac failure	4
2. Thiazide-like diuretics used in therapy.....	6
2.1. Discovery and development of thiazides and thiazide-like diuretics	6
2.2. Main representatives of the thiazide-like diuretics class	7
2.3. Thiazide-like diuretics included in Pharmacopoeias	9
2.4. Chemical structure-biological activity relationship	9
2.5. Synthesis of thiazide-like diuretics.....	11
2.6. Physico-chemical properties of thiazide-like diuretics	12
2.7. Pharmacologic study of thiazide-like diuretics	14
2.7.1. Mechanism of action	14
2.7.2. Pharmacokinetics	17
2.7.3. Drug interactions.....	19
2.7.4. Therapeutic indications and patterns of administration	21
2.7.5. Side effects. Contraindications, precautions.....	24
2.7.6. Pharmaceutical products containing thiazide-like diuretics	27
3. Analytical study of thiazide-like diuretics	30
3.1. Volumetric methods.....	30
3.2. Spectral methods.....	31
3.2.1. UV-VIS spectrophotometry.....	31
3.2.2. IR spectrometry.....	35
3.3. Chromatographically methods.....	37
3.3.1. Thin layer chromatography (TLC).....	37
3.3.2. High performance liquid chromatography (HPLC).....	38
3.4. Magnetic resonance imaging (MRI).....	51
3.5. Thermal methods	53
3.6. Stability studies.....	55

ORIGINAL RESEARCH AND CONTRIBUTIONS.....	59
4. Spectral analysis of indapamide.....	59
4.1. UV spectrophotometric characterization of indapamide	59
4.2. UV spectrophotometric determination of indapamide in immediate release (2,5mg/tb), respectively slow release (1,5mg/tb) tablets.....	62
4.3. Infrared spectral (IR) characterization of indapamide.....	78
4.4. Quantification of indapamide from immediate release tablets (2,5mg/tb) by narrow infrared spectral analysis (NIR)	82
5. Chromatographic HPLC-UV analysis of indapamide	101
5.1. Quantitative RP-HPLC determination of indapamide and its degradation products.....	104
6. Thermal analysis (Differential scanning calorimetry (DSC), Thermogravimetric analysis (TGA)) of indapamide	118
7. X-Ray powder diffraction analysis (XRPD) of indapamide	125
8. Interaction studies of indapamide with cyclodextrins.....	129
8.1. Cyclodextrins properties	130
8.2. Formation of the inclusion complex	133
8.3. Methods for the inclusion complexes preparation.....	135
8.4. The uses of cyclodextrins	137
8.5. Obtaining and analysis of the inclusion complexes indapamide/cyclodextrins.....	139
8.5.1. Obtaining and analysis of IDP/BCD inclusion complexes.....	142
8.5.2. Obtaining and analysis of IDP/HPBCD inclusion complexes.....	154
8.5.3. Obtaining and analysis of IDP/TABCD inclusion complexes	162
8.5.4. Obtaining and analysis of IDP/GCD inclusion complexes	170
9. Obtaining and analysis of different solid forms of indapamide.....	178
10. Evaluation of the stability of different formulations in the preformulation stage of 2,5mg/tb and 1,5mg/tb indapamide tablets.....	200
10.1. Obtaining and analysis of binary mixes IDP/excipient =1:1(m/m).....	204
GENERAL CONCLUSIONS	220
REFERENCES.....	225

KEYWORDS: indapamide, thiazide-like diuretics, analytical methods for the determination from pharmaceutical dosage forms, impurities, inclusion complexes with cyclodextrins, solid forms, stability studies in the preformulation stage.

THEORETICAL BACKGROUND AND LITERATURE REVIEW

Thiazide diuretics and thiazide-like diuretics are a class of drugs used of election in the treatment of cardiovascular diseases, being prescribed routinely both in hospitals and communitary medical practice.

Thiazide-like diuretics are structurally different from thiazides (they don't have the thiazide nucleus in their structure), but they present the same mechanism of action (hindering the reabsorption of water and salts at renal level, consequently to eliminating them in the urine) and the same pharmacological properties. They are frequently used in the first line of treatment in mild and moderate hypertension and they are integrated in the treatment of symptomatic cardiac failure. Thiazide-like diuretics presents safety at administration and also, reduced adverse effects.

