



(12) **CERERE DE BREVET DE INVENȚIE**

(21) Nr. cerere: **a 2021 00408**

(22) Data de depozit: **15/07/2021**

(41) Data publicării cererii:
28/01/2022 BOPI nr. **1/2022**

(71) Solicitant:
• **INSTITUTUL NAȚIONAL DE
CERCETARE-DEZVOLTARE PENTRU
TEHNOLOGII IZOTOPICE ȘI
MOLECULARE, STR.DONAT NR.67-103,
CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;**
• **TERACRYSTAL S.R.L., STR. PARÂNG,
NR. 10, BL.H5, AP.7, CLUJ-NAPOCA, CJ,
RO**

(72) Inventatori:
• **MARTIN FLAVIA ADINA, STR.LACULUI,
NR.18, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;**
• **KACSO IRINA ELISABETA,
STR.EROILOR, NR.170/7, FLOREȘTI, CJ,
RO;**
• **FILIP XENIA CLAUDIA, STR.FÂNTÂNELE,
BL.LAMĂ E, AP.88, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;**
• **GROSU IOANA GEORGETA,
STR.NAPOCA, NR.3/16, CLUJ-NAPOCA,
CJ, RO;**
• **POP MIHAELA-MARIA,
STR.LE TOURMALET, NR. 14,
AMSTERDAM, NL**

(54) **COCRISTAL KETOCONAZOL- ACID ADIPIC 1:1
CU SOLUBILITATE CRESCUTĂ PENTRU ADMINISTRARE
ORALĂ**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un procedeu de obținere a unei forme solide de tip cocrystal a substanței farmaceutice active cu acțiune antifungică, Ketoconazol cu coformerul Acid Adipic (Ket-AcAcid) cu solubilitate mărită pentru administrare orală. Procedeu, conform invenției, constă în etapele: dizolvarea compusului activ farmaceutic și coformerului în amestec apă:etanol (6:4 v/v), încălzirea suspensiei până la dizolvarea completă, răcirea soluției lent cu menținere la temperatura de 4°C

până la precipitare, filtrarea precipitatului și uscarea la temperatura camerei. În final rezultă o formă cristalină solidă de Ket-AcAcid în raport stoechiometric 1:1, cu solubilitate apoasă de 0,15 mg/ml, mărită de 10 ori față de Ketoconazolul din formulările farmaceutice comercializate.

Revendicări: 3
Figuri: 4



OFICIUL DE STAT PENTRU INVENȚII ȘI MĂRCI
Cerere de brevet de invenție
Nr. a 2021 00408
Data depozit 15 -07- 2021

33

Titlu

**COCRISTAL KETOCONAZOL - ACID ADIPIC 1:1 CU SOLUBILITATE
CRESCUTĂ PENTRU ADMINISTRARE ORALĂ**

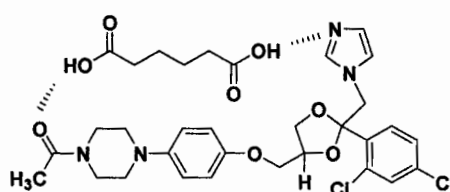
Descrierea invenției

Prezenta invenție se referă la o nouă formă solidă, de tip cocrystal, a substanței farmaceutic active antifungice Ketoconazol cu coformerul Acidul Adipic și la procedeul de preparare a acesteia. Ketoconazolul sub formă de cocrystal, Ketoconazol - Acid Adipic, KET-AcAd, în raport stoechiometric 1:1, prezintă solubilitate mărită comparativ cu Ketoconazolul din formulările farmaceutice comercializate. Ca urmare, noua formă solidă duce la creșterea biodisponibilității Ketoconazolului, proprietate fundamentală pentru stabilirea dozelor de tratament administrate pe cale orală. În funcție de producător, Ketoconazolul este comercializat sub diferite nume: Nizoral, Ketozole, Ketoderm, Fungoral etc. Acidul Adipic, sau acidul hexandioic, este un aditiv alimentar (E 355), aparținând celei de-a treia clase de siguranță. Este un compus cu proprietăți antiseptice și cu rol de stabilizator, regulator de aciditate, agent de întărire și aromatizant în produsele alimentare. În industria farmaceutică, Acidul Adipic este acceptat ca și coformer, în dezvoltarea de forme solide ale substanțelor farmaceutic active.

