



UNIVERZITET U NOVOM ŠADU
PRIRODNO-MATEMATIČKI
FAKULTET
DEPARTMAN ZA FIZIKU



Identifikacija polimorfnih oblika klopidogrel bisulfata u praškastim uzorcima

- diplomski rad -

Mentor: Dr Olivera Klisurić

Kandidat: Jasmina Čubrilo

Novi Sad, 2011.

*Ovim putem želim da se zahvalim
mojoj mentorki doc. Dr Oliveri Klisurić na pomoći pri izradi ovog rada,
mojoj porodici, roditeljima posebno, na velikom strpljenu i podršci
i svim mojim dragim prijateljima
koji su bili uz mene tokom svih ovih godina studiranja.*

Jasmina Čubrilo

1. SADRŽAJ

1. Uvod.....	1
2. Teorijski deo.....	3
2.1. Priroda i dobijanje rendgenskog zračenja.....	3
2.2. Difrakcione metode.....	7
2.2.1. <i>Debaj – Šererova metoda</i>	8
2.2.2. <i>Difraktometar za polikristalne uzorke</i>	10
2.3. Polimorfizam kristala.....	13
2.3.1. <i>Termodinamička teorija polimorfizma</i>	14
2.3.2. <i>Polimorfizam u farmaciji</i>	18
2.3.3. <i>Primena klopidogetrel bisulfata i njegova polimorfna stanja</i>	18
2.3.4. <i>Uslovi za upis lekova u registar</i>	22
3. Cilj rada.....	24
4. Eksperimentalni deo.....	25
4.1. Eksperimentalna aparatura.....	25
4.2. Tok eksperimenta.....	26
5. Rezultati i diskusija.....	28
6. Zaključak.....	34
7. Literatura.....	35

1. UVOD

Poznato je da se čvrsta kristalna supstanca može javiti u različitim formama:

- u formi monokristala, skoro idealno hemijski čistog, kristalne individue su preko 0,1 mm i aproksimativno možemo smatrati da je periodičnost očuvana u celom uzorku
- u formi polikristala koji je sačinjen od mnogobrojnih različito orijentisanih kristalića unutar kojih se nezavisno održava periodičnost; kristalna zrna su međusobno mehanički povezana
- u formi kristalnog praha, skup kristalnih zrna koja nisu mehanički povezana

U zavisnosti od tipa uzorka koji imamo i informacija koje želimo da dobijemo, postoji širok spektar eksperimentalnih metoda.

Ukoliko je uzorak u formi monokristala, moguće je izračunati parametre kristalne rešetke – koordinate atoma u elementarnoj ćeliji, međuravanska rastojanja i uglove među njima, odrediti simetriju i prostorne grupe kristala. Eksperimentalne metode koje se mogu primeniti na ovakvim uzorcima su: metoda Lauea (*Max Theodor Felix von Laue*), oscilatorna, Vajsenbergova (*K. Weissenberg*), precesiona metoda i difraktometrija monokristala.

Ukoliko je uzorak u formi polikristala ili kristalnog praha, moguće je izvršiti kvalitativnu analizu uzorka (identifikovati prisutne faze), odrediti parametre jedinične ćelije, veličine kristalita, napone u rešetki; moguće je izvesti i kvantitativnu analizu ili pratiti fazne transformacije. Svaka kristalna supstanca daje karakterističnu difrakcionu sliku na osnovu koje je moguća njena identifikacija. Eksperimentalne metode koje se mogu primeniti na ovakvim uzorcima su: Debaj – Šererova metoda (*P. Debye, P. Scherrer*) i difraktometarska metoda za polikristalne uzorke.

metoda	forma uzorka	inicijalno x-zračenje	način detekcije difraktovanog zračenja
metoda Laua	monokristal	polihromatsko	filmska tehnika
oscilatorna metoda		monohromatsko	filmska tehnika
Vajsenbergova metoda		monohromatsko	filmska tehnika
precesiona metoda		monohromatsko	filmska tehnika
difraktometrija monokristala		monohromatsko	brojačka tehnika
Debaj - Šererova metoda	prah	monohromatsko	filmska tehnika
difraktometrija polikristala		monohromatsko	brojačka tehnika

Tabela 1. Metode rendgenske strukturne analize

Problemi koji se javljaju pri difrakciji na uzorcima u formi monokristala su nedovoljno kvalitetni uzorci, nemogućnost dobijanja uzoraka adekvatnih dimenzija i činjenica da je neke supstance nemoguće sintetisati u ovoj formi. U formi polikristala ili kristalnog praha svi kristali se mogu uspešno preparirati; problem sa uzorcima koji su u formi monokristala se lako prevazilazi jednostavnim mrvljenjem. Stoga, prirodno se nametnula potreba za usavršavanjem metoda difrakcije na polikristalnim i uzorcima u formi kristalnog praha. Ove metode registruju difraktovano zračenje brojačkim, odnosno detektorskim metodama, što inicira i razvoj i poznavanje kompjuterskih programa za obradu eksperimentalnih podataka.

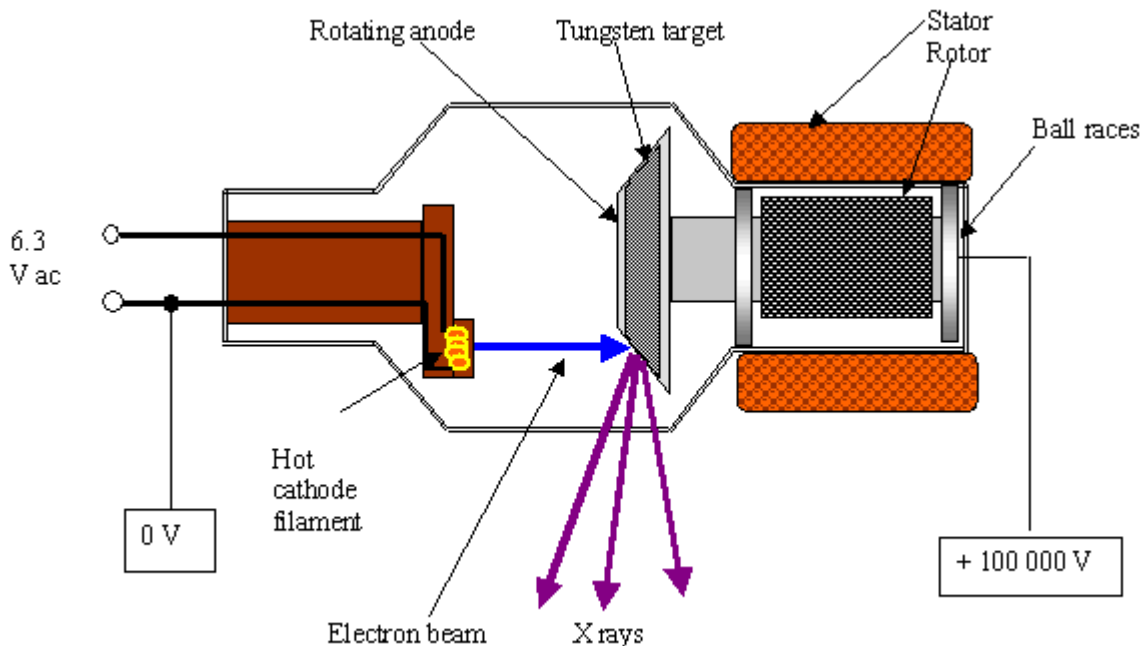
Kako je tema ovog rada "Identifikacija polimorfnih oblika klopidogrel bisulfata u praškastim uzorcima", u prvom, teorijskom delu, detaljnije će biti obrađene teme difrakcije, difrakcionih metoda na polikristalima i prahu, polimorfizma generalno i polimorfizma klopidogrel bisulfata i njegove primene u farmaciji.

2. TEORIJSKI DEO

2.1. Priroda i dobijanje rendgenskog zračenja

Uslovi difrakcije elektromagnetnog zračenja na kristalnoj rešetki su odgovarajuća talasna dužina primenjenog zračenja i dovoljna prodorna moć da bi se obezbedio intenzitet difrakcionih snopova koji omogućava detekciju i odgovarajuća merenja. Oba uslova ispunjavaju rendgenski zraci, snopovi neutrona odgovarajuće energije i elektroni odgovarajućih brzina koji su ređe u upotrebi jer su potrebni odgovarajući uređaji koji generišu snopove ovih čestica. Neutroni se koriste za detekciju efekata na lakšim atomima, a x - zraci za istraživanja na težim atomima. Ipak, u praksi je najčešće korišćenje x - zraka u raznim eksperimentalnim metodama.

V. K. Rendgen (*Röntgen*) je 1895. godine tokom proučavanja električnog pražnjenja kroz razređene gasove otkrio zrake novog tipa. On im je i dao naziv x – zraci, a danas se često nazivaju rendgenski zraci. Tokom narednih nekoliko godina, Rendgen je ispitivao njihove osobine: jonizacionu moć, fluorescenciju koju izazivaju na pojedinim materijalima, apsorpciju na materiji, eksponiranje fotografskih ploča itd. Rendgen je uspeo da pokaže da x – zraci ne skreću u električnom i magnetnom polju, što je dokaz da nisu naelektrisane čestice. x – zraci su elektromagnetne talasne prirode, malih talasnih dužina od 0,01 – 10 nm, i u spektru elektromagnetnih talasa se nalaze između ultraljubičastog i γ – zračenja.



Slika 1. Rendgenska cev [4]

x – zraci se dobijaju u rendgenskim cevima (slika 1.). Snop elektrona se kreće od užarene katode konkavnog oblika (u cilju fokusiranja snopa), ubrzava se korišćenjem radnog napona (reda veličine bar kV) ka anodi, sudara se sa njom i usled usporjenja naelektrisanih čestica dolazi do emisije elektromagnetnog zračenja. Tokom

radnog režima rendgenskih cevi neophodno je stalno hlađenje vodom, jer se veliki deo energije elektrona gubi na toplotu, svega 1% energije snopa elektrona se pretvara u energiju x – zračenja. Materijali od kojih su napravljene anode mogu biti različiti; najčešće se koriste Volfram, Molibden, Gvožđe, Nikl, Kobalt itd. jer ovi materijali imaju visoke tačke topljenja.

Kinetička energija jednog elektrona koji stiže do površine anode je:

$$E = e \cdot U \quad (2.1.)$$

gde je:

e – naelektrisanje elektrona – približno $1,602 \cdot 10^{-19}$ C

U – napon između elektroda u cevi

Ako se pri jednom sudaru elektrona sa atomom anode celokupna energija elektrona transformiše u energiju jednog fotona x - zraka, onda će to biti foton sa maksimalnom energijom, maksimalnom frekvencijom a minimalnom talasnom dužinom:

$$E = e \cdot U = h \cdot \nu_{\max} = \frac{h \cdot c}{\lambda_{\min}} \quad (2.2.)$$

gde je:

h – Plankova (*Planck*) konstanta – približno $6,63 \cdot 10^{-34}$ J·s

ν_{\max} – maksimalna frekvencija ovog fotona [s^{-1}]

c – brzina svetlosti u vakuumu – približno $3 \cdot 10^8 \frac{m}{s}$

λ_{\min} – minimalna talasna dužina ovog fotona [m]

Iz jednačine 2.2. jednostavno je odrediti λ_{\min} , odnosno kratkotalasnu granicu spektra. Kada uvrstimo u 2.2. vrednosti poznatih konstanti, dobijamo Duan – Hantovu (*W. Duane, F. L. Hunt*) jednačinu, koja odgovara ovom ekstremnom slučaju kada je kompletna dostignuta energija elektrona pretvorena u energiju fotona x – zraka:

$$\lambda_{\min} = \frac{12,37}{U} \quad (2.3.)$$

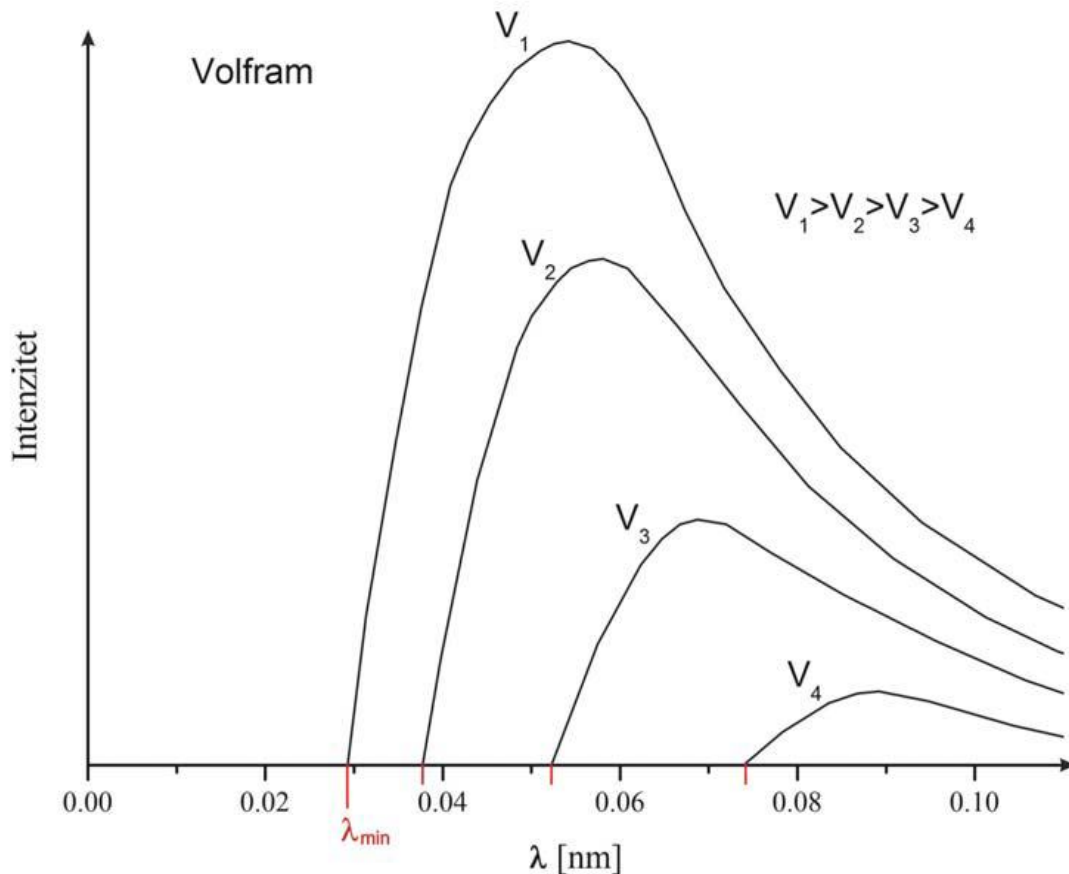
gde se talasna dužina dobija u angstromima ($1 \text{ \AA} = 10^{-10}$ m) ukoliko se napon U uzme u kV.

Elektroni često ne izgube svu svoju kinetičku energiju pri jednom sudaru sa atomom anode već pri seriji sudara, pri čemu se svaki deo energije koji elektron izgubi tokom jednog sudara pretvara u energiju fotona x – zračenja i na ovaj način se dobijaju fotoni različite energije, odnosno talasne dužine i frekvencije. Ovo zakoono zračenje čini kontinualni spektar sa izraženom kratkotalasnom granicom. Kao što se vidi iz jednačine 2.3. kratkotalasna granica kontinualnog spektra ne zavisi od materijala od kojeg je napravljena anoda rendgenske cevi, već samo od primenjenog

radnog napona. Položaj maksimuma intenziteta u ovakvom spektru takođe zavisi samo od napona U ; za vrednost talasne dužine koja odgovara maksimumu intenziteta u spektru empirijski je dobijena sledeća relacija:

$$\lambda_{\max} = \frac{3}{2}\lambda_{\min} + 0,005 \quad [nm] \quad (2.4.)$$

Na slici 2. predstavljen je kontinualni spektar Volframa za različite vrednosti napona.