The present research paper is structured into two parts: a theoretical background and literature review share and the original research and contributions share.

In the first part of the paper, a literature review for thiazide-like diuretics was accomplished. This part is structured into three chapters. *The first chapter* contains an overview of the etiology and pathogenesis of essential arterial hypertension, as well as the mechanism of edema occurrence in cardiac failure (1, 2).

In *the second chapter*, a review of the most important data regarding the discovery and development of the thiazide and thiazide-like diuretics was carried out. The main representatives of the class of thiazide-like diuretics were then introduced (chlorthalidone, indapamide, xipamide, clopamide, metholazone, quinetazone), with their chemical structure, physico-chemical characteristics, pharmacological profile.

In *the third chapter* data existing in literature were presented regarding the analytical characteristics of the thiazide-like diuretics. Thus, volumetric methods were introduced, spectral (UV-VIS and IR), chromatographical (TLC, HPTLC, HPLC), thermal (DSC, TG), as well as magnetic resonance imaging techniques (RMN ¹H, RMN ¹³C), applied for the qualitative (identification, purity control) and quantitative (dosage) analysis of compounds pertaining to this class of drug substances.

The chapter ends with presentation of the possible degrading mechanisms of a drug substance (hydrolysis, photodegradation, interaction with excipients) and several aspects related to the pharmaceutical impurities. Impurities of indapamide in the European Pharmacopoeia are also presented.

ORIGINAL RESEARCH AND CONTRIBUTIONS

The second part of the paper comprises the studies performed during the doctoral period. These concentrated on indapamide (IDP) and are divided into seven chapters. The rationale behind this choice was represented by the fact that, at the time of commencing the study, due to its more extended use in the clinical practice, along with lack of a local product that would contain the substance on the romanian drug market, Romanian drugs producers started to be interested by indapamide conditioning in pharmaceutical dosage forms.

We addressed the following research directions: (1) elaboration of analytical methods for the determination of indapamide, as such, and from pharmaceutical dosage forms; (2) obtaining and characterizing the inclusion complexes of indapamid with

several cyclodextrins (β -cyclodextrin, hydroxypropil β -cyclodextrin, triacetyl β -cyclodextrin, γ -cyclodextrin); (3) obtaining different solid forms of indapamide by recrystallisation from different solvents or solvent mixtures, as well as characterizing them; (4) evaluating the stability of different formulations in the preformulation stage of immediate release (2,5mg/tb) and slow release (1,5mg/tb) indapamide tablets.

1. Spectral analysis of indapamide

In *the fourth chapter* of this paper spectral analysis of indapamide was accomplished. The techniques used were UV-VIS spectrophotometry (3, 4) and infrared FTIR spectrometry.

Thus, in *subchapter 4.2* three UV spectrophotometric methods were developed and validated, $\lambda = 242\text{nm}$, the first order derivative (d1, $\lambda = 232\text{nm}$) and the second order derivative (d2, $\lambda = 245\text{nm}$) for indapamide quantitative determination as such and from a pharmaceutical dosage form. The methods developed presents linearity in the concentrations range of 2-20 $\mu\text{g/mL}$ and are selective in the presence of the pharmaceutical formulation matrix. The exactness (accuracy) of the developed methods is certified by the values of relative errors of recovery averages (0,96; 0,50 respectively 2,42 < 3,48) and precision (fidelity) by the fact that the values of repetitivity ($\text{CV}_f = 0,68\%$; 0,71%; -0,98%) respectively of reproducibility variation coefficients ($\text{CV}_R = 2,55\%$; 2,56%; -3,49%) are in each case adequate (2%) for the error probability considered (5%).

