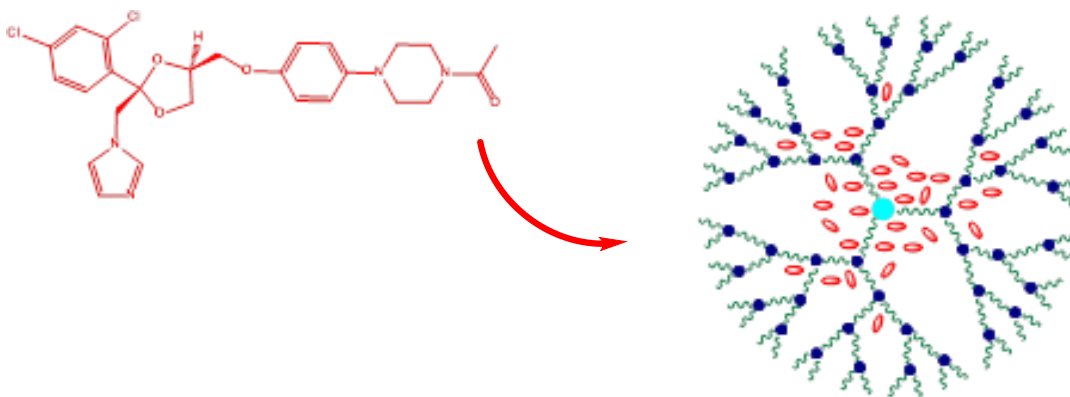


KETOCONAZOL: DE LA FUNDAMENTE LA FORMULĂRI ANTIFUNGICE NOI PE BAZĂ DE DENDRIMERI PAMAM CU BIODISPONIBILITATE ÎMBUNĂTĂȚITĂ

(KET-IN-PAMAM)

Nr. Contract TE122/2022



KTZ-PAMAM-G5-NH₂
complex supramolecular

Scopul proiectului constă în consolidarea unei tinere echipe de cercetare, multidisciplinare, capabilă să promoveze noi forme solide/formulări ale compusului farmaceutic antifungic **Ketoconazol (KTZ)**, cu solubilitate și biodisponibilitatea îmbunătățite. Echipa de cercetare a proiectului este formată din cinci tineri cercetători (lider proiect - inginer chimist, 2 chimiști, 1 biotehnolog, 2 dermatologi) și 1 post-doctorand (fizician). Obținerea de noi forme solide/formulări ale KTZ poate constitui baza unui produs mai bun, cu scopul de a maximiza eficiența terapeutică a medicamentului.

Infecțiile micotice reprezintă o problemă medicală mondială datorită: (i) frecvenței în creștere, (ii) dezvoltării rezistenței diferitelor tulpini patogene la produsele antifungice comerciale, (iii) necesității unui tratament de lungă durată în cazul infecțiilor profunde sau infectării fanerelor (păr și unghii), care cauzează (iv) acumulare și ca urmare, toxicitate la nivel hepatic.

KTZ este primul antifungic cu spectru larg aprobat de FDA utilizat în tratamentul micozelor superficiale și sistemice, aparținând clasei II (BCS), cu solubilitate apoasă redusă și permeabilitate ridicată, hidrofobicitate pronunțată și bazicitate slabă. Biodisponibilitatea scăzută la $pH > 3$ reprezintă dezavantajul major al eficacității sale în cazul administrării orale, fiind eliminat din tractul gastrointestinal înainte de a fi complet dizolvat, reducând-i absorbția în circulația sanguină. Creșterea biodisponibilității are ca efect utilizarea unei concentrații mai mici de substanță activă pentru obținerea efectului terapeutic dorit, reducând în același timp și hepatotoxicitatea manifestată în urma tratamentului de lungă durată.

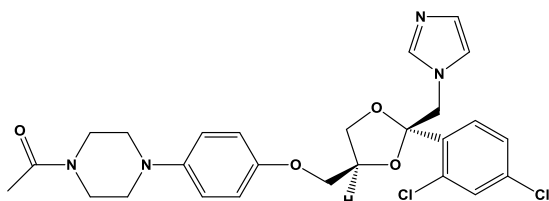
Echipa de cercetare va evalua potențialul de piață pentru formele solide de tip co-cristal, deja obținute, KTZ cu Acid Adipic (**KTZ-AA**) și cu Acid Sorbic (**KTZ-SA**), cu solubilitatea îmbunătățită de 100, respectiv de 40 de ori vs. KTZ comercial și de-asemenea, pentru complexul supramolecular dintre KTZ și dendrimerul PAMAM, drept compuși farmaceutici activi în produse optimizate destinate administrării orale/topice. Pentru formele de tip co-cristal informațiile preliminare de preformulare se vor completa cu studii/evaluări specifice: compatibilitate cu excipienți farmaceutici, teste *in vitro* și *in vivo* de biocompatibilitate, respectiv protocol pentru procesul de co-cristalizare la scală de laborator de ordinul gramelor, esențial pentru transferul tehnologic privind dezvoltarea unui proces industrial de co-cristalizare de succes.

Obiectivele Specifice:

- (I) Obținerea și caracterizarea complexului supramolecular de tip sistem transportor KTZ-PAMAM pentru uz topic.
- (II) Optimizarea formelor solide de co-cristal de KTZ cu Acidul Adipic și Acidul Sorbic prin studii de preformulare, activitate antifungică și studii de biocompatibilitate, în vederea administrării orale.

Toate **Activitățile de Cercetare** propuse în cadrul proiectului, asociate acestor Obiective Specifice au fost finalizate cu succes, gradul de îndeplinire al acestora fiind de 100%.