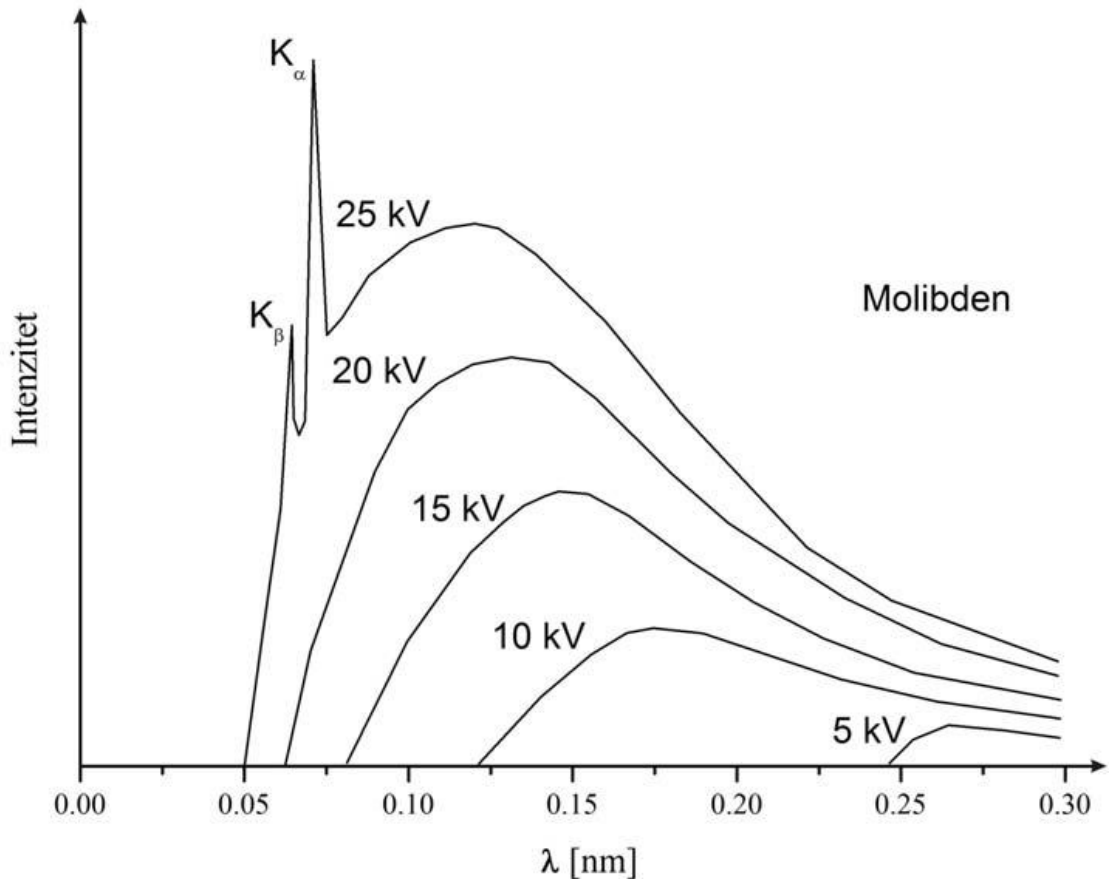


Slika 2. Kontinualni spektar Volframa za različite vrednosti napona [3]

Ako upotrebljeni radni napon pređe određenu kritičnu vrednost (tzv. eksitacioni potencijal – karakteristična vrednost za metal od kojeg je napravljena anoda), na kontinualnom spektru će se javiti oštri pikovi na određenim talasnim dužinama. Položaji ovih pikova zavise od materijala od kojeg je napravljena anoda i nazivaju se karakterističnim x – zracima i formiraju karakteristični linijski spektar. Linijski spektar je uvek superponiran na kontinualni. Elektroni putem sudara predaju energiju atomima anode; ukoliko je predata energija dovoljno velika, moguća je jonizacija njenih atoma, odnosno izbacivanje ne samo elektrona iz spoljašnjih ljuski već i iz unutrašnjih. Kako tada postoje upražnjena mesta na nižim nivoima, dolazi do prelaza elektrona sa viših nivoa na niže. Elektroni pri tom gube energiju u vidu x – zračenja, i upravo ovo zračenje daje karakterističan linijski spektar; svaki pik

ovakvog spektra odgovara određenom prelazu koji se izvršio u atomu anode. Ovi pikovi se obeležavaju sa K, L, M itd. u zavisnosti od toga između kojih ljuski nastaje prelaz elektrona u atomima anode. Prilikom prelaska elektrona sa L na K ljusku, emituje se K_{α} zračenje, a prelaskom sa M na K nastaje K_{β} zračenje itd. Moguća je pojava i fine strukture na linijskom spektru, odnosno pojava dubleta, koja je posledica cepanja nivoa sa kojeg elektron vrši prelaz.

Na slici 3. prikazan je karakteristični spektar Molibdena za različite vrednosti napona.



Slika 3. Karakteristični spektar Molibdena za različite vrednosti primenjenog napona [3]

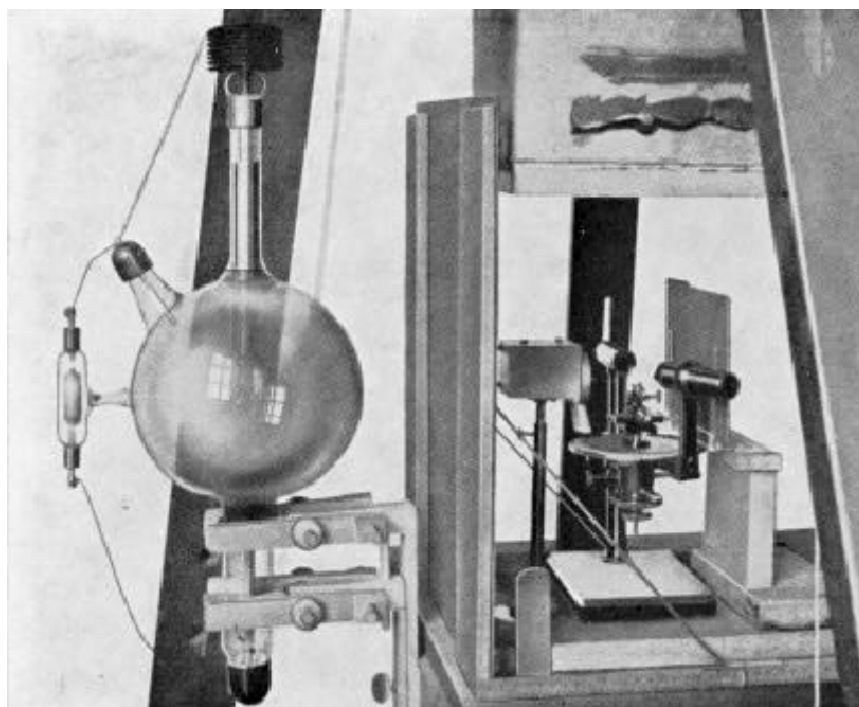
Najveći broj metoda rendgenske difrakcije zahteva upotrebu monohromatskog inicijalnog zračenja, što zahteva rešenje dva problema. Prvi je eliminisanje ili smanjenje uticaja kontinualnog dela spektra x – zraka. Pokazalo se da je najpovoljniji odnos između intenziteta linija karakterističnog zračenja i kontinualnog dela spektra kada se koristi radni napon rendgenske cevi koji je četiri puta veći od eksitacionog potencijala. Drugi problem je izdvajanje određene linije iz linijskog spektra, najčešće izdvajanje K_{α} linije. Ovaj problem se može rešiti korišćenjem specijalnih metalnih filtera koji vrše selektivnu atenuaciju na tačno određenim talasnim dužinama (linearni apsorpcioni koeficijent zavisi od talasne dužine). Drugi metod rešenja ovog problema jeste upotreba monokristala sa visokom difrakcionom moći (najčešće kvarc) koji se stavlja na put nefiltriranom x – zračenju. Moguće je proračunati pod kojim uglom od poznate kristalografske ravni će se

difraktovati K_{α} linija koja će se kasnije koristiti. Ovaj postupak je moguće ponoviti više puta, dok se ne dostigne željeni stepen monohromatičnosti zraka, ali mora se imati u vidu da se većim brojem ponavljanja smanjuje intenzitet željenog zračenja.

2. 2. Difrakcione metode

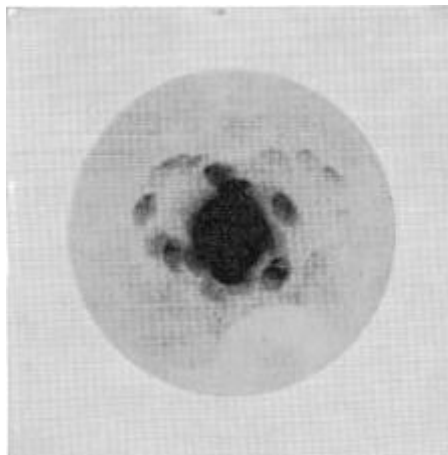
Do naglog razvoja kristalografije kao nauke, došlo je početkom XX veka zaslugom Maksa Lauea (*Max von Laue*), mladog, ali već tada poznatog naučnika sa izraženim osećajem za optičke pojave. X – zraci su već bili otkriveni, kao i njihova elektromagnetna priroda i vrednosti talasnih dužina od 0,01 – 10 nm, i smatralo se da su konstante kristalnih rešetki reda veličine 10^{-10} m. Laue je, polazeći od toga da vidljiva svetlost difrakuje na optičkoj rešetki reda veličine talasne dužine tog elektromagnetnog zračenja, zaključio da bi na kristalnoj rešetki trebalo očekivati pozitivnu interferenciju primenom rendgenskih zraka.

Fridrih (*I. V. Friedrich*) i Kniping (*P. Knipping*) su eksperimentalno potvrdili Laueovu pretpostavku. Na slici 4. predstavljena je aparatura koju su koristili.



Slika 4. Fridrihova i Knipingova aparatura[5]

Kristal bakar sulfata proizvoljne orijentacije postavili su na put x – zracima iz visokonaponske cevi, a difraktovano zračenje su detektovali fotografском pločom. Pored upadljivog traga direktnog snopa, na ploči su uočili i pravilne tačke jasno skrenute sa pravolinijske putanje. Na slici 5. prikazana je ova difrakciona slika.



Slika 5. Fridrihova i Knippingova prva difrakciona slika [5]

Ovo je bio prvi eksperiment interferencije elektromagnetnog zračenja na kristalnoj rešetki, za koji je Laue 1914. godine dobio Nobelovu nagradu.

Nakon ovog, usledio je ubrzani razvoj kristalografije kao nauke, a posebno difrakcionih metoda.

S obzirom na to da će se eksperimentalni deo ovog diplomskog rada odnositi na rad na difraktometru za polikristale i kristalni prah, zadržaćemo se samo na metodama difrakcije na ovakvim uzorcima.

Metodama difrakcije na polikristalima i prahu možemo utvrditi koje su kristalne faze prisutne u konkretnom uzorku, i ukoliko faza ima više i sve su kristalne, ove metode omogućuju i kvantitativna merenja, odnosno utvrđivanje zastupljenosti svake faze. Međuravanska rastojanja sa raspodelom intenziteta su specifična karakteristika svakog kristala što omogućuje njegovu identifikaciju. Svaki kristal koji se pojavi u preliminarnim ispitivanjima bilo gde u svetu, dobija svoje mesto u internacionalnim bazama podataka. Izdvajaju se dve metode: Debaj - Šererova metoda i difraktometarska metoda za polikristalne uzorke.

2. 2. 1. Debaj – Šererova metoda

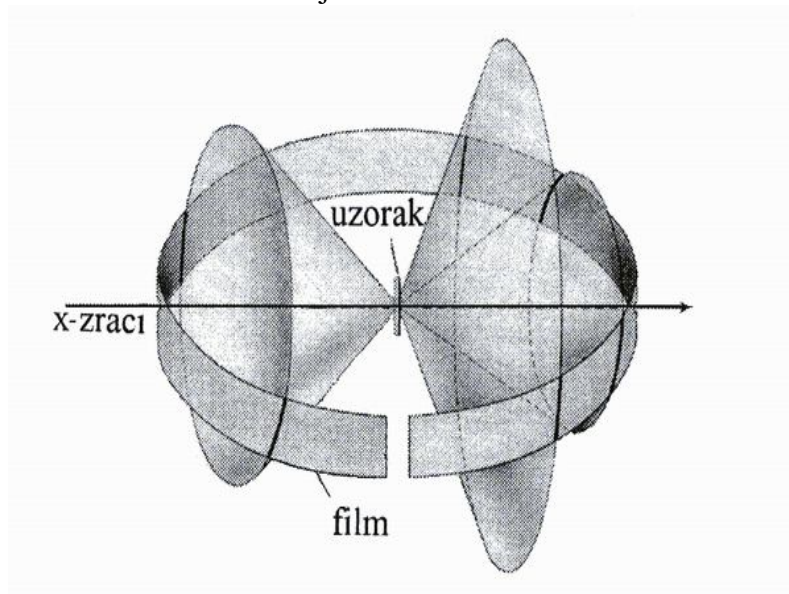
Karakteristike Debaj – Šererove metode su:

- monohromatsko inicijalno zračenje
- nepokretna cilindrična filmska kamera kao detektor
- polikristalni uzorak koji se obrće

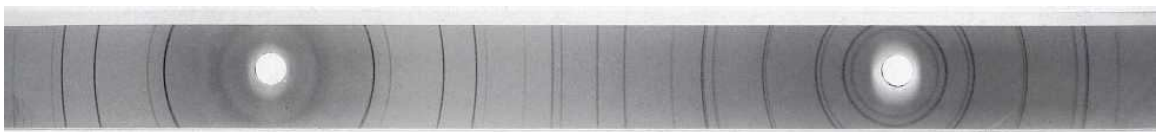
Za realizaciju ove metode potrebna je relativno mala količina materijala za preparaciju uzorka. Uzorak se sprasuje, što je moguće sitnije, i prah se stavlja u Lindemanovu kapilaru (prečnika 0,2 do 0,3 mm). Ovako pripremljen preparat se sastoji od kristalnih zrna potpuno haotične orijentacije. Polikristalne uzorke moguće je i direktno formirati u obliku valjka i pričvrstiti na nosač. Tokom merenja, preparat rotira oko ose normalne na pravac upadnog zračenja. Ovo se najviše radi u cilju povećanja homogenosti difrakcionih linija na snimku, mada je statistički raspored kristalnih zrna u polikristalima takav da i bez obrtanja uzorka obezbeđuje položaj

svih kristalografskih ravni pod odgovarajućim Bragovim uglom kako bi se realizovala difrakcija.

Na slici 6. dat je šematski prikaz Debaj – Šererove metode, a na slici 7. je prikaz filma nakon izvršene difrakcije.



Slika 6. Šematski prikaz Debaj – Šererove metode [1]



Slika 7. Film nakon difrakcije po Debaj – Šererovoj metodi [6]

U zavisnosti od karakteristika korišćene eksperimentalne aparature i karakteristika uzorka, vreme eksponiranja je od nekoliko desetina minuta pa sve do nekoliko časova. Prekratko vreme eksponiranja ne pruža dovoljno jasne informacije o prisustvu linija slabijeg intenziteta, dok predugo vreme eksponiranja znatno pojačava fon, izaziva zacrnjenje duž celog filma i utiče na detekciju linija i određivanje intenziteta.

Cilindrična kamera je male visine. Sa njene unutrašnje strane postavlja se film koji ima dva kružna otvora, jedan za ulaz kolimatora x – zračenja, a drugi za antikolimatorski zastor koji apsorbuje nedifraktovani deo zračenja kako bi sprečio pojavu crne mrlje na snimku, koja može da utiče na detekciju linija koje su posledica difrakcije pod malim uglovima.

Za određivanje relevantnih međuravanskih rastojanja, potrebno je utvrditi tačnu korelaciju između obima kamere i dimenzija filma. Standardne kamere koje se koriste su obima 180 mm ili 240 mm, ali prilikom postavljanja filma u kameru, i tokom njegovog razvijanja i sušenja dolazi do izvesnih odstupanja, najčešće skupljanja filma. Kolimator i antikolimator su uvek pod uglom od 180° (dve svetle tačke na slici 7. su probušena mesta filma na koja naležu kolimator i antikolimator) i siguran su reper koji obezbeđuje jednostavnu korekciju odnosno utvrđivanje tačne

korelacije između rastojanja sa snimka i uglova difrakcije, korišćenjem jednostavne proporcije:

$$180^\circ : AB = \theta : X \quad (2.5.)$$

Kada na taj način odredimo ugao θ , upotrebom poznate Bragove (*Bragg*) relacije, jednostavno se može odrediti međuravansko rastojanje:

$$n \cdot \lambda = 2d \cdot \sin \theta \quad (2.6.)$$

Određivanje vrednosti intenziteta linija koje će se koristiti za normiranje i utvrđivanje međusobnih odnosa intenziteta difrakcije za pojedine ravni je složenije. Grubo se vizuelno može proceniti, a preciznije fotometrijskim metodama i računskom obradom.