The spectrophotometric techniques thus developed and validated were applied to IDP quantitative determination from immediate release (2,5mg/tb) and slow release (1,5mg/tb) tablets. The active substance contents found was falling in the case of applying the direct method $\lambda = 242\text{nm}$ within the range 100,469% – 106,221% (IDP 2,5mg/tb) respectively 100,306% - 102,770% (IDP 1,5mg/tb), in the case of the first order derivative (d1, $\lambda = 232\text{nm}$) within the range 100,335% – 106,019% (IDP 2,5mg/tb) respectively 100,035% - 102,421% (IDP 1,5mg/tb) and in the case of applying the second order derivative method (d2, $\lambda = 245\text{nm}$) within the range 100,407% - 106,161% (IDP 2,5mg/tb) respectively 100,181% - 102,647% (IDP 1,5mg/tb), in agreement with the pharmacopoeia specifications.

In *subchapter 4.3* of this research paper was elaborated and validated a near infrared NIR- chemometry spectrometric method for the direct quantification of the active substance in the immediate release indapamide tablets (2,5mg/tb), without any prior sample preparation (5, 6). In parallel a HPLC reference method was elaborated for the quantitative analysis of indapamide in the tablets.

For the elaboration of the NIR-chemometric method different patterns of multivariate calibration were evaluated. According to the results obtained we noted that of the pretreatment methods of applied spectral data, the SNV (Vector Normalization) method led to obtaining the lowest RMSECV values and the best values for the r correlation coefficient, presenting the best statistical parameters at calibration.

The very good prediction capacity of the model in which the SNV (Vector Normalization) method for spectral data pretreatment is applied is confirmed by the control samples, with this method being obtained the closest values compared to theoretical concentrations, the percentage of recovery compared to the latter being comprised between 99,72 and 101,84%. These results presented a good similarity to those registered using the HPLC reference method.

The method was thus validated. With the aid of the calibration pattern reproduced for each experimental series, indapamide concentrations were detected in the validation samples. The results obtained from the statistical analysis of validation

samples showed that the NIR-chemometric method for the quantitative determination of indapamide directly from tablets is linear, precise and exact.

2. Chromatographic HPLC-UV analysis of indapamide

The fifth chapter presents a reverse phase HPLC-UV method, with gradient elution for the separation, identification and quantification of indapamide and its degradation products, with an analysis time of 28 minutes. The method was validated according to the validation requirements recommended for HPLC methods, proving to be specific, linear, exact and reproducible for the concentrations range 0,803µg/mL-1,207µg/mL for indapamide, 0,541µg/mL-8,656µg/mL for A impurity, 0,521µg/mL-8,336µg/mL for B impurity, 0,512µg/mL-8,184µg/mL for 2-methylindoline, 0,516µg/mL-8,256µg/mL for 1-amino-2-methylindoline hydrochloride, 0,500µg/mL-8,000µg/mL for N-(4-chloro-3-sulfamoyl-benzoyl)-2-methylindoline, respectively 0,544µg/mL-8,704µg/mL for 4-chloro-3 sulfamoyl benzoic acid.

Thermal analysis (Differential scanning calorimetry (DSC), Thermogravimetric analysis (TGA)) of indapamide

In *the sixth chapter* is presented the thermal analysis by differential scanning calorimetry – DSC and thermogravimetric - TGA analysis of an indapamide standard, compared to a commercial sample. Differences encountered between DSC, respectively TGA thermograms of the two samples analyzed, regarding the temperature values where their dehydration, melting respectively decomposition occurs, as well as enthalpy values corresponding to these phenomena led to the conclusion that the commercial indapamide sample presents a certain impurity degree compared to the standard analyzed in parallel.

X-Ray powder diffraction analysis (XRPD) of indapamide

In *the seventh chapter* characterization of the commercial sample of indapamide was done by X-ray powder diffraction method (7), with emphasis of the values for 2θ angles of its most intense diffraction patterns. Information regarding values of these angles will continue to be used in chapters 8, 9 and 10 for the study of indapamide interaction with varying cyclodextrins, analysis of different solid forms of indapamide, as well as for the analysis of the compatibility between indapamide and excipients chosen in the preformulation stage of the immediate release (2,5mg/tb), respectively slow release (1,5mg/tb) tablets.

Interaction study of indapamide with cyclodextrins

Indapamide is a medical substance insoluble in water, with numerous adverse effects and, inclusion in the cyclodextrins respectively the solid form in which a drug substance may be found may substantially influence the type of pharmaceutical dosage form in which it may be conditioned as well as its properties (efficacy, stability), in the preformulation studies of indapamide tablets, inclusion compounds of indapamide with cyclodextrins were obtained (8).