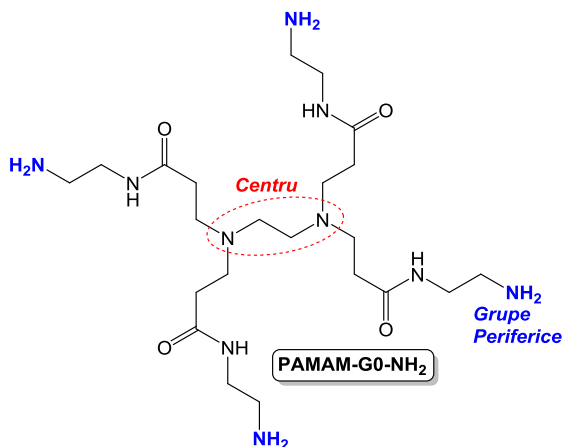
În vederea îmbunătățirii solubilității, implicit a biodisponibilității substanței active antifungce Ketoconazol (KTZ) am dezvoltat un produs de tip medicament-transportor, pe bază de dendrimer PAMAM de generație G5, cu grupări periferice de tip amino, **KTZ-PAMAM-G5-NH₂**. Încapsularea KTZ în dendrimerul PAMAM se bazează pe interacțiuni de tip non-covalent, electrostatice și legături de hidrogen. Sistemul drug-delivery obținut este de tip **complex supramolecular**, cu structură amorfă, iar dendrimerul PAMAM-NH₂ de generație superioară G5 permite încapsularea în cavitățile sale, respectiv transportul, unei cantități mai mari de substanță farmaceutic activă KTZ.



Ketoconazol (KTZ)

$C_{26}H_{28}Cl_2N_4O_4$

Masa Moleculară: 531.43 g/mol



PAMAM-G5-NH₂

128 grupe periferice NH₂

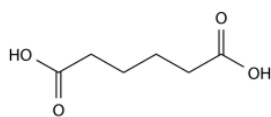
$C_{1264}H_{2532}N_{506}$

Masa moleculară: 28824.81 g/mol

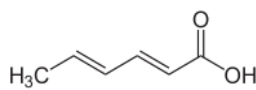
Formularea **KTZ-PAMAM-G5-NH₂** a fost complet caracterizată fizico-chimic prin analize specifice formelor solide: difracție de raze X pe pulberi, comportament termic prin DSC, metode spectroscopice FTIR și RMN pe lichide, respectiv puritatea prin HPLC. Solubilitatea în soluție apoasă a fost studiată optic prin nefelometrie, determinând astfel concentrația de KTZ din complex vs. concentrația de KTZ comercial corespunzătoare procesului de precipitare în apă. Stabilitatea în timp în stare solidă a complexului a fost evaluată prin expunerea la condiții ambiente și temperatură scăzută (4°C), testul indicând stabilitatea formei. Eliberarea *in vitro* investigată prin metoda dializei a KTZ încapsulat în dendrimerul PAMAM-G5-NH₂, în apă bidistilată, a indicat un proces lent, controlat și stabilitatea complexului în soluție. Lipsa toxicității pe culturi de fibroblaști umani arată că formularea este bine tolerată de celulele cutanate umane, făcând posibilă

utilizarea acestora în condiții de siguranță. Testul epicutanat de sensibilizare auriculară pe model animal (MEST-mouse ear sensitization test) a indicat lipsa apariției sensibilității cutanate de tip alergic. Produsul obținut **KTZ-PAMAM-G5-NH₂** este indicat astfel pentru **administrare topică** putând fi utilizat pentru terapia locală a micozei cutanate.

Formele cristaline de tip co-cristal **Ketoconazol-Acid Sorbic (KTZ-SA)**, respectiv **Ketoconazol-Acid Adipic (KTZ-AA)**, identificate anterior proiectului cu proprietăți fizico-chimice îmbunătățite vs. substanța activă KTZ pură, au fost evaluate pentru potențialul lor drept **produse antifungice pentru administrare pe cale orală**.



Acid Adipic (AA)



Acid Sorbic (SA)

În etapa de preformulare, s-a evaluat: i) compatibilitatea cu excipienți farmaceutici, ii) zona de cristalizare metastabilă, deosebit de importantă pentru iii) scalarea procesului de cocristalizare la scală mare de laborator de ordinul gramelor. Această etapă furnizează indicații referitoare la cât de robust este procesul de cocristalizare și care sunt șansele transferului la scală industrială (ordinul kilogramelor). Biocompatibilitatea formulărilor de co-cristal a fost investigată *in vitro* pe culturi de fibroblaști dermici umani, dovedind toleranța acestora pe celulele cutanate umane. Etapa de testare a biocompatibilității *in vivo* pe model animal este de asemenea esențială în vederea aprecierii toxicității generale acute în cazul administrării orale. Testele de toxicitate acută, efectuate pe șobolani Wistar, au arătat lipsa toxicității hepatice și generale atât biochimice, cât și histologice, comparativ cu KTZ pur, indicând astfel o biocompatibilitate îmbunătățită în cazul ambelor produse de co-cristal. O creștere a biodisponibilității KTZ are ca rezultat utilizarea unei concentrații mai mici de substanță activă pentru obținerea efectului terapeutic dorit, reducând în același timp și hepatotoxicitatea manifestată cauzată în special de tratamentul de lungă durată în cazul infecțiilor profunde.

Director Proiect,
Dr. Ing. Martin Flavia-Adina