Ova metoda zahteva veliki napor i iskustvo u identifikaciji materijala. Komplikacije se javljaju usled prisustva više komponenti u jednom uzorku, a njihov broj može da se kreće i na desetine hiljada. Zato su neophodne i druge informacije koje mogu suziti broj mogućih kristalnih oblika za kojima se traga.

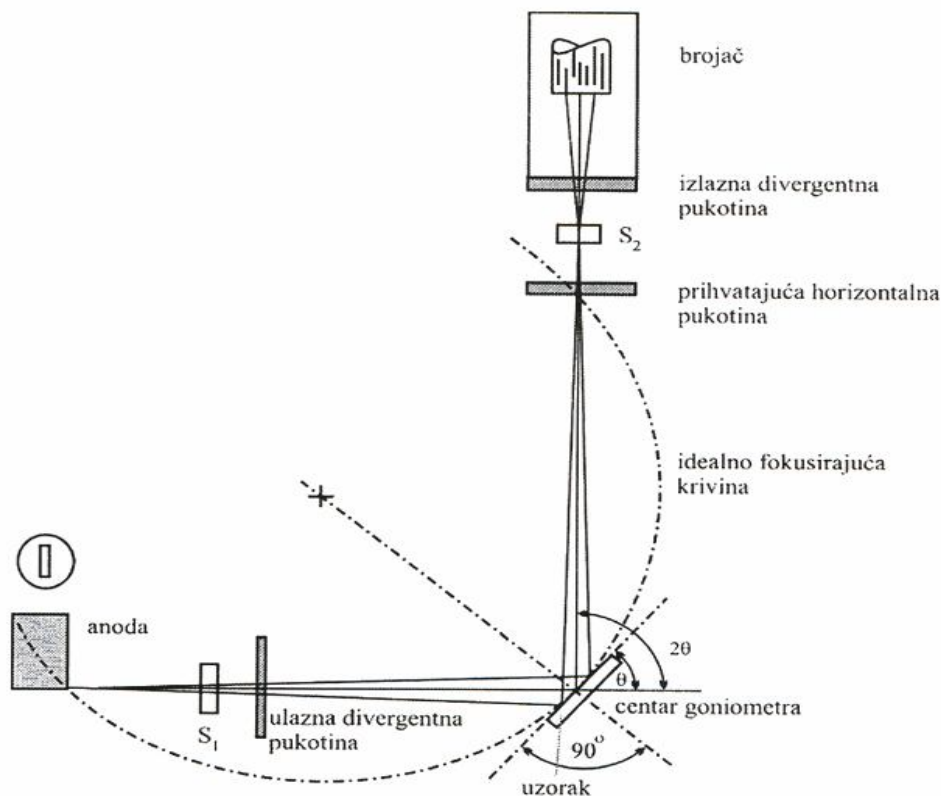
2. 2. 2. Difraktometar za polikristalne uzorke

Osnovne karakteristike ove metode su:

- monohromatsko inicijalno zračenje
- polikristalni uzorak koji se obrće
- scintilacioni brojač kao detektor koji se sinhrono obrće sa obrtanjem uzorka

Difraktometar za polikristalne uzorke se razlikuje od prethodno opisane metode po tome što je detektor efekta difrakcije osetljivi scintilacioni brojač. Fotoni rasejanih x - zraka izazivaju jonizaciju preko koje je moguće precizno merenje svih intenziteta. Osim scintilacionog brojača, moguća je upotreba i raznih drugih, no scintilacioni su i dalje najviše u upotrebi zahvaljujući svojoj dugotrajnosti, lakom rukovanju, a i ceni. Rezultati se prezentuju u digitalnoj formi, odmah se obrađuju na željeni način, ili se preko pisaača automatski prikazuje i prati spektar rasejanja u željenom uglovnom intervalu.

Za realizaciju ove metode potrebna je relativno velika količina materijala za preparaciju uzorka, jer je neophodno obezbediti da meta bude dovoljne veličine kako bi snop upadnog zračenja difraktovao na svim uglovima. Polikristalni uzorak se formira u pravougaoni oblik reda veličine centimetra i debljine milimetra i montira na držač uzorka. Kristalni prah se presuje u tabletu ili meša sa pogodnim amorfnim nosačem kako bi postigao neophodnu mehaničku čvrstoću. Pri ovom postupku, važno je obratiti posebnu pažnju na izbegavanje tendencije praškastih delića ka preferentnoj orijentaciji jer osnovna pretpostavka metode jeste idealno haotičan raspored. Takođe je bitno, ako se uzorak preparira u nosaču, obezbediti da površina bude homogena i glatka.

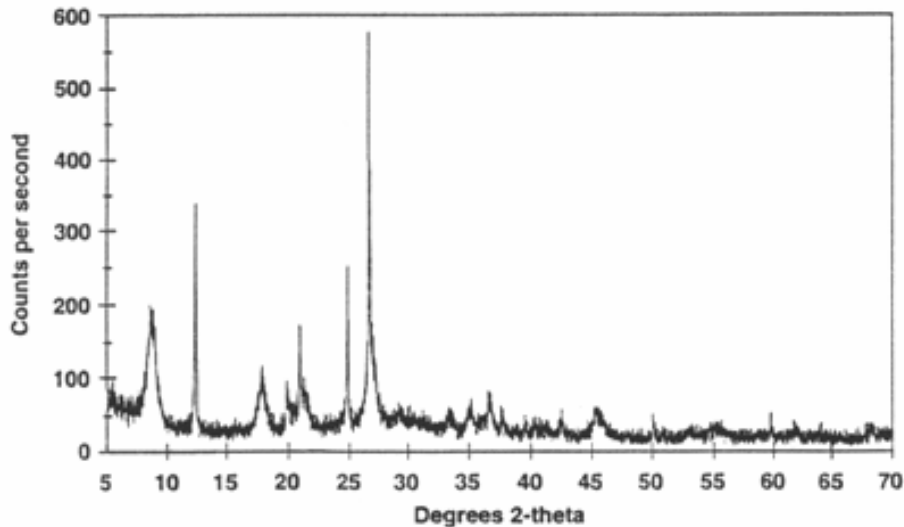


Slika 8. Šematski prikaz difraktometra za polikristalne uzorke [1]

Na slici 8. dat je šematski prikaz difraktometra za polikristalne uzorke. Inicijalni snop x – zraka je monohromatizovan apsorpcionim filterima ili monokristalnim monohromatorima. Sistemom pukotina – pukotine Solera (*Soller*) snop se kolimiše ka uzorku koji je na nosaču. Nosač može da rotira oko ose normalne na pravac upadnog snopa. Detektorski krug skeniranja je u vertikalnoj ravni.

Iz osnovnih postavki Bragovog modela difrakcije, jasno je da ako je uzorak postavljen pod upadnim uglom θ , aktuelno je merenje na dvostruko većem uglu 2θ u odnosu na inicijalni zrak. Zato je neophodno da se prilikom skeniranja obezbedi sinhronizacija pri kojoj obrtanje uzorka prati obrtanje brojača za dvostruko veći ugao, poznato kao $\theta - 2\theta$ geometrija. Moguća je i $\theta - \theta$ geometrija, koja je ređe u upotrebi, pri kojoj je neophodno simultano rotiranje rendgenske cevi i detektora za istu vrednost ugla, dok uzorak miruje.

Za određivanje relevantnih međuravanskih rastojanja, potrebno je tačno određivanje ugla difrakcije sa horizontalne ose ovakvih difraktograma, što se odabiranjem odgovarajućih brzina obrtanja uzorka i brojača i brzina pomeranja papira pisara može učiniti sa visokim stepenom tačnosti. Iz izmerenih vrednosti uglova difrakcije, međuravanska rastojanja se računaju na osnovu Bragove formule (2. 6.), kao i kod Debaj - Šererove filmske metode. Na slici 9. je prikazan difraktogram za jedan polikristalni uzorak.



Slika 9. Difraktogram za jedan polikristalni uzorak [8]

Dijagram praha se sastoji od niza pikova različitog položaja i intenziteta. Položaj pika se definiše uglom 2θ i zavisi od talasne dužine upotrebljenog rendgenskog zračenja. Kod upotrebe većih talasnih dužina rastojanja između pikova su veća, a kod upotrebe manjih talasnih dužina, pikovi će biti bliži jedan drugom bez obzira što se radi o istom uzorku. Vrednosti za međuravanska rastojanja (d) računaju se, kako je već rečeno, pomoću Bragove formule (2. 6.).

Intenziteti difrakcije sa svake kristalografske ravni linearno su proporcionalni površinama ispod krivih koje na snimku odgovaraju pojedinim pikovima. Na osnovu vrednosti ovih površina mogu se direktno vršiti normiranja i određivati međusobni odnosi intenziteta difrakcije. Sa porastom koncentracije neke komponente raste i površina odgovarajućih difrakcionih pikova. Čak i relativno visoka tačnost određivanja intenziteta daje samo mogućnost procene kvantitativnog učešća pojedinih komponenti u sastavu složenog kristalnog uzorka; i vrlo precizno realizovan postupak pruža samo procenu sadržaja sa greškom koja je reda veličine celog procenta. Pri tome je neophodno raspolagati sa odgovarajućim standardima i sačinuti eksperimentalne kalibracione krive.

Današnji difraktometri za prah uglavnom su automatizovani, što znači da se svim ovim operacijama upravlja pomoću računara, odnosno kompjuterskih programa. Sve funkcije difraktometra kontroliše mikroprocesor. Sakupljeni podaci se mogu prikazati grafički na ekranu računara, što omogućava njihovu brzu proveru i dalju analizu. Sa pojavom automatizovanih difraktometara za prah sada je moguće podatke koji su dostupni na računaru analizirati u velikom broju različitih tehnika.

Karakteristika difrakcije na polikristalima i prahu je smanjenje recipročnog 3D prostora kristala na jednodimenzionalnu 2θ osu, a rezultujući efekti su:

- sistematsko preklapanje difrakcionih pikova zbog simetrijskih uslova
- slučajno preklapanje zbog ograničenja eksperimentalne rezolucije
- poteškoće pri određivanju fona

2. 3. Polimorfizam kristala

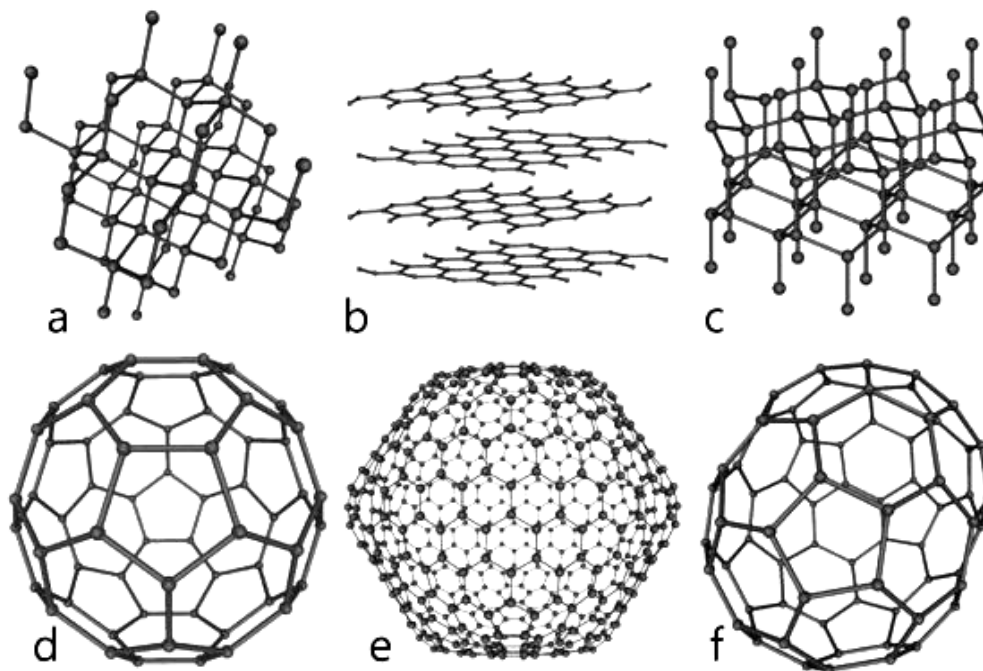
Polimorfizam (grč. *poli* - više, *morphe* - oblik) je sposobnost supstancije da kristališe u više od jedne kristalne strukture, najčešće usled različitih uslova kristalizacije. Polimorfizam se sreće kod svih oblika kristalnog stanja, uključujući i polimere, metale i minerale. Ova pojava je vrlo značajna u oblastima farmacije, agrohemije, prehrane, eksploziva itd.

Kristalizacija je proces nastajanja uređenog čvrstog stanja supstancije iz nekog drugog stanja koje nije takvo, pod dejstvom privlačnih kohezionih sila. Proces kristalizacije se može odigrati u prirodnom okruženju kada se stvore povoljni uslovi, ali postoji i značajan broj industrijskih i laboratorijskih metoda za dobijanje kristalnih formi. Kristalizacija je spontana nakon ostvarivanja neophodnih uslova. Sistem teži da zauzme minimum potencijalne energije, stoga on prvo mora biti doveden u labilno stanje sa karakteristikama prezasićenja; stabilno stanje ovakvog sistema postiže se kristalizacijom odnosno izdvajanjem čvrste faze.

Ako kristal sa okolinom posmatramo kao sistem, njegov odgovarajući fazni dijagram će nam pokazati kako treba uticati na pojedine parametre da bismo ostvarili pomeranje u željenom pravcu. Okolinu mogu činiti isti konstituenti, ali oni moraju biti u stanju koje nije čvrsto: rastop, rastvor, para ili gas. Hemijski potencijal okoline je μ_0 , a hemijski potencijal konstituenata u čvrstoj fazi je μ_s . U slučaju kada konstituenti imaju istu vrednost potencijalne energije, u sistemu neće doći do promene i sistem je u ravnoteži. Ako je $\mu_s \neq \mu_0$ nastaju promene. Proces kristalizacije nastaje u slučaju kada je $\mu_s < \mu_0$, u suprotnom, spontano započinje proces dekrystalizacije.

Kristalizacija zavisi kako od spoljašnjih parametara (pritisak, zapremina, temperatura) tako i od unutrašnjih (osobine prisutnih atoma). Kristal predstavlja stanje sa najnižom potencijalnom energijom za dati sistem i date uslove. Stoga, ovo je vrlo stabilan sistem, koji uz odgovarajuće stabilne spoljašnje parametre neće menjati svoju uređenost. Ukoliko dođe do promene spoljašnjih uslova, moguće je preuređenje kristalnog stanja u novo kristalno stanje sa još nižom potencijalnom energijom. Tada uočavamo već pomenutu pojavu da isti konstituenti mogu ostvariti više modifikacija koje se mogu bitno razlikovati po svojim fizičkim osobinama, odnosno uočavamo polimorfni prelaz ili polimorfnu transformaciju - prelaz iz jedne u drugu modifikaciju. Polimorfne modifikacije se obeležavaju grčkim slovima; modifikacija koja je stabilna pri normalnoj i nižoj temperaturi obeležava se sa α , a ostale modifikacije pri višim temperaturama slovima β , γ itd.

Tipičan primer polimorfizma je polimorfizam Kalaja. Na temperaturama nižim od $13,2^\circ\text{C}$ on ima dijamantsku kristalnu strukturu α -Sn. Na temperaturi $13,2^\circ\text{C}$, α -Sn prelazi u β -Sn koji ima tetragonalnu kristalnu rešetku. Pri daljem zagrevanju, na temperaturi od 161°C , β -Sn prelazi u rombičnu modifikaciju γ -Sn. Polimorfizam se javlja i kod mnogih drugih hemijskih elemenata - Ugljenika, Gvožđa, Nikla, Bora, Kobalta, Volframa itd. Dijamant i grafit su najpoznatije modifikacije ugljenika i savršeni su primer koliko se fizička i hemijska svojstva različitih modifikacija mogu međusobno razlikovati. Danas se zahvaljujući tehnologiji visokih pritisaka, dijamant može uspešno dobiti iz grafita. Na slici 10. prikazane su neke od ugljenikovih modifikacija.