Thus, inclusion compounds of IDP with various cyclodextrins (β-cyclodextrin (BCD), hydroxipropil β-cyclodextrin (HPBCD), triacetyl β-cyclodextrin (TABCD), respectively γ-cyclodextrin (GCD)) were obtained by different methods (physical blending, kneading, coprecipitation, liofilisation) in a molar proportion of 1:1 (m/m). The starting hypothesis was that due to the hydrofobic character of the inside of cyclodextrin cavity, the insoluble IDP molecule could be accommodated at this level.

Proof of obtaining or not inclusion compounds, respectively their characterization was achieved in chapter eight using thermal analysis techniques differential scanning calorimetry (DSC), thermogravimetric analysis (TGA), as well as X-ray powder diffraction (XRPD) method and infrared spectroscopy with Fourier transform (FTIR) (9), based on registration of the changes occurring in the thermograms, X-ray diffraction patterns, respectively infrared spectra of the inclusion compounds, compared to those registered for the commercial indapamide sample.

Evaluation of the inclusion compounds by thermoanalytical techniques showed the shift towards different temperature values for the different thermal phenomena characteristic for active substances, modifying enthalpy values corresponding to these phenomena, as well as reducing the surfaces of their peaks and/or their disappearance in the binary systems, compared to pure substances. Also, for all inclusion compounds, displacement of the peaks corresponding to cyclodextrin dehydration is noted at lower temperature values.

Analysis of inclusion compounds by X-ray powder diffraction method indicates, in the case of several binary mixtures, an increase in their crystallinity compared to host substances (IDP/BCD-coprecipitation), a change of position and intensity of diffraction patterns (IDP/GCD-coprecipitation) and, in the case of others, a reduction in their degree of crystallinity consequently to amorphisation (IDP/BCD-liofilisation, IDP/HPBCD-coprecipitation, liofilisation, IDP/TABCD-coprecipitation, liofilisation, IDP/GCD-liofilisation) is observed. These phenomena demonstrate the formation of new different solid states and confirm the existence of interactions between the drug substance and cyclodextrins used when preparing binary mixtures by coprecipitation and liofilisation.

FTIR spectroscopy analysis of the studied drug substances, cyclodextrins and binary products IDP/CD reveal significant differences in the IR spectra of the binary mixtures compared to those of the pure substances: (1) the disappearance of some of the drug substance characteristic absorption bands in the spectra of binary compounds and (2) shifting of the drug substance characteristic absorption bands of the active substances towards different frequencies in the spectra of the supramolecular compounds. These results sustain the hypothesis of the new products with different spectroscopic bands formation, and demonstrate the inclusion complexes formation between the drug substance and cyclodextrins.

It was thus demonstrated the obtaining of inclusion complexes of this drug substance with each of the cyclodextrins introduced in the study by two of the preparation methods used, namely by coprecipitation and liofilisation.

Obtaining and analysis of different solid forms of indapamide

The study in the preformulation stage was continued in the *ninth chapter* by obtaining and analysis of different solid forms of indapamide by recrystallisation from various solvents or solvent mixtures (10). It was thus tried to obtain new solid forms of indapamide, by recrystallisation from different solvents (methanol, ethyl acetate, acetonitril) or solvent mixtures (methanol+carbon tetrachloride, acetonitril+diethylether, acetonitril+dichlormethan). Characterization of those was achieved using thermal methods (differential scanning calorimetry (DSC) and thermogravimetric analysis (TGA)), X-ray powder diffraction (XRPD), infrared spectrometry with Fourier transform (FTIR)(11), magnetic resonance imaging on solid (¹³C MRI) as well as scanning electronic microscopy (SEM) methods.

Based on recrystallisation experiments and characterizing all these newly obtained solid forms, it was concluded that indapamide recrystallised from

acetonitril+diethylether represents a new solid form compared to the commercial sample (12). The methods demonstrated the coexistence of two types of structures (crystalline and amorphous) in the case of this solid form compared to the commercial indapamide sample.