Ketoconazolul (cis-1-acetil-4-[4-[[2-(2,4-diclorofenil)-2-(1-H-imidazol-1-il-metil)-1,3-dioxolan-4-il]metoxi]fenil]piperazina) este primul antifungic cu spectru larg aprobat de FDA (U.S. Food and Drug Administration), fiind utilizat în tratamentul micozelor superficiale și sistemice. [1,2] Conform BCS (Biopharmaceutics Classification System) face parte din clasa a II-a, având solubilitate redusă în mediu apos și permeabilitate ridicată [3] hidrofobicitate pronunțată și bazicitate slabă. [4] Solubilitatea, respectiv biodisponibilitatea scăzută la valori de pH > 3 reprezintă dezavantajul major al eficacității sale în cazul administrării orale. O creștere a biodisponibilității Ketoconazolului are ca rezultat utilizarea unei concentrații mai mici de substanță activă pentru obținerea efectului terapeutic dorit, reducând în același timp și hepatotoxicitatea manifestată. [5] Ketoconazolul a fost inițial descris în U.S. Pat. No. 4,335,125 (Heeres *et al.*, 1982) ca fiind un compus cu acțiune antifungică,

iar în U.S. Pat. No. 4,569,935 (Rosenberg *et al.*, 1986) este menționat pentru tratamentul topic împotriva dermatitei seboreice și psoriazisului. În literatura de specialitate sunt specificate două forme cristaline anhidre ale Ketoconazolului (codul ETEXAC [6] și KCONAZ [7] în Cambridge Structural Database, CSD), respectiv complecși cu Ru(II) (codul ODIVAA [8] în CSD). În vederea îmbunătățirii biodisponibilității Ketoconazolului au fost dezvoltate metode sau formulări, cum ar fi complexarea cu ciclodextrine, dispersii solide, nanosuspensii etc. [9] De asemenea, sunt raportate studii de inginerie cristalină orientate spre obținerea de noi forme solide ale Ketoconazolului, care permit modularea proprietăților sale fără a afecta natura farmacologică: cocristale cu acizi dicarboxilici (codurile conform CSD sunt: YINVUO, YINWAV, YINWEZ, YINWID) [10], cu acidul 4-aminobenzoic [11] și cu acizi fenolici. [12]

Scopul principal al invenției îl reprezintă obținerea formei noi de cocrystal între substanța farmaceutic activă antifungică Ketoconazol și coformerul Acidul Adipic (KET-AcAd) în raport stoechiometric 1:1, care prezintă proprietăți fizico-chimice, respectiv solubilitate, biodisponibilitate îmbunătățite față de substanța activă Ketoconazol din produsele farmaceutice comerciale. Prin procedeul conform invenției această formă cristalină se obține prin metoda de cristalizare în soluție prin răcire și evaporare, o metodă simplă și reproductibilă la scală mare de laborator. Mai jos este prezentată structura cocrystalului KET-AcAd.



Ketoconazol-Acid Adipic 1:1



Structura cocrystalului KET-AcAd

Forma nouă cristalină, cocrystalul KET-AcAd obținută conform prezentei invenții prezintă două avantaje principale, comparativ cu formele cristaline raportate în literatura de specialitate, și anume: (i) metoda de cristalizare economică în care se utilizează un amestec de solvenți eco-friendly de apă:etanol (6:4 v/v) (ii) metoda de

cristalizare ușor de reprodus pentru obținerea compusului la scală mare, de ordinul sutelor de grame.

Explicarea pe scurt a schemelor și figurilor:

Schema 1: Prepararea