Slika 10. Alotropske modifikacije ugljenika: a – dijamant; b – grafit; c – lonsdalit; d, e, f – fuleren [14]

2. 3. 1. Termodinamička teorija polimorfizma

Razmatraćemo dve polimorfne modifikacije (A i B) molekulskog kristala pri konstantnom pritisku. Modifikacija A je stabilnija na temperaturi 0 K, i $\Delta X = X_B - X_A$ za bilo koju termodinamičku promenljivu veličinu X.

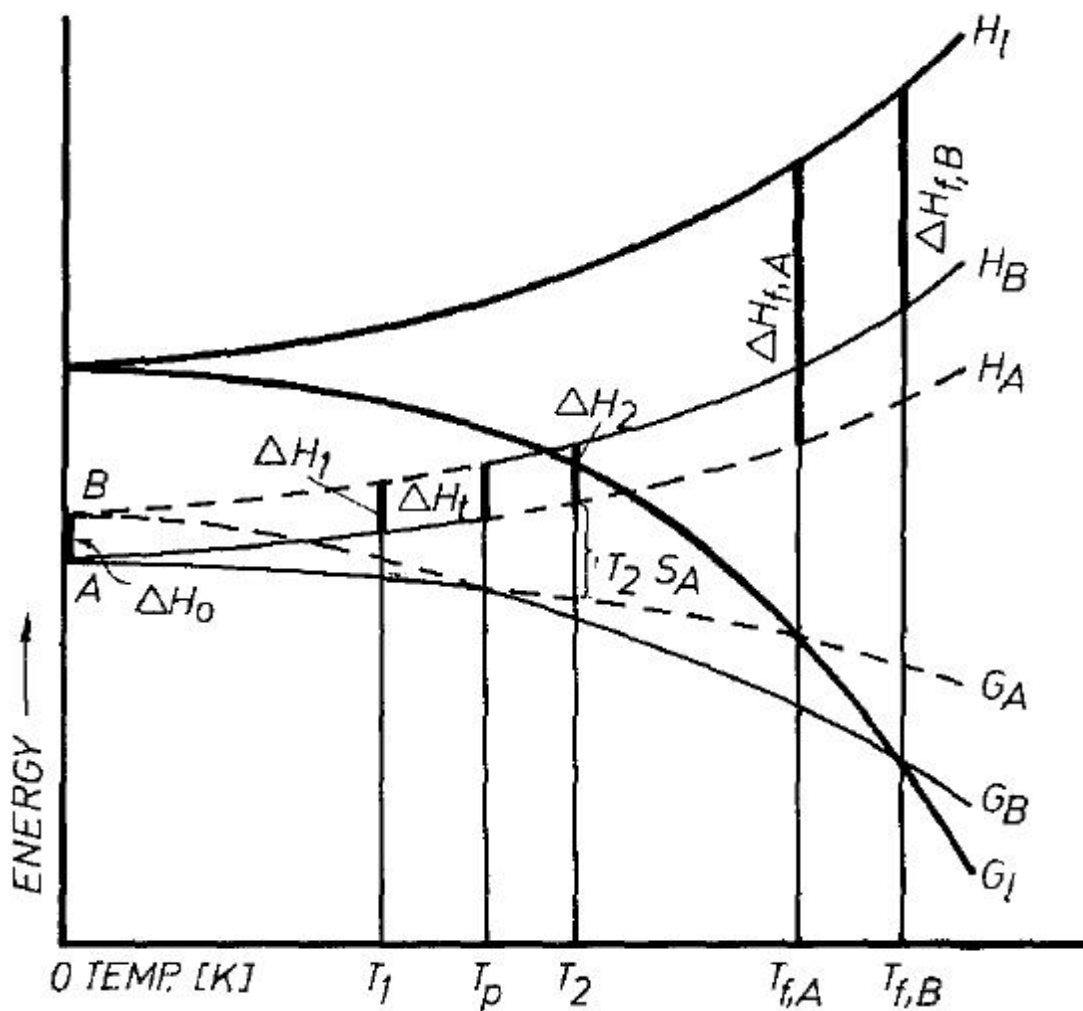
Na prvoj mogućoj tački prelaza (T_p), u slučaju enantiotropizma (reverzibilna transformacija kristala između dve različite forme pri promeni temperature), uslov ravnoteže ukazuje da su molarne slobodne energije (slobodne entalpije) jednake na temperaturi prelaza T_p , pa je razlika entalpija data sledećim izrazom:

$$\Delta H = \Delta G + T_p \Delta S = 0 - T_p \left(- \frac{\partial \Delta G}{\partial T} \right) > 0 \quad (2.7.)$$

gde je:

- H – entalpija (toplotni sadržaj sistema pri konstantnom pritisku)
- S – entropija (mera neuređenosti sistema, količnik količine toplote i temperature)
- G – Gibsova (*J. W. Gibbs*) slobodna energija (energija oslobođena ili apsorbovana tokom reverzibilnog procesa na konstantnom pritisku i konstantnoj temperaturi)

Kako je T_p uvek pozitivna veličina, ΔH mora imati isti znak kao i ΔS , a pošto je ΔS pozitivno na T_p (svaka promena teži povećanju entropije), zaključujemo da su u okolini tačke prvog prelaza mogući samo endotermni prelazi sa tačke niže temperature ka tački više.



Slika 11. [15]

Kako se stvarne temperature prelaza (T_1 i T_2 na slici 11.) ne poklapaju sa temperaturom T_p , otvara se pitanje da li se prethodno ustanovljeno pravilo na temperaturi T_p može proširiti na sve temperature u slučaju enantiotropizma i kako se monotropizam (sposobnost supstancije da postoji u više kristalnih formi, ali pri tom postoji samo jedna stabilna modifikacija na svim pritiscima i temperaturama) može uključiti u prethodni zaključak. Da bi ovo pitanje dobilo odgovor, neophodno je posmatrati ponašanje ΔH i ΔS .

Na temperaturi 0 K možemo zanemariti male razlike u vrednostima oscilatornih energija, tako da je ΔH_0 određeno potencijalnom energijom. Razlike u konformaciji stoga i u odgovarajućoj energiji i entropiji su neznatne u većini polimorfni sistema, pa je ΔH_0 uglavnom određeno karakteristikama rešetke.

U prvoj aproksimaciji, termalno kretanje kristalne rešetke sastoji se od nezavisnih harmonijskih oscilacija, svaka od njih može biti opisana kretanjem u potencijalnom polju. U ovoj aproksimaciji zanemarujemo termičko širenje tako da je specifični molarni toplotni kapacitet dat sledećom jednačinom:

$$c_p = c_v = \frac{k}{n} \sum_v \frac{\left(\frac{h\nu}{kT}\right)^2 \exp\left(\frac{h\nu}{kT}\right)}{\left[\exp\left(\frac{h\nu}{kT}\right) - 1\right]^2} \quad (2.8.)$$

gde je:

- n – količina supstance
- k – Bolzmanova (*Boltzmann*) konstanta, približno $1,38 \cdot 10^{-23} \text{ J}\cdot\text{K}^{-1}$
- h – Plankova (*Planck*) konstanta, približno $6,626 \cdot 10^{-34} \text{ J}\cdot\text{s}$
- ν – frekvencija

Potencijal je određen frekvencijom, a suma svih potencijala daje energiju rešetke. Ako je potencijal niži za jednu od modifikacija, frekvencija će biti veća. Ako pretpostavimo da će za sve frekvencije ν važiti da je $\nu_A \geq \nu_B$, shodno jednačini 2.8. možemo zaključiti da će vrednost Δc_p uvek biti pozitivna. Kako modifikacija A ima nižu vrednost entalpije na temperaturi 0 K, i uz $\Delta c_p > 0$, važi:

$$\Delta H = \int_0^T \Delta c_p dT + \Delta H_0 > 0 \quad (2.9.)$$

$$\Delta S = \int_0^T \frac{\Delta c_p}{T} dT + \Delta S_0 > 0 \quad (2.10.)$$

Ako su oba stanja savršeno kristalno uređena, ΔS_0 će na temperaturi 0 K biti nula.

Za realne kristale, harmonijska aproksimacija nije validna, stoga uslov $\nu_A \geq \nu_B$ ne mora uvek da važi i anharmonijske efekte bi trebalo uzeti u obzir, ali odgovarajuće korekcije će biti minimalne. Takođe, frekvencija zavisi ne samo od dubine potencijalne jame, već i od širine, tako da niži potencijal ne mora da obavezuje i nižu frekvenciju. Uprkos ovim problemima u realnim sistemima, korekcije koje bi trebalo izvršiti su komplikovane, a rezultujuće promene u odnosu na uvedene aproksimacije minimalne, stoga se prihvata da jednačine 2.9. i 2.10. važe i u realnim sistemima.

Kako su ΔS i ΔH pozitivne veličine, pretpostavlja se da se na grafiku prikazanom na slici 11. krive H međusobno neće presecati, a da se krive H sa krivama G presecaju maksimum jednom. Kako su mogući jedino prelazi ka stanjima sa nižom slobodnom energijom, statističko – mehaničkim pristupom potvrđeno je pravilo spomenuto na početku, koje se može formulisati:

Ukoliko je posmatran endotermalni prelaz na određenoj temperaturi, prelaz će biti izvršen u smeru niže temperature, odnosno dve faze su povezane

enantiotropizmom. Ukoliko je posmatran egzotermni prelaz na određenoj temperaturi, može biti pretpostavljeno da prelaz neće biti izvršen u smeru niže temperature, odnosno dve faze su ili povezane monotropizmom, ili je prelaz usmeren u smeru porasta temperature. Ovo pravilo se naziva pravilom toplote prelaza (*The Heat – of – Transition Rule – HTR*). Iako za sad postoji nekoliko poznatih izuzetaka, pravilo se može primenjivati sa visokim stepenom pouzdanosti.

Pravilo entalpije topljenja (*The Heat – of – Fusion Rule*): ako oblik sa većom tačkom topljenja ima nižu entalpiju topljenja, ove dve forme uglavnom predstavljaju slučaj enantiotropizma, u suprotnom su slučaj monotropizma. Naravno, razlika u vrednostima entalpija topljenja za dva oblika se može izračunati i nije jednaka toploti prelaza.

Pri poređenju različitih struktura molekulskih kristala ustanovljeno je da u najvećem broju slučajeva, jedini značajan uticaj na vrednost entalpije na temperaturi od 0 K ima energija rešetke. U odsustvu orijentacione interakcije preko npr. vodoničnih veza, ova energija najviše zavisi od udaljenosti između površinskih molekula, odnosno preciznije između spoljašnjih atoma susednih molekula. Iz geometrijskih razloga, molekuli se ne mogu dodirivati svuda, odnosno rastojanja između atoma će na nekim mestima biti veća od odgovarajućeg očekivanog minimuma. Minimalna potencijalna energija koja obezbeđuje stabilnu formu na 0 K će biti postignuta na dobru aproksimaciju minimiziranjem rastojanja između susednih molekula, odnosno gustim pakovanjem (osim u retkim slučajevima kada konformacija molekula utiče na prednosti gustog pakovanja). Pod pretpostavkom jednostavnih neusmerenih interakcija iste snage na celoj površini, može se reći da je minimiziranje rastojanja ekvivalentno maksimiziranju gustine pakovanja. Ukoliko su prisutne usmerene sile, kao što je vodonična veza, odgovarajući kratki kontakti imaju dominantan uticaj na intermolekularnu potencijalnu energiju. U ovom slučaju nije moguće ustanoviti korelaciju između gustine pakovanja i potencijalne energije, posebno u slučajevima kada se dve različite strukture, svaka sa odgovarajućom lokalnom minimalnom energijom, razlikuju u uređenju ovih kontakata. Nekad je efikasnije optimalno uređenje interakcija vodoničnih veza i veća rastojanja između ostalih molekularnih površina, nego kraća rastojanja svuda. U ovom slučaju, gustina nestabilnih faza može biti znatno veća. U slučaju nedovoljno uređenih kristala, potencijalna energija i makroskopska struktura se dobijaju usrednjavanjem različitih pozicija ili orijentacija. Jasno je da takvi "prosečni molekuli" imaju nižu vezujuću energiju, više su rašireni i imaju otvorenije strukture. Iz ovih postavki može se zaključiti da forme koje su stabilne na temperaturi 0 K uglavnom imaju veću gustinu, odnosno može se formulirati pravilo gustine (*Density Rule*): ako jedna modifikacija molekulskog kristala ima manju gustinu od druge, može se pretpostaviti da će ona biti manje stabilna u odnosu na drugu na temperaturi apsolutne nule. Prikupljeni eksperimentalni podaci ukazuju na svega nekoliko poznatih izuzetaka ovog pravila.

Ukoliko postoji više od dve moguće modifikacije, prethodno navedena pravila treba primeniti na svaku moguću kombinaciju dve modifikacije.

2. 3. 2. Polimorfizam u farmaciji

Nakon otkrića prvih slučajeva polimorfizma u farmaciji sredinom devedesetih godina prošlog veka, i potvrde o vrlo različitim biološkim aktivnostima dva ili više polimorfni stanja, utvrđivanje njihovog postojanja, karakteristika i stabilnosti je postala neizbežna faza u farmaceutskim istraživanjima.

Polimorfni oblici mogu imati različite hemijske i fizičke karakteristike kao što su tačka topljenja, hemijska reaktivnost, rastvorljivost, optičke i električne osobine, gustina itd. Ove osobine imaju direktan uticaj na kvalitet, bioaktivnost i stabilnost leka stoga je neophodno detaljno ih proučiti za svako njegovo moguće polimorfno stanje. U tu svrhu koriste se različite eksperimentalne metode: mikroskopske, termalne analize (diferencijalno – termička analiza, diferencijalna skening kalorimetrija, termogravimetrija), spektroskopske tehnike (infracrvena, Ramanova spektrometrija), difrakcione metode (na monokristalima, polikristalima i prahu) itd.

Ove razlike u fizičkim karakteristikama između kristalnih formi polimorfni sistema su postale izuzetno interesantne farmaceutima jer njihove manifestacije nekada vode do primetnih razlika među formama, koje dalje unose komplikacije tokom obrade, formulacije i mnogih faza koje testiranje leka obuhvata da bi mogao da bude u prodaji.

Kada je poznato da supstanca ima više polimorfni stanja, njihove karakteristike se moraju odrediti, kao i način na koji one utiču na kvalitet leka i njegovu efikasnost. Polimorfizam može uticati na svaku fazu u razvoju leka, počev od pretkliničkih ispitivanja pa sve do poslednje faze prodaje, odnosno od ispitivanja njegove bioaktivnosti, bioraspoloživosti, stabilnosti pa sve do uslova pod kojima bi lek trebalo skladištiti, načina transporta i distribucije. Odabir odgovarajućeg polimorfni stanja vrši se na osnovu njegove hemijske stabilnosti i minimalnog potencijala za konverziju u neku drugu formu.

Istraživanja su pokazala da je polimorfizam češći kod jedinjenja koja su slabo rastvorljiva u vodi, kod organskih soli, velikih molekula sa hidratnim grupama, organskih rastvora – neutralnih sa velikom molekulskom masom, i kod jedinjenja koja imaju molekulsku masu veću od 350.

Prema *W. C. Mc Crone*, svako jedinjenje ima različita polimorfna stanja, a broj poznatih za dato jedinjenje proporcionalan je utrošenom vremenu i energiji tokom njegovog istraživanja.

2. 3. 3. Primena klopidogetrel bisulfata i njegova polimorfna stanja

Klopidogetrel bisulfat (*CLP*) je farmaceutsko jedinjenje poznatog mehanizma redukcije posledica ateroskleroze (*atherosclerosis*).

Ateroskleroza je bolest velikih i srednjih mišićnih arterija, karakteriše se nakupljanjem lipida, holesterola, kalcijuma i ćelijskih elemenata unutar zidova krvnog suda. Ovo za posledicu ima akutnu ili hroničnu opstrukciju volumena krvnog suda, poremećen protok krvi, pa samim tim i smanjeno snabdevanje kiseonikom ciljanih tkiva. Faktori koji utiču na nastanak ovog oboljenja i njegov razvoj su: hiperlipidemija, povišen krvni pritisak, dijabetes, konzumiranje cigareta, hipertenzija.