Evaluation of the stability of different formulations in the preformulation stage of 2,5mg/tb and 1,5mg/tb indapamide tablets

A formulation is considered to be proper when drug/excipient or excipient/excipient interactions are lacking. In this respect, an important part of the preformulation stage of a stable pharmaceutical dosage form is constituted by the development of a rapid and exact testing and selection method for the suitable excipients.

The research paper ends with the study of the compatibility between indapamide and the excipients chosen in the preformulation stage of immediate release (2,5mg/tb) (13) and slow release (1,5mg/tb) (14) tablets (*the tenth chapter*). Thus, binary mixtures of indapamide with each excipient alone 1:1 (m/m) were prepared. These were analyzed using well-known methods for this purpose, differential scanning calorimetry (DSC) and thermogravimetric analysis (TGA) (15), X-ray powder diffraction (XRPD) method, infrared spectroscopy with Fourier transform (FTIR).

Based on the registered results of DSC/TGA, XRPD and FTIR it was concluded that all excipients chosen in the preformulation stage are compatible with IDP, thus they can be used for obtaining immediate release (IR, 2,5mg/tb) respectively slow release (SR, 1,5mg/tb) tablets.

SELECTIVE REFERENCES

1. Beers M, Berkow R, editors. The Merck Manual. 17 ed: USA: Merck Research Laboratories; 1999.
2. Braunwald E. Heart failure. In: Braunwald E, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson LJ, editors. Harrison's Principles of Internal Medicine. 15 ed. New York: McGraw-Hill, Health Professions Division; 2001. p. 1318-29.
3. El-Gindy A, Emara S, Hadad GM. Determination of certain drugs in binary mixtures formulations by second derivative ratio spectrophotometry and LC. II Farmaco. 2004; 59:[703-12 pp.].
4. Süslü İ, Altinöz S. Two derivative spectrophotometric determinations of indapamide in pharmaceutical dosage forms. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 2002; 30:[357-64 pp.].
5. Ito M, Suzuki T, Yada S, Kusai A, Nakagami H, Yonemochi E, et al. Development of a method for the determination of caffeine anhydrate in various designed intact tablets by near-infrared spectroscopy: A comparison between reflectance and transmittance technique. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 2008; 47:[819-27 pp.].
6. Xiaobo Z, Jiewen Z, Povey M, Holmes M, Hanpin M. Variables selection methods in near-infrared spectroscopy. Analytica Chimica Acta. 2010; 667:[14-32 pp.].
7. Smrkolj M, Meden A. Crystal structure of indapamide determined from powder diffraction data. Pharmazie. 2006; 61(12):[999-1004 pp.].
8. Radi A-E, Eissa S. Electrochemical study of indapamide and its complexation with β -cyclodextrin. J Incl Phenom Macrocycl Chem. 2011; 71:[95-102 pp.].
9. Sbârcea L, Udrescu L, Drăgan L, Trandafirescu C, Sasca V, Barvinschi P, et al. Characterization of Fosinopril Natrium-hydroxypropyl- β -cyclodextrin Inclusion Complex. Revista de Chimie. 2011; 62(3):[349-51 pp.].
10. Ghugare P, Dongre V, Karmuse P, Rana R, Singh D, Kumar A, et al. Solid state investigation and characterization of the polymorphic and pseudopolymorphic forms of indapamide. J Pharm Biomed Anal. 2010; 51(3):532-40.
11. Kacso I, **Rus L**, Pop M, Borodi G, Bratu I. Structural characterization of ambazone salt with niflumic acid. Spectros Int J. 2012; 27(1):[49-58 pp.].
12. **Rus LM**, Kacso I, Borodi G, Aluaş M, Tomuţa I, Iuga C, et al. Solid form of indapamide recrystallized from acetonitrile/diethyl ether solvent mixture. AIP Conference Proceedings. 2012; 1425(39):[39-42 pp.].
13. **Rus LM**, Tomuţa I, Iuga C, Maier C, Kacso I, Borodi G, et al. Compatibility studies of indapamide/pharmaceutical excipients used in tablet preformulation. Farmacia. 2012; (1):[92-101 pp.].
14. **Rus LM**, Tomuţa I, Iuga C, Maier C, Kacso I, Borodi G, et al. Indapamide slow release tablet preformulation: interactions with excipients analysis. Clujul Medical. 2011; 84(4):[550-5 pp.].
15. Tita B, Fulas A, Bandur G, Ledeti I, Tita D. Application of Thermal Analysis to Study the Compatibility of Sodium Diclofenac with Different Pharmaceutical Excipients. Revista de chimie. 2011; 62(4):[443-54 pp.].



Europass Curriculum Vitae

Personal information

First name(s) / Surname(s) Lucia Maria Nemeti (married Rus)
Date and place of birth: 16th March 1977, Cluj-Napoca, Cluj, Romania
Nationality: Romanian
Marital status: married
Address: 5, Scortarilor street, ap. 6, Cluj-Napoca, Romania
Email: lucia.rus@umfcluj.ro

Education, degrees and diplomas
2000 – Bachelor Degree in Pharmacy, University of Medicine and Pharmacy „Iuliu Hațieganu” Cluj-Napoca, Romania
2003 – Master degree (Drug Analysis, Pharmacy): “HPLC analysis of the *Ginkgo biloba* pharmaceutical dosage forms ” University of Medicine and Pharmacy „Iuliu Hațieganu” Cluj-Napoca, Romania
2007 – Specialist pharmacist Pharmaceutical Laboratory: County Clinical Hospital Cluj-Napoca
2003 – present – Ph.D. student (Medicine Sciences, Pharmacy): „Analytical and stability studies in the thiazide-like diuretics class”, University of Medicine and Pharmacy „Iuliu Hațieganu” Cluj-Napoca, Romania

Professional experience, former employers
2007 – present – Lecturer, Department of Drug Analysis, Faculty of Pharmacy, University of Medicine and Pharmacy „Iuliu Hațieganu” Cluj-Napoca, Romania
2002-2007 – Teaching Assistant, Department of Drug Analysis, Faculty of Pharmacy, University of Medicine and Pharmacy „Iuliu Hațieganu” Cluj-Napoca,
2000-2002 Pharmacist, S.C. Sanofarm S.R.L. Pharmacy Dej, Romania

Professional training courses
2006 – Course: Mettler Toledo Benelux Thermal Analysis Customer Courses, Brussels, Belgium
2003 – Postgraduate course "Chromatographic and spectral techniques and methods – demonstrations", Cluj-Napoca, Romania
2003 – Postgraduate course "HPLC practical course – high performance liquid chromatography" Cluj-Napoca, Romania
2002 – "Therapeutic monitoring laboratory", Charles Nicole hospital, Rouen, France
2000 – Erasmus Scholarship, Faculty of Pharmacy, Grenoble, France

Member of professional associations
2002 - present- member of Pharmaceutical Sciences Society in Romania
2002 - present- member of Romanian Chemistry Society
2002 - present- member of College of Pharmacists in Romania