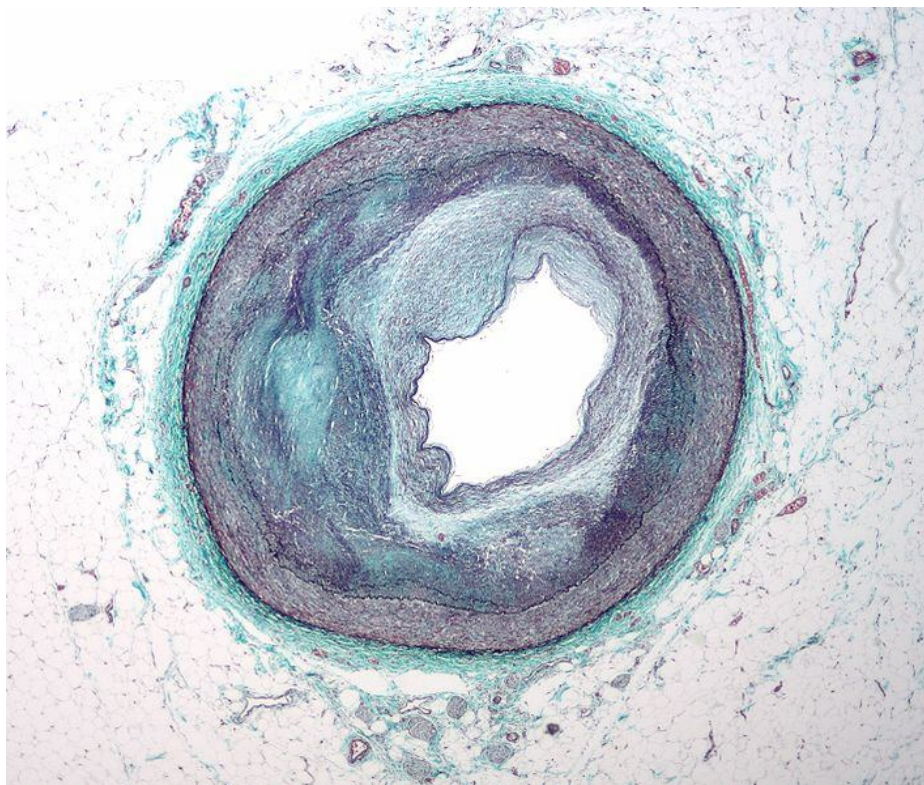
Simptomatologija ateroskleroze je izuzetno različita. Pacijenti oboleli od ateroskleroze mogu imati prisutne simptome koronarne bolesti ili infarkta miokarda, neretko prvi simptom može biti i naprasna srčana smrt jer oboljenje može da postoji čak i decenijama pre nego što izazove kliničke simptome. Najčešće kliničke posledice su: volumenska opstrukcija (progresivna i asimptomatska dok fibrozni plak ne opstruira 50 – 70 % volumena krvnog suda, tek tada nastaju prvi simptomi koronarne bolesti zbog smanjenog dotoka kiseonika do ciljanog tkiva), ruptura plaka ili tromboza plaka (usled oštećenja fibroznog plaka, odvaja se jedan njegov deo i nastaje tromb koji je pokretan i ukoliko stigne do dela krvnog suda koji je dovoljno uzak može u potpunosti da onemogući protok krvi, što dalje može dovesti do infarkta miokarda, ishemičnog napada i šloga; nastajanje tromba posledica je spore cirkulacije ili turbulencije u protoku krvi), angina pektoris (stanje karakterisano oštrim bolom iza grudne kosti, njegovim širenjem ka levoj ruci i otežanim disanjem; angiozni bol je najčešći simptom infarkta miokarda), šlog ili cerebralni insult (nastaje opstrukcijom krvnih sudova odgovornih za snabdevanje centralnog nervnog sistema), visceralna ishemija, mezenterična angina, aneurizma abdominalne arterije (opasno oboljenje zbog mogućnosti rupture i krvarenja).

Prevenција ovog oboljenja i terapija u prvoj fazi podrazumevaju eliminisanje poznatih faktora rizika: regulacija povišenog krvnog pritiska, smanjenje lipida u krvi, prestanak pušenja cigareta, lečenje šećerne bolesti, prestanak uzimanja alkohola, uravnotežena ishrana i redovna fizička aktivnost. Sledeća faza u lečenju jeste uzimanje odgovarajućih medikamenata iz različitih grupa: lekovi koji utiču na smanjenje povišenog holesterola i triglicerida, medikamenti koji utiču na smanjenje triglicerida i LDL frakcije holesterola, antioksidansi tj. vitamini C i E koji utiču na smanjenje oksidacije LDL holesterola i derivati nikotinske kiseline tj. niacina (vitamin B3) koji deluju na skoro sve vrste hiperlipidemija. Poslednja faza u terapiji, ukoliko je neophodna (utvrđuje se dijagnostičkim metodama - elektrokardiogram, stres test, kardijalna kateterizacija, ehokardiogram, kompjuterizovana tomografija, magnetna rezonanca itd.), obuhvata hiruške procedure: angioplastija i ugradnja stenta, operacije na otvorenom srcu, hiruška reparacija abdominalne arterije, ugradnja bajpasa...

Mehanizam nastajanja ateroskleroze i dalje nije u potpunosti poznat. Za sada, najverovatnija teorija je da nastaje usled oksidacije molekula LDL (*low density lipoprotein*) čija je funkcija prenos holesterola kroz organizam, i on je njegov glavni prenosnik. Kada ovakav molekul dođe u kontakt sa zidom arterije, on uzrokuje njeno oštećenje. Imuni sistem reaguje šaljući bela krvna zrnca na to mesto, koja bi trebalo da apsorbuju oksidovani LDL molekul. Kako to nije moguće, i ona se talože na mestu oštećenja, rastu i na kraju pucaju, i na ovaj način se zadržava velika količina oksidovanog holesterola u zidovima arterija. Ovo izaziva još veće oštećenje, što uzrokuje pristizanje još većeg broja belih krvnih zrnaca i krug se zatvara. Arterija je pod upalom, plak holesterola uzrokuje povećanje mišićnih ćelija koje prekrivaju oštećenje, i na taj način se smanjuje protok krvi i povećava krvni pritisak.

Ateroskleroza je vodeći uzročnik smrti u mnogim zemljama, stoga je utvrđivanje tačnog mehanizma nastajanja i usavršavanje terapijskih metoda - medikamenata i hiruških procedura, zadatak velikog broja naučnika.

Na slikama 12. i 13. dati su mikrofotografski i autopsijski snimci arterija sa značajnim stepenom ateroskleroze.



Slika 12. Mikrofotografski prikaz ateroskleroze [17]



Slika 13. Autopsijski snimak ateroskleroze aorte [17]

Klopidogrel bisulfat pomaže u redukciji posledica ateroskleroze, konkretnije sprečava pojavu tromba; on utiče na smanjeno nagomilavanje trombocita tako što blokira vezivanje ADPa (adenozin difosfat) na njegov receptor na trombocitima i tako zaustavlja aktivaciju GPIIb/IIIa kompleksa.

Trombociti su krvne pločice koje imaju centralnu ulogu u održavanju normalne hemostaze. Hemostazni sistem ima dve primarne funkcije: obezbeđuje tečno stanje u cirkulaciji i zaustavlja krvarenje na mestu oštećenja krvnog suda (prirodnim procesom koji se naziva hemostaza). Dok trombociti normalno cirkulišu, u neaktivnom stanju, oni su glatki diskovi koji na membrani imaju brojne glikoproteinske receptore, npr. već pomenuti GPIIb/IIIa. Glikoproteini predstavljaju vezu trombocita sa njihovom okolinom. Kako trombociti nemaju jedro, oni upravo preko ovih receptora reaguju na različite fiziološke i patološke događaje.

Posle povrede krvnog suda, odnosno povrede endotela, uključujući i rupturu aterosklerotskog plaka, trombociti se susreću sa sastojcima ECMA (ekstracelularni matriks – bilo koji materijal tkiva koji ne ulazi u sastav ćelije), koji se nalazi u formi kolagena i raznih adhezivnih glikoproteina. U kontaktu sa ECMom, trombociti ispoljavaju tri opšte reakcije: adheziju – skupljaju se na mestu oštećenja i menjaju oblik iz diskoidnog u sferični čime povećavaju površinu svoje membrane, sekreciju – luče sadržaj svojih granula i agregaciju – vezuju se jedan za drugi i stvaraju tromb.

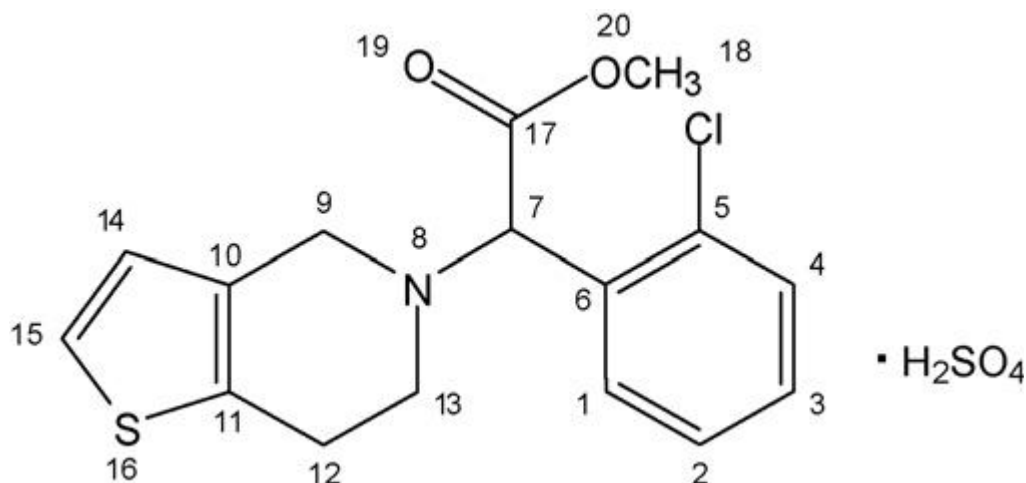
Usled oštećenja zida krvnog suda, subendotelne strukture su izložene dejstvu krvnog toka i same krvi, što vodi do adhezije trombocita – prve faze u formiranju tromba, tj. ugruška. Trombociti na svojoj površini imaju glikoproteinske receptore koji se vezuju za adhezivne proteine i kolagen iz krvnog suda. Trombocit se adhezije na kolagen preko VWFa (*von Willebrandov* faktor) koji se veže na određeni glikoproteinski trombocitni receptor. Dalje, dolazi do otpuštanja jona kalcijuma koji omogućuju sledeću fazu – sekreciju trombocitnih granula.

Tokom sekrecije indukuju se brojni faktori koji dovode do agregacije trombocita. Supstance koje se tokom ove faze luče aktiviraju ostale trombocite i doprinose rastu tromba. Guste granule trombocita otpuštaju ADP.

ADP preko trombocitnih receptora utiče na napredak procesa stvaranja tromba i treću fazu – agregaciju trombocita, tokom koje dolazi do konformacije kompleksa GPIIb/IIIa receptora, koji se konvertuje u formu pogodnu za vezivanje fibrinogena i drugih trombocita. Glavnu ulogu u aktivaciji GPIIb/IIIa receptora ima ADP, odnosno otpuštanje jona kalcijuma.

Dejstvo klopidogrel bisulfata ogleda se u ranoj fazi trombocitne aktivacije. Njegova primarna funkcija je sprečavanje degranulacije trombocita i oslobađanje inflamatornih medijatora. On ireverzibilno blokira vezivanje ADP molekula na odgovarajući receptor na trombocitima P2Y₁₂ inaktivirajući ga i na taj način sekundarno se postiže inhibicija GPIIb/IIIa receptora i trombocitne agregacije.

Poznato je da postoji šest polimorfnih oblika klopidogrel bisulfata, ali u farmaciji su u upotrebi samo polimorfna stanja I i II koja imaju iste indikacije. Njihova razlika je u organizaciji klopidogrel katjona i sulfatnih jona. Obe ove forme imaju sličnu bioaktivnost. Hemijska formula klopidogrel bisulfata je C₁₆H₁₇ClNO₂S·HSO₄, a na slici 14. predstavljena je njegova hemijska strukturna formula.



Slika 14. Hemijska strukturalna formula klopidogrel bisulfata [16]

Prvo polimorfno stanje klopidogrel bisulfata ima monokliničnu elementarnu ćeliju ($a \neq b \neq c$; $\alpha = \gamma = 90^\circ \neq \beta$) sa parametrima: $a=12,63 \text{ \AA}$, $b=15,22 \text{ \AA}$, $c=10,43 \text{ \AA}$, $\beta=113,5^\circ$. Drugo polimorfno stanje ima ortorombičnu jediničnu ćeliju ($a \neq b \neq c$, $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$) sa parametrima: $a=10,32 \text{ \AA}$, $b=20,12 \text{ \AA}$, $c=9,19 \text{ \AA}$. Tačka topljenja za formu I je 184°C , a za formu II 176°C . Forma II ima nižu rastvorljivost od forme I usled veće termodinamičke stabilnosti.

Asimetrična elementarna ćelija forme I ima dva nezavisna katjona klopidogrela i dva nezavisna anjona hidrogensulfata. Dva nezavisna katjona su slične konformacije, ali različite od ortorombične forme II. H – N – C – H fragment pokazuje trans konformaciju u oba nezavisna katjona u formi I, a cis konformaciju u formi II. U formi I vodonične veze N – H \cdots O i O – H \cdots O povezuju dva nezavisna katjona i dva nezavisna anjona u izolovan klaster, u kojem dva katjona interaguju sa dva anjona jedino preko N – H \cdots O vodonične veze. Slabe intermolekularne C – H \cdots O vodonične veze obezbeđuju kristalno pakovanje u obe forme. U formi II vodonične veze O – H \cdots O povezuju anjone u linearne lance, dok vodonične veze N – H \cdots O povezuju jedan katjon i jedan anjon. Ove razlike u kristalnom pakovanju formi I i II mogu dati objašnjenje zašto je forma II manje rastvorljiva, odnosno stabilnija od forme I.

2. 3. 4. Uslovi za upis lekova u registar

Zakon o lekovima i medicinskim sredstvima donela je Narodna skupština Republike Srbije 05.05.2010. godine. Zakon je objavljen u "Službenom glasniku RS" br. 30/2010. Ovim zakonom uređuju se, između ostalog, uslovi i postupak izdavanja dozvole za stavljanje leka u promet, odnosno upis lekova u registre koje vodi Agencija za lekove i medicinska sredstva Srbije, njihova proizvodnja, promet i nadzor. Dozvola za stavljanje leka u promet je dokument koji izdaje Agencija za lekove i medicinska sredstva Srbije i kojim se potvrđuje da su svi zahtevi za stavljanje leka u promet ispunjeni. Istraživanja koja je neophodno obaviti traju godinama i iziskuju ulaganje velikih finansijskih sredstava. Lek mora biti farmaceutski (farmaceutsko – hemijsko - biološki), farmakološko – toksikološki i klinički ispitan.

Najdužu i najkomplikovaniju proceduru prolaze nove supstance koje pretenduju da postanu lekovi. Do nove lekovite supstance moguće je doći na više načina: sintezom potpuno nove supstance (često se slučajno dolazi do otkrića da neka supstanca ima lekovita svojstva), modifikacijom poznatih hemijskih jedinjenja, modifikovanjem biološki aktivnih jedinjenja i planskim istraživanjem biohemijskih procesa i molekula koja na njih mogu uticati (danas najčešći način).

Sledeća faza su pretklinička istraživanja koja se obavljaju *in vivo* (na životinjama) i *in vitro*. Tokom ovih istraživanja izvode se farmakodinamska, farmakokinetička i toksikološka istraživanja. Farmakodinamska istraživanja se sprovode u cilju potvrde efikasnosti leka. Farmakokinetička istraživanja se vrše u cilju upoznavanja ADME profila leka. ADME je skup procesa kojima lek podleže od unosa u organizam do njegove eliminacije – njegovo oslobađanje, apsorpcija, distribucija, metabolizam, eliminacija i reakcija organizma na lek. Pre svega, ispituje se metabolizam leka i stepen vezivanja za proteine plazme. Paralelno se vrše ispitivanja na nekoliko životinjskih vrsta kako bi se ustanovilo kod koje vrste je metabolizam ispitivane supstance najbližiji onom kod ljudi. Dalja istraživanja se vrše na odabranoj vrsti. Toksikološka istraživanja su najdugotrajnija, određuje se akutna (smrtonosna doza leka), subakutna (6 meseci) i hronična (1-2 godine) toksičnost, zatim uticaj na reproduktivnu sposobnost, karcinogeni i mutageni potencijal supstance.

Nakon ove faze slede klinička ispitivanja koja se vrše na ljudima i ovo je i najduža faza u ispitivanjima. Prvi deo je ispitivanje na zdravim dobrovoljcima; definišu se maksimalna bezbedna doza i profil neželjenih dejstava leka. Zatim se ispitivanja sprovode na novootkrivenim bolesnicima sa jasnom dijagnozom; definiše se opseg doza, bezbednost i efikasnost leka. Poslednji deo ove faze uključuje veliki broj ispitanika sa različitim oblicima bolesti i drugim pratećim bolestima; ispituje se interakcija leka sa hranom, drugim lekovima i alkoholom, uticaj na psihičke, fiziološke i psihomotorne procese i moguće stvaranje zavisnosti od leka.

Četvrta i poslednja faza je postmarketinška (postregistraciona). Prati se lek na tržištu, njegova efikasnost i bezbednost. Zahvaljujući velikom broju podataka, najčešće se dešava da se tokom ove faze otkrije farmakodinamski, farmakokinetički i toksikološki profil leka. Podaci koji se dobiju u ovoj fazi, obrađuju se statističkom analizom.

Znatno skraćenoj proceduri ispitivanja podležu generički lekovi. To su lekovi koji su identični po sastavu, dozi i farmaceutskom obliku nekom već registrovanom leku; od njih se najčešće razlikuju u sastavu neaktivne supstance. Dovoljno je dokazati samo jednaku efikasnost sa već registrovanim lekom, odnosno ispitati bioekvivalenciju. Studija o bioekvivalenciji je studija kojom se dokazuje da postoji ista količina aktivne supstance u organizmu kad god se uzme ista doza bilo generičkog ili originalnog leka tokom određenog perioda. Ovaj test zakonski sprečava nepotrebna i neetička ponavljanja obimnih kliničkih istraživanja na ljudima i životinjama. Kako su neophodna istraživanja znatno skraćena, generički lekovi su i znatno jeftiniji od originalnih, od 20% pa čak i do 90%. Do njihovog plasiranja na tržište dolazi u trenutku kada isteknu patentna prava originalnom leku. Patent je dozvoljeni privremeni tržišni monopol originalnog proizvoda koji vlasniku omogućava nadoknadu troškova i često i ostvarivanje profita. Kada taj period istekne, vlasnik gubi pravo ekskluzivnosti prodaje originalnog proizvoda i to je momenat kada je moguće na tržište plasirati generički lek.

3. CILJ RADA

Kao što je već pomenuto, klopidogrel bisulfat ima 6 polimornih stanja, od kojih su stanja I i II našla svoju primenu u farmaciji i imaju iste indikacije.

Odlukom Agencije za lekove i medicinska sredstva Srbije, od 08.09.2009. godine, u prodaju je pušten lek Clopibal[®] čiji je proizvođač i nosioc dozvole za stavljanje u promet "Galenika" a.d. Sadržaj aktivnih supstanci ovog leka je 75 mg drugog polimornog stanja klopidogrel bisulfata.

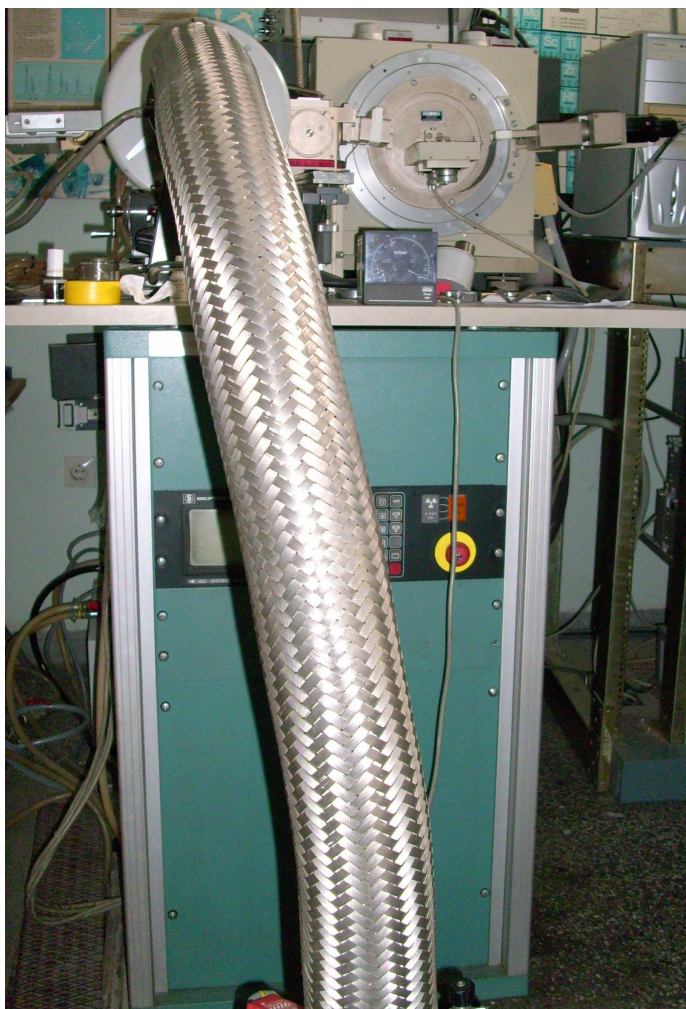
Farmaceutska kuca "Hemofarm" a.d. sintetisala je lek koji ima iste indikacije kao i Clopibal[®], ali čiji je sastav aktivnih supstanci 75 mg prvog polimornog stanja klopidogrel bisulfata. U cilju dobijanja dozvole za stavljanje u promet neophodno je dokazati stabilnost ovog leka, odnosno ispitati da li dolazi do polimornih prelaza stanja I u stanje II nakon godinu dana čuvanja leka pod određenim uslovima, što je upravo cilj ovog diplomskog rada.

4. EKSPERIMENTALNI DEO

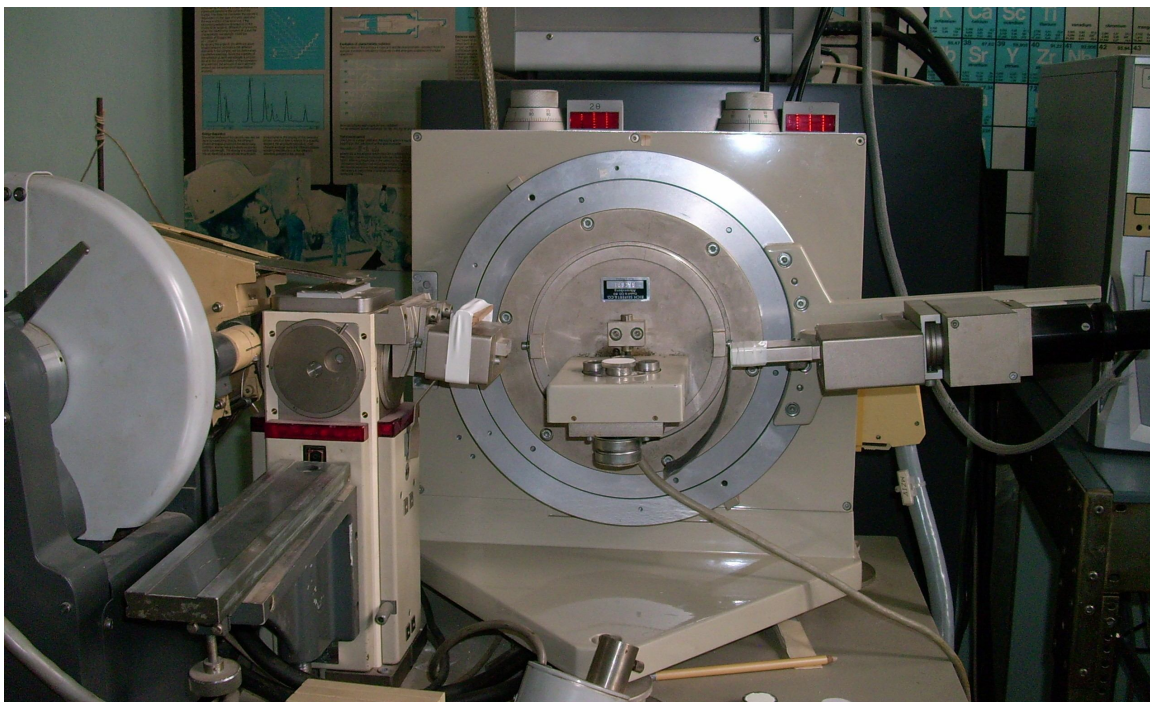
Ispitivanje stabilnosti leka rađeno je metodom difrakcije na prahu koja je detaljnije objašnjena u delu 2.2.2. *Difraktometar za polikristalne uzorke* ovog rada. Merenja su izvršena u Laboratoriji za rendgensku strukturnu analizu Departmana za fiziku, PMF, Novi Sad.

Difraktogrami su snimani za četiri uzorka. Prvi uzorak je prvo polimorfno stanje klopido-rel bisulfata. Drugi uzorak je placebo, odnosno neaktivna supstanca leka. Treći i četvrti uzorak su uzorci leka čiju stabilnost je neophodno utvrditi; oni su čuvani 12 meseci na temperaturi od 30°C i relativnoj vlažnosti vazduha od 65%. Difraktogram drugog polimorfnog stanja klopido-rel bisulfata je poznat od ranije.

4. 1. Eksperimentalna aparatura



Slika 15. Difraktometar

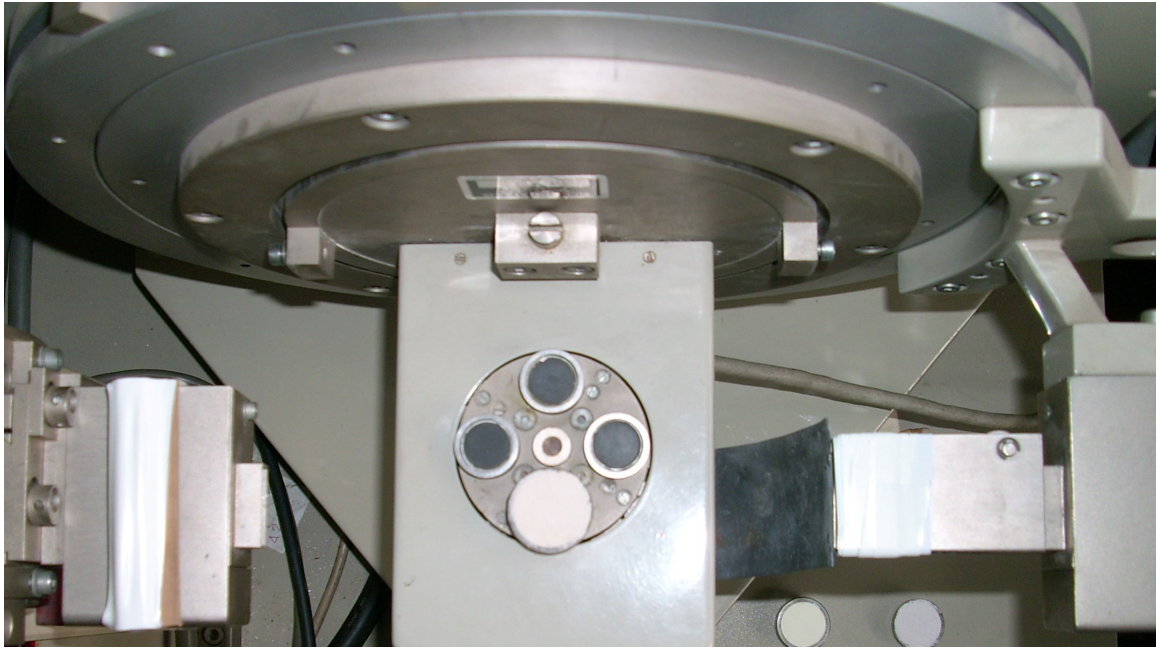


Slika 16. Difraktometar

Na slikama 15. i 16. prikazan je korišćeni difraktometar za prah. Seifert MZ IV je refleksijski goniometar kojeg kontrolišu dva motora: θ sa uglovnim opsegom od 0° do 360° i 2θ sa opsegom od 0° do 161° pri $\theta - 2\theta$ geometriji. Veličinu snopa moguće je kontrolisati i u horizontalnoj i u vertikalnoj ravni. Nosači uzorka su od pleksiglasa i prečnika su 22 mm. Detektor je scintilacioni. Rendgenska cev koristi radni napon od 30 kV pri struji od 30 mA. Koristili smo Cu - K_α - filtrirano zračenje pomoću Ni filtra ($\lambda=1,542 \text{ \AA}$).

4. 2. Tok eksperimenta

Uzorci koji su u formi tableta se što je sitnije moguće sprasuju pomoću avana, zatim se nosači napune dobijenim prahovima i postavljaju na držač uzorka, kao što je prikazano na slici 17. Iako se sa slike vidi da na držaču za uzorak postoje četiri mesta za nosače, snimanja su vršena za svaki uzorak odvojeno.

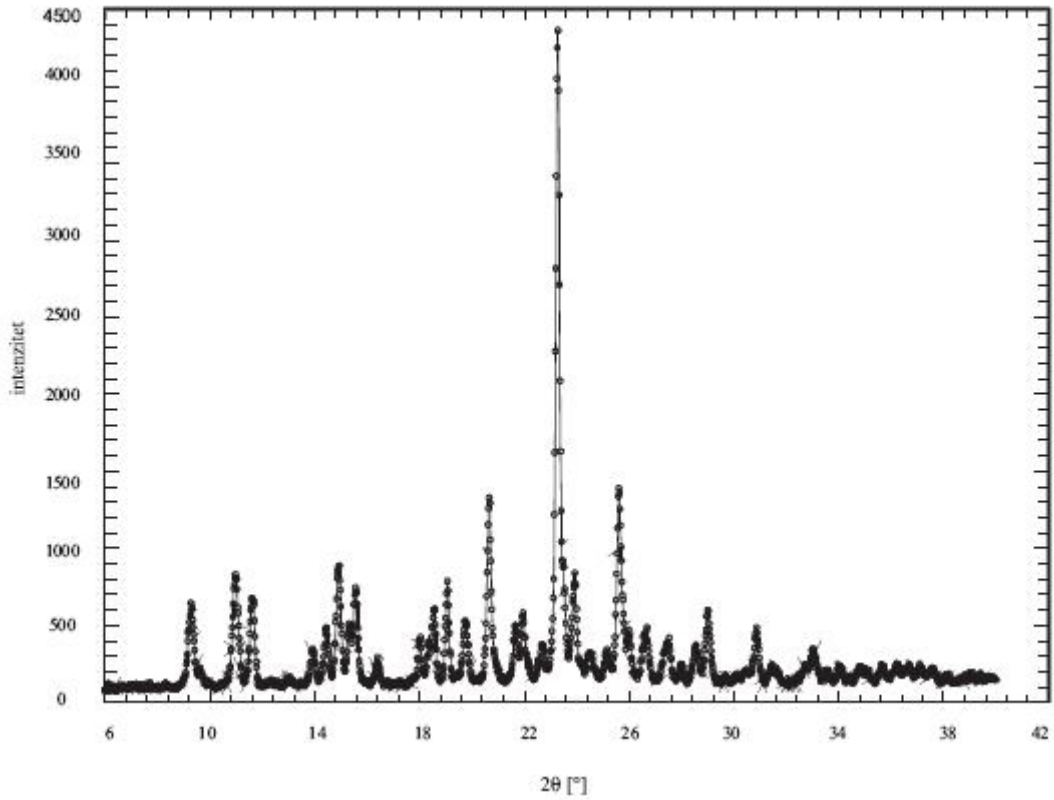


Slika 17. Difraktometar

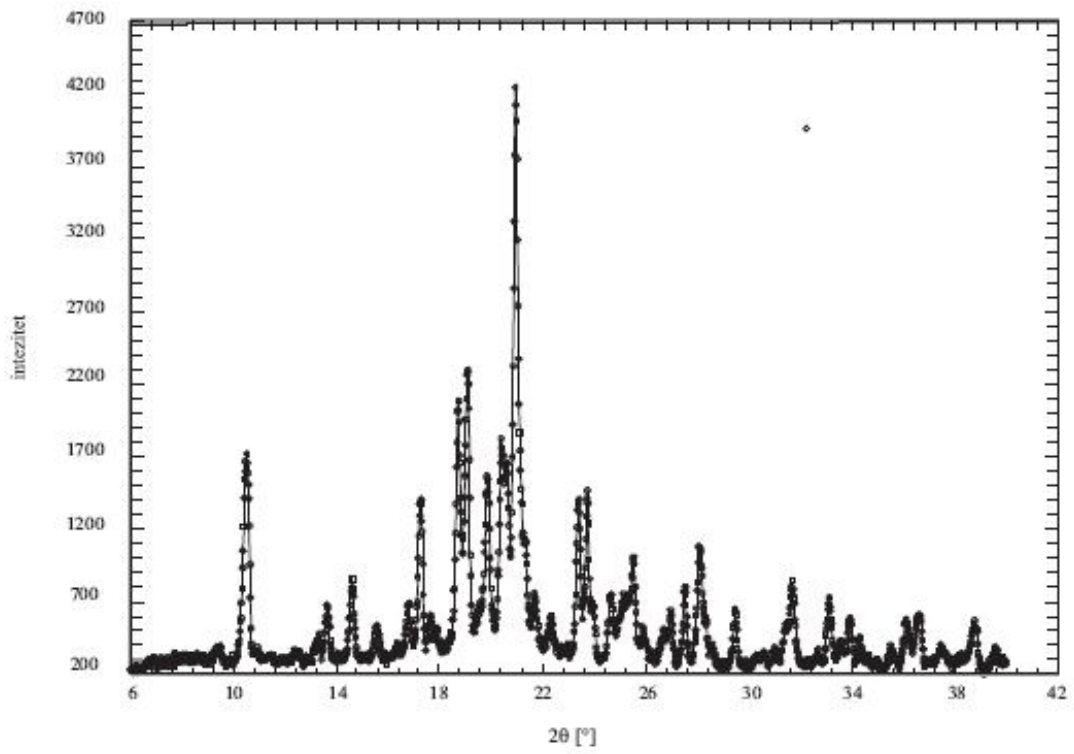
Uglovni interval, za vrednost 2θ , u kojem su praćena rasejanja je od 6° do 40° . Korak promene ugla je $0,02^\circ$ na svakih 15 s. Nakon podešavanja ovih parametara, pristupljeno je snimanju difraktograma za svaki od navedena četiri uzorka. Scintilacioni detektor povezan je sa računarom na kojem se rezultati prezentuju u digitalnoj formi.

5. REZULTATI I DISKUSIJA

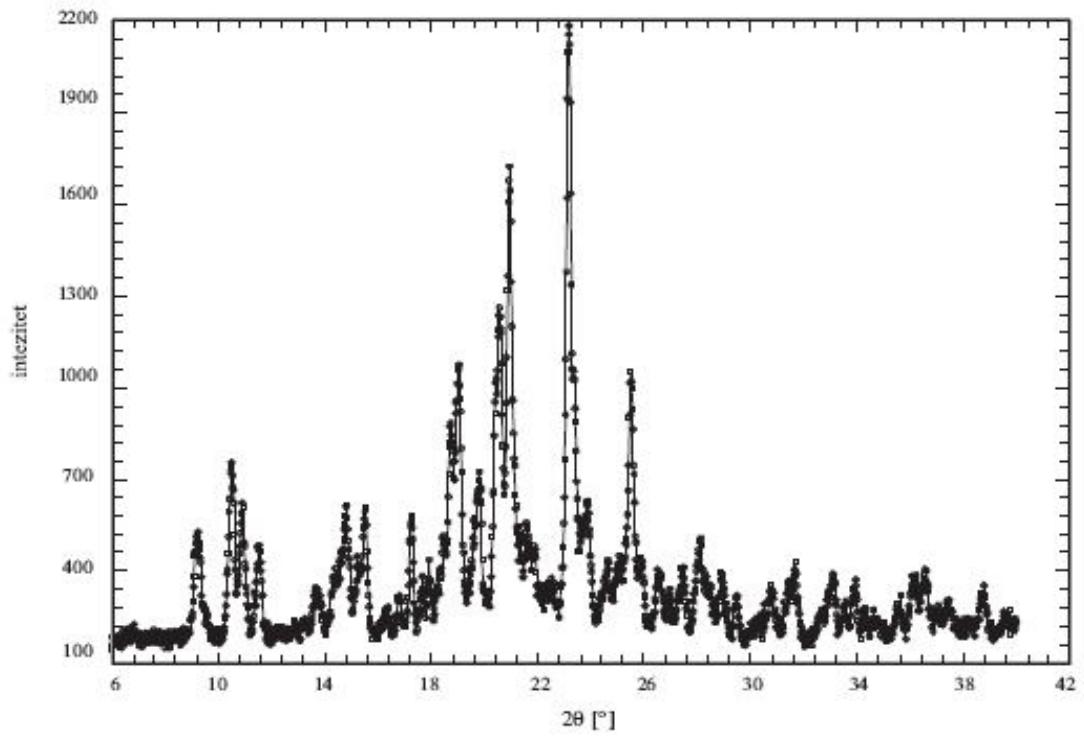
Na slikama 18, 19, 20. i 21. predstavljeni su difraktogrami pojedinačnih uzoraka: prvo polimorfno stanje klopidogrel bisulfata, placebo, prvi uzorak leka (L-3044/P/01) i drugi uzorak leka (L-3044/P/02), respektivno.



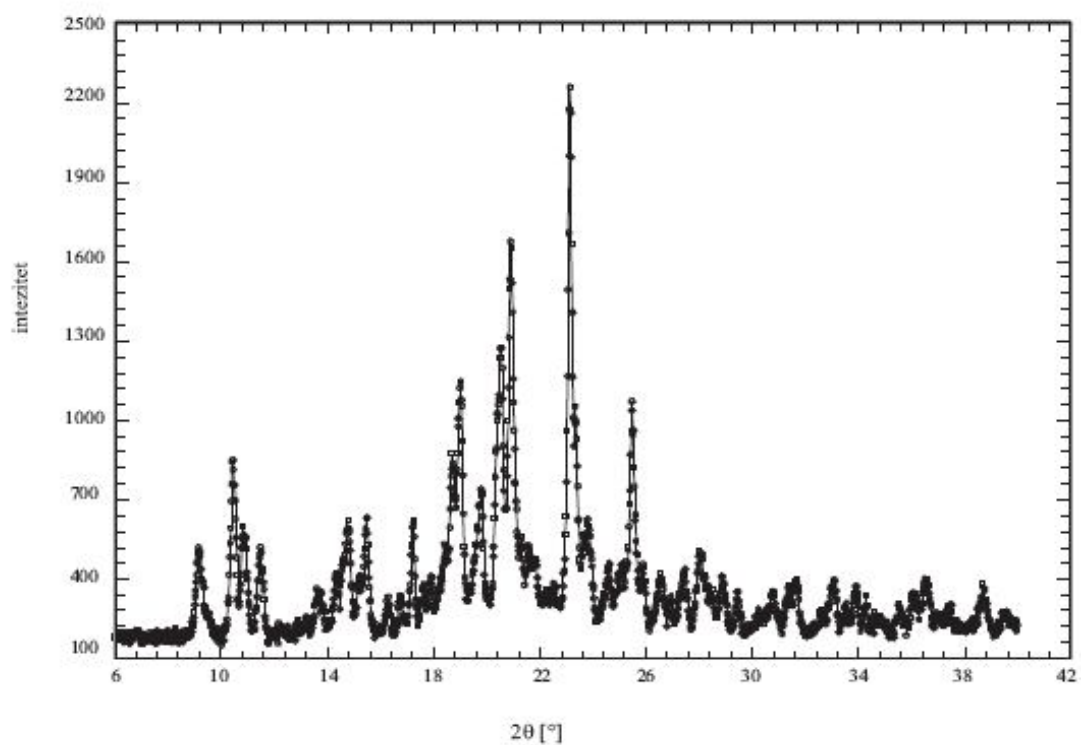
Slika 18. Difraktogram prvog polimorfnog stanja klopidogrel bisulfata



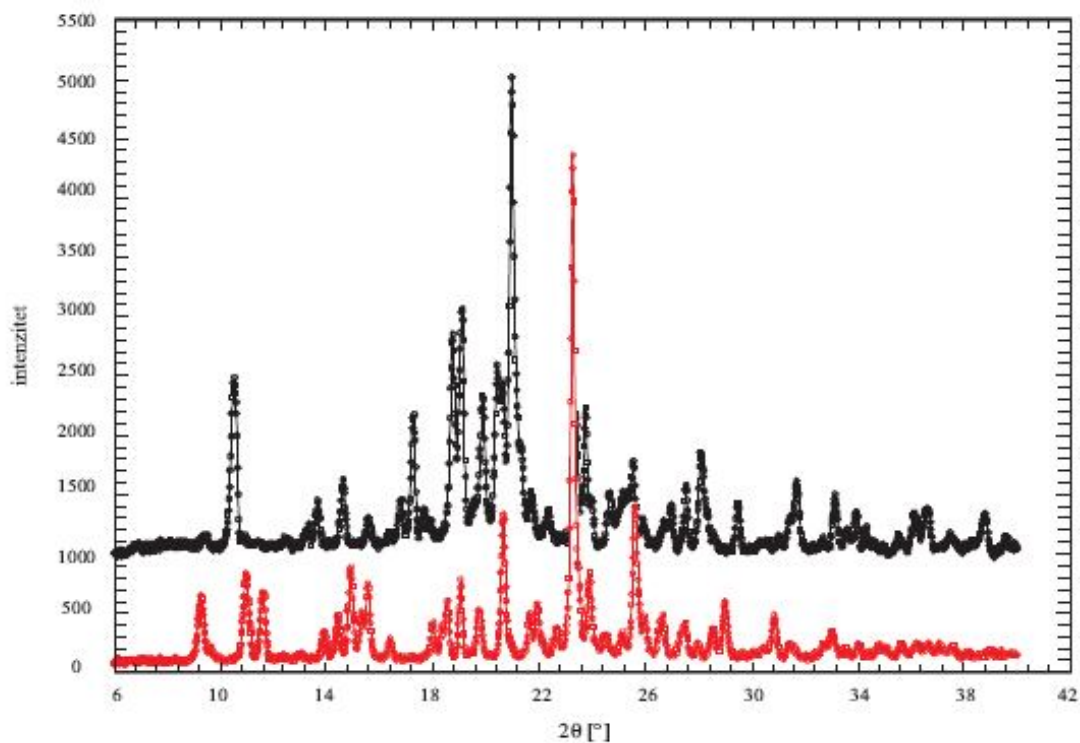
Slika 19. Difraktogram placeba



Slika 20. Difraktogram uzorka L-3044/P/01

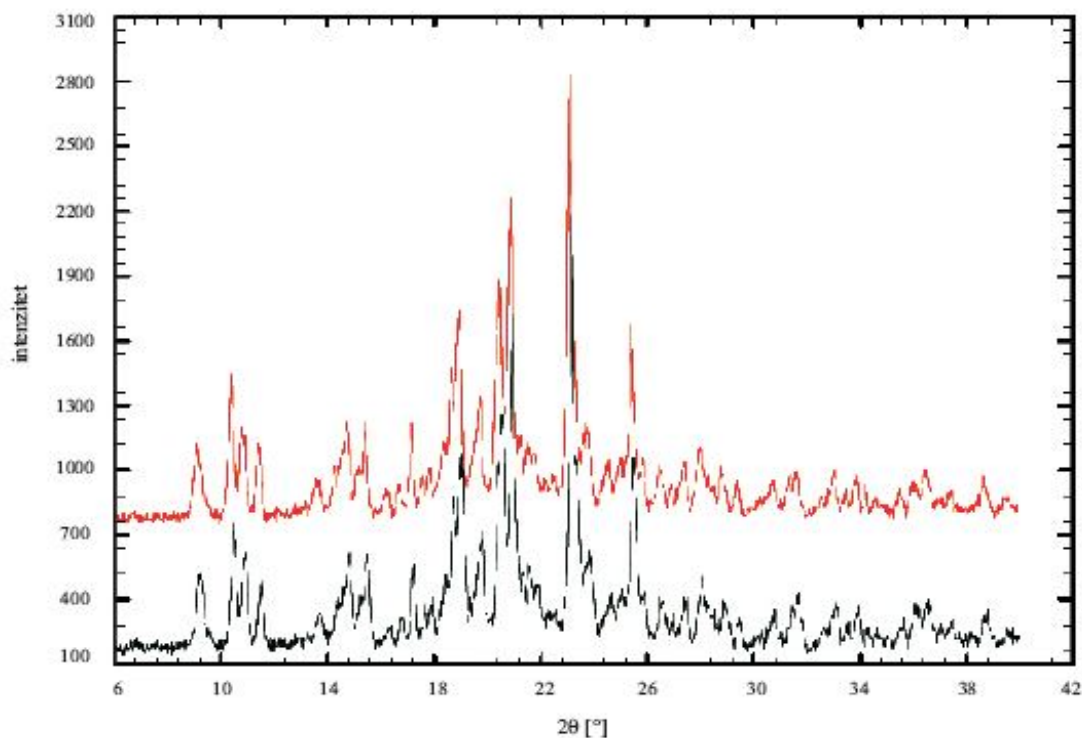


Slika 21. Difraktogram uzorka L-3044/P/02



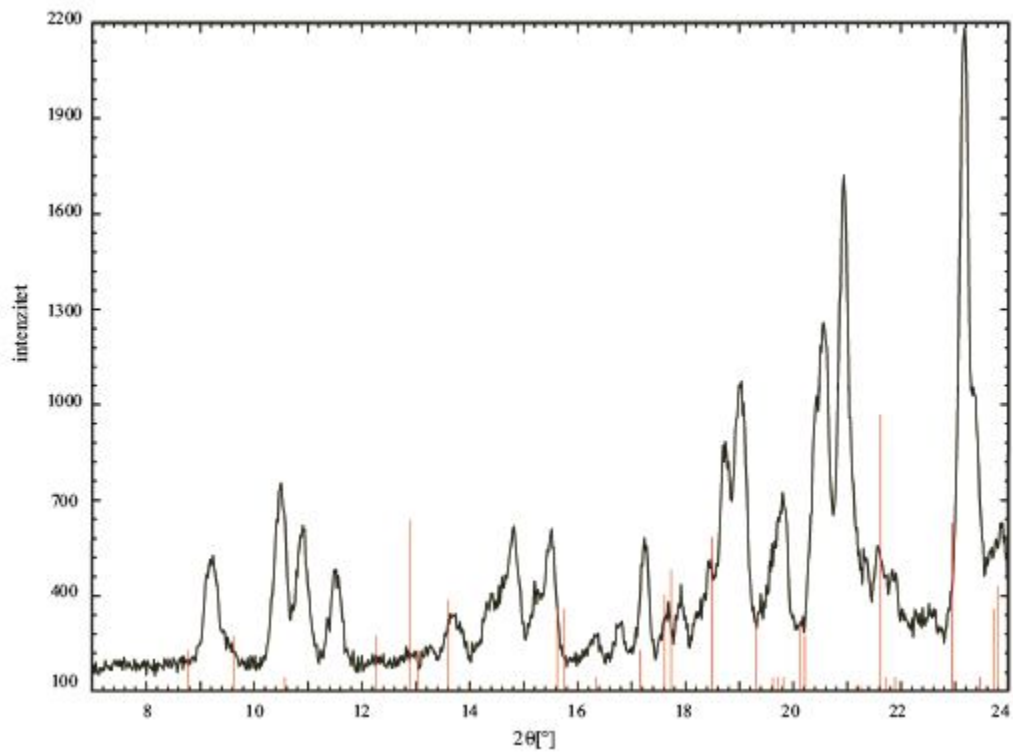
Slika 22. Preklapanje difraktograma uzorka prvog polimorfnog stanja klopidogrel bisulfata i placeba

Na slici 22. predstavljeno je preklapanje uzoraka prvog polimornog stanja klopidogrel bisulfata i placeba. Difraktogram prvog polimorfa predstavljen je crvenom bojom, a difraktogram placeba crnom. Kao što je bilo moguće i pretpostaviti, nema preklapanja značajnih pikova. Sa njihovih pojedinačnih difraktograma (slike 18. i 19.), vidi se da prvo polimorfno stanje klopidogrel bisulfata pokazuje najintenzivniji pik za vrednost ugla 2θ od $23,2^\circ$, dok placebo ima najintenzivniji pik na vrednosti $21,2^\circ$.

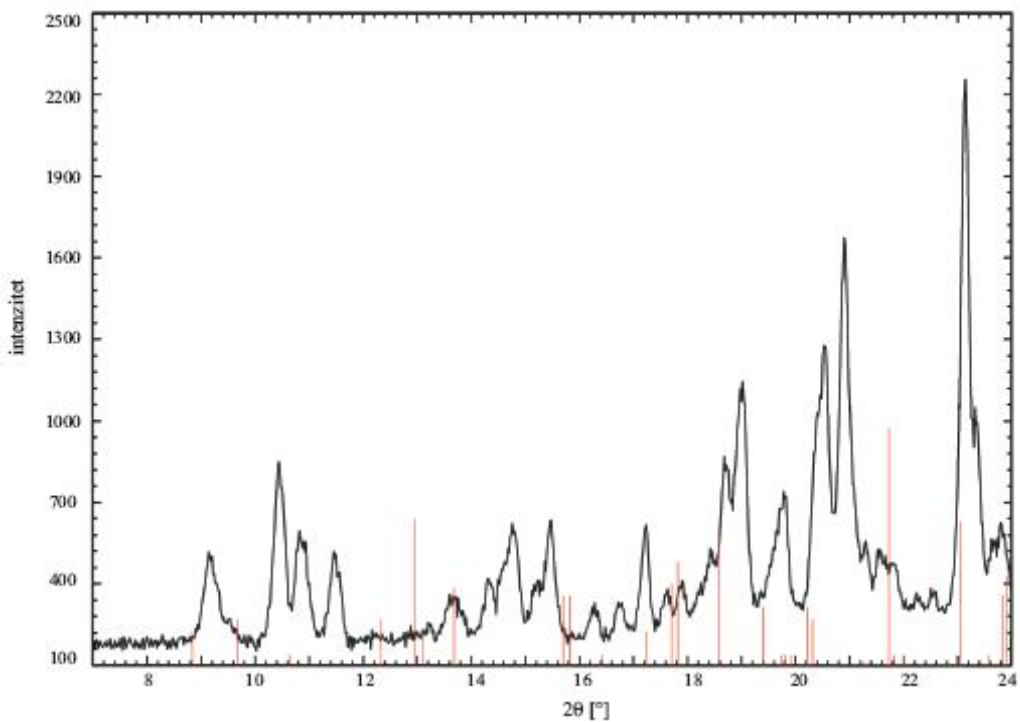


Slika 23. Preklapanje difraktograma uzoraka leka L-3044/P/01 i L-3044/P/02

Na slici 23. predstavljeno je preklapanja dva uzorka leka i to uzorak L-3044/P/01 je predstavljen crnom bojom, a uzorak L-3044/P/02 je predstavljen crvenom bojom. Jasno se uočava da se svi pikovi idealno preklapaju, što ukazuje da ukoliko i jeste došlo do nekih promena tokom čuvanja uzoraka na određenim uslovima, da su oba uzorka pretrpela iste promene.



Slika 24. Preklapanje difraktograma uzorka leka L-3044/P/01 i difraktograma drugog polimornog stanja kolpidogrel bisulfata



Slika 25. Preklapanje difraktograma uzorka leka L-3044/P/02 i difraktograma drugog polimornog stanja klopidogrel bisulfata

Na slikama 24. i 25. predstavljeno je preklapanje od ranije poznatog difraktograma drugog polimornog stanja klopidogrel bisulfata (crvena boja na oba grafika) sa difraktogramom uzorka leka L-3044/P/01 (slika 24.) i sa difraktogramom uzorka leka L-3044/P/02 (slika 25.); difraktogrami oba uzorka leka su predstavljeni crnom bojom. Sa oba grafika se vidi da nakon 12 meseci čuvanja leka na temperaturi od 30°C i relativnoj vlažnosti vazduha od 65% nema pojave drugog polimornog stanja klopidogrel bisulfata. Ni jedan od njegovih značajnih pikova, posebno u uglovnom intervalu 2θ od 12° do 14°, se ne pojavljuje u difraktogramima uzoraka leka. Navedeni uslovi čuvanja ne menjaju fazni sastav materijala. Prag detekcije ove metode je 2%, stoga je neophodno ograničenje da se drugo polimorfno stanje klopidogrel bisulfata ne registruje u uzorcima leka L-3044/P/01 i L-3044/P/02 u procentu većem od 2%.

6. ZAKLJUČAK

Dva od šest polimorfni stanja klopidogrel bisulfata imaju primenu u farmaciji. Drugi polimorf je aktivna supstanca leka Clopigel® čiji je proizvođač i nosilac dozvole za puštanje u promet "Galenika" a.d. "Hemofarm" a.d. sintetisao je lek sa istim indikacijama čija je aktivna supstanca prvi polimorf klopidogrel bisulfata. Difraktometarskom metodom, u Laboratoriji za rendgensku strukturnu analizu Departmana za fiziku u Novom Sadu, u cilju dobijanja neophodne dozvole za puštanje leka u promet, ispitivana je mogućnost prelaska prvog polimorfnog stanja u drugo, odnosno stabilnost aktivne supstance leka nakon 12 meseci čuvanja.

Nakon čuvanja leka na temperaturi od 30°C i relativnoj vlažnosti vazduha od 65% nema pojave drugog polimorfnog oblika klopidogrel bisulfata u uzorcima leka u procentu većem od 2%, koliko je prag detekcije korišćene metode. Pomenuti uslovi čuvanja leka ne menjaju njegov fazni sastav, i ovim je dokazana njegova stabilnost.

Ukoliko su i svi ostali zahtevi predviđeni zakonom o lekovima i medicinskim sredstvima ispunjeni, "Hemofarm" a.d. bi trebalo da dobije dozvolu za stavljanje leka u promet od Agencije za lekove i medicinska sredstva Srbije. Ovim bi farmaceutsko tržište Srbije bilo bogatije za još jedan lek koji redukuje posledice ateroskleroze. Prema izveštaju American Heart Association-a, ateroskleroza je uzročnik čak 75% od ukupnih smrti koje su rezultat kradiovaskularnih oboljenja. U poslednjih deset godina uočen je eksponencijalni rast broja obolelih od ove bolesti u zemljama u razvoju zbog visokog procenta pušača, nedovoljne fizičke aktivnosti i sve većem korišćenju masti u svakodnevnoj ishrani.

7. LITERATURA

- [1] Petrović D. M., Lukić S. R., Eksperimentalna fizika kondenzovane materije, 2000., Univerzitet u Novom Sadu, Novi Sad
- [2] <http://sr.wikipedia.org/sr-el/EXAFS>
- [3] Janić I., Interna skripta – Osnovi atomske fizike I deo, 1992., PMF – Departman za fiziku, Novi Sad
- [4] <http://used-medicequipmentblog.blogspot.com/2011/05/advances-in-ct-scanner-x-ray-tubes.html>
- [5] http://www.iucr.org/__data/assets/pdf_file/0010/721/chap4.pdf
- [6] <http://pd.chem.ucl.ac.uk/pdnn/inst1/optics2.htm>
- [7] http://serc.carleton.edu/research_education/geochemsheets/techniques/XRD.html
- [8] <http://epswww.unm.edu/xrd/xrdclass/01-XRD-Intro.pdf>
- [9] Bernstein Joël, Polymorphism in Molecular Crystals, 2002., Oxford Science Publications
- [10] Hilfiker Rolf, Polymorphism in the Pharmaceutical Industry, 2006., Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Germany
- [11] http://en.wikipedia.org/wiki/Polymorphism_%28materials_science%29
- [12] <http://www.scribd.com/doc/47274512/Elektrotehnicki-materijali>
- [13] Brittain G. Harry, Polymorphism in Pharmaceutical Solids, 2009., Informa Healthcare USA, Inc
- [14] <http://nauka.rs/novi-oblici-ugljenika-sjajni-i-skuplji-od-dijamanta>
- [15] Burger A., Ramberger R., On the Polymorphism of Pharmaceuticals and Other Molecular Crystals I, 1979., Mikrochimica Acta (Wien)
- [16] Dhara K. Rajada, Bhagwat Prasad, Amrit Paudel, Ravi P. Shah, Saranjit Singh, Characterization of degradation products of amorphous and polymorphic forms of clopidogrel bisulphate under solid state stress conditions, 2009., Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 52 (2010) 332–344
- [17] <http://en.wikipedia.org/wiki/Atherosclerosis>
- [18] <http://farmaceuti.com/tekstovi/uncategorized/inhibitori-agregacije-trombocita>
- [19] Grupa autora, Biomaterijali, 2010., Institut tehničkih nauka Srpske akademije nauka i umetnosti
- [20] <http://medicinskicasopis.org/pdf/2011%281%29/sr/Full/Antiagregaciona%20terapija.pdf>
- [21] Vladimir V. Chernyshev, Sergey V. Pirogov, Irina N. Shishkina, Yurii A. Velikodny, Monoclinic form I of clopidogrel hydrogen sulfate from powder diffraction data, 2010., Acta Crystallographica, Section E, Structure Reports ISSN 1600-5368
- [22] Arini Setiawati, The importance of bioequivalence study: focus on clopidogrel, 2011., Med J Indones, Volume 20, Issue 2
- [23] Gandhi Saurabh and Chandrul Kaushal, Pharmaceutical Solid Polymorphism in Abbreviated New Drug Application (ANDA) – A Regulatory Perspective, 2011., Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, Volume 3, Issue 0975-7384

- [24] http://www.galenika.rs/index.php?option=com_content&task=view&id=521&Itemid=155&limit=1&limitstart=0&lang=SRB
- [25] Zakon o lekovima i medicinskim sredstvima, 07. 05. 2010., Službeni glasnik Republike Srbije, 30/2010
- [26] <http://sirius.mtm.kuleuven.be/Research/Equipment/Mechanical/Seifert.html>
- [27] Vishal Koradia, Garima Chawla, Arvind K. Bansal, Qualitative and quantitative analysis of clopidogrel bisulphate polymorphs, 2004., Acta Pharm. 54 (2004.) 193–204
- [28] http://sr.wikipedia.org/Регистрација_лекова

UNIVERZITET U NOVOM SADU
PRIRODNO-MATEMATIČKI FAKULTET

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

Redni broj:

RBR

Identifikacioni broj:

IBR

Tip dokumentacije:

Monografska dokumentacija

TD

Tip zapisa:

Tekstualni štampani materijal

TZ

Vrsta rada:

Diplomski rad

VR

Autor:

Jasmina Čubrilo

AU

Mentor:

Dr Olivera Klisurić

MN

Naslov rada:

Identifikacija polimorfnih oblika klopidogrel bisulfata u praškastim uzorcima

NR

Jezik publikacije:

srpski (latinica)

JP

Jezik izvoda:

srpski/engleski

JI

Zemlja publikovanja:

Srbija

ZP

Uže geografsko područje:

Vojvodina

UGP

Godina:

2011

GO

Izdavač:

Autorski reprint

IZ

Mesto i adresa:

Prirodno-matematički fakultet, Trg Dositeja Obradovića 4, Novi Sad

MA

Fizički opis rada:

(7/36/0/1/13/12/28/0)

FO

Naučna oblast:

Fizika

NO

Naučna disciplina:

Medicinska fizika

ND

Predmetna odrednica/ ključne reči:

Klopidogrel bisulfat, polimorfizam, rendgenska strukturna analiza

PO

UDK

Čuva se:

Biblioteka departmana za fiziku, PMF-a u Novom Sadu

ČU

Važna napomena:

nema

VN

Izvod:

Klopidogrel bisulfat ima 6 polimornih oblika, od kojih su oblici I i II našli svoju primenu u farmaciji i imaju iste indikacije. Polimorfni oblik II je stabilniji od oblika I. Farmaceutska kuća "Hemofarm" a.d. sintetisala je lek čiji je sastav aktivnih supstanci 75 mg prvog polimorfnog oblika klopidogrel bisulfata. Ovaj lek ima iste indikacije kao i Clopigal[®], već patentiran lek, koji sadrži 75 mg drugog polimorfnog oblika klopidogrel bisulfata. U cilju dobijanja dozvole za stavljanje leka u promet, vršena su ispitivanja stabilnost Hemofarmovog leka. Nakon njegovog čuvanja godinu dana pod određenim uslovima, difrakcijom na praškastim uzorcima

IZ

ispitivano je prisustvo polimorfnih oblika klopidogrel bisulfata.

Datum prihvatanja teme od NN veća:

DP

Avgust, 2011.

Datum odbrane:

DO

Avgust, 2011.

Članovi komisije:

KO

Predsednik:

Prof. Dr Srđan Rakić

član:

Doc. Dr Olivera klisurić

član:

Prof. Dr Jelena Cvejić

UNIVERSITY OF NOVI SAD
FACULTY OF SCIENCE AND MATHEMATICS

KEY WORDS DOCUMENTATION

Accession number:

ANO

Identification number:

INO

Document type:

Monograph publication

DT

Type of record:

Textual printed material

TR

Content code:

Final paper

CC

Author:

Jasmina Čubrilo

AU

Mentor/comentor:

PhD Olivera Klisurić

MN

Title:

Identification of Clopidogrel Bisulphate Polymorphism in Active
Pharmaceutical Ingredients and Tablets

TI

Language of text:

Serbian (Latin)

LT

Language of abstract:

English

LA

Country of publication:

Serbia

CP

Locality of publication:

Vojvodina

LP

Publication year:

2011

PY

Publisher:

Author's reprint

PU

Publication place:

Faculty of Science and Mathematics, Trg Dositeja Obradovića 4, Novi Sad

PP

Physical description:

(7/36/0/1/13/12/28/0)

PD

Scientific field:

Physics

SF

Scientific discipline:

Medical Physics

SD

Subject/ Key words:

clopidogrel bisulphate, polymorphism, powder diffraction

SKW

UC

Holding data:

Library of Department of Physics, Trg Dositeja Obradovića 4

HD

Note:

none

N

Abstract:

AB

Six different polymorphic forms of clopidogrel bisulphate have been identified, but only forms I and II are used in pharmaceutical formulations, and both of these forms have the same indications. Form II is more stable than form I. Pharmaceutical company "Hemofarm" a.d. has synthesized a new drug that contains form I as API (active pharmaceutical ingredient). Form II is API in Clopigel[®], the drug that is already available in the market. In order to get necessary license from "Medicines and Medical Devices Agency of Serbia", stability of the new drug needed to be tested. After maintaining samples for one year under defined conditions, using

XRPD they were analyzed in order to determine the presence of polymorphic forms of clopidogrel bisulphate.

Accepted by the Scientific Board:

August, 2011.

ASB

Defended on:

August, 2011.

DE

Thesis defend board:

DB

President:

Prof. Dr Srđan Rakić

Member:

Doc. Dr Olivera Klisurić

Member:

Prof. Dr Jelena Cvejić

Biografija



Jasmina Čubrilo rođena je 04. 10. 1983. godine u Kikindi. Osnovnu školu "Vuk Karadžić" završava u svom rodnom mestu i uporedo sa njom završava i nižu muzičku školu "Slobodan Malbaški". Godine 1998. nagrađena je Oktobarskom nagradom, i iste godine upisuje gimnaziju "Dušan Vasiljev" (prirodno - matematički smer) u Kikindi. Nakon završene gimnazije, 2002. godine upisuje se na studije fizike na Departmanu za fiziku Prirodno – matematičkog fakulteta u Novom Sadu, smer medicinska fizika.