Language skills	French- Diplôme D'Etudes en Langue Française DELF B2 English
Teaching experience	<p>-Drug analysis courses and practical classes for the fifth year pharmacy students. -Biological drugs practical classes for the fourth year pharmacy students. -Research methodology courses and practical classes for fourth year pharmacy students and for third year nutrition and diet students. -<i>For undergraduate</i>: Drug analysis: Standard courses of Thin layer chromatography, Thermal analysis (Differential Scanning Calorimetry, Thermogravimetry) methods and Capillary electrophoresis offered to the fifth year class, Faculty of Pharmacy (Romanian line and French line of studies). Emphasis is on uses, generalities, application of these methods for the analysis of different pharmaceutical dosage forms. Research methodology: Standard courses of research methodology in the pharmaceutical field offered to fourth year classes, Faculty of Pharmacy (Romanian and French line of studies) and for third year classes, Faculty of Nutrition and Diet (Romanian line).</p> <p>Manual edition: Cristina Iuga, Marius Bojiță, Lucia Rus, Codruța Maier, Elena Curea, Analiza Medicamentului. Aplicații practice. Editura Medicală Universitară "Iuliu Hațieganu", Cluj-Napoca, ISBN 973-693-115-3, 2005</p>
Research experience	Experience in Thermal methods (Differential Scanning Calorimetry, Thermogravimetry) applied in the drug analysis field. Familiarity with modern techniques, chromatographic methods, spectroscopic methods. Extensive use and interpretation of instrumental data, including HPLC, FTIR, UV-VIS, XRPD methods.
Funded research projects	<ol style="list-style-type: none"> 1. Development and optimization of the formulation and preparation of an oral pharmaceutical system for the transport and liberation of a medical substance with colon specificity – Grant CNSIS, 2007-2009, code 94, member. 2. Addiction diagnostic and monitoring of acute and chronic drug consumption using modern analytical methods, applied on biological samples: blood, urine, hair – Grant CEEEX, 2006-2008, code 115, member. 3. Polymorphic forms and cyclodextrins bioactive substances encapsulation for drug quality improvement – Grant CEEEX, 2005-2008, code 7, member. 4. Oxidative stress: diagnostic and toxicological implications – Grant CNSIS, 2005-2007, code 1277, member. 5. Post-university education and implementation of some drug stability studies – Grant CNSIS, 2002, code 73, member.

Publications Scientific papers published in extenso in Romania:

1. Rus LM, Kacso I, Borodi G, Aluaş M, Tomuță I, Iuga C, et al.. Solid form of indapamide recrystallized from acetonitrile/diethyl ether solvent mixture, AIP Conference Proceedings, 2012; 1425(39):[39-42 pp.].
2. Kacso I, Rus LM, Pop M, Borodi G, Bratu I. Structural characterization of ambazone salt with niflumic acid, Spectros Int J, 2012; 27(1):49-58.
3. Rus LM, Tomuță I, Iuga C, Maier C, Kacso I, Borodi G, et al. Compatibility studies of indapamide/pharmaceutical excipients used in tablet preformulation. Farmacia. 2012; (1):[92-101 pp.].
4. Rus LM, Tomuță I, Iuga C, Maier C, Kacso I, Borodi G, et al. Indapamide slow release tablet preformulation: interactions with excipients analysis. Clujul Medical. 2011; 84(4):[550-5 pp.].
5. Rus L, Constantinescu D, Drăgan F, Farcaş A, Kacsó I, Borodi Gh, Bratu I, Bojiță M. Inclusion complex of enalapril maleate/ β -cyclodextrin, FT-IR, X-ray diffraction, DSC and molecular modeling. Farmacia. 2007; 55(2): [185-192 pp.].
6. Oprean R, Servais AC, Bodoki E, Oprean L, Rus L, Săndulescu R, Crommen J, Hubert Ph. Enantioseparation of chiral drugs by capillary zone electrophoresis in non-aqueous media. 1. Propranolol enantiomers discrimination. Farmacia. 2007; 55(2):[244-251 pp.].
7. Kiss B, Iuga C, Bojiță M, Rus LL, Nemeti L. Tramadol RP-HPLC quantitative determination method validation. Farmacia. 2003; 51(5):[24-29 pp.].
8. Nemeti L, Iuga C, Bojiță M, Kiss B, Muntean D. HPLC analysis of pharmaceutical dosage forms with Gingko Biloba extracts, Ovidius University Annals of Medical Science – Pharmacy. 2003; 1(1):[92-196 pp.].
9. Rus LL, Kiss B, Iuga C, Bojiță M, Nemeti L, Mandruțau I. HPLC analysis of hidrosoluble vitamins (thiamine, riboflavin, riboflavin-5-phosphate, pyridoxine, cyanocobalamin, nicotinamide), Ovidius University Annals of Medical Science – Pharmacy. 2003; 1 (1):[103-107 pp.].

Abstracts published at international congresses:

1. Rus LM, Iuga C, Tomuță I, Kacso I, Borodi G, Bratu I, Bojiță M. Compatibility studies of indapamide/excipients used in slow release tablet preformulation. The 1st Central and Eastern European Conference on Thermal Analysis and Calorimetry (CEEC-TAC1). Craiova, Romania. 7-10 septembrie 2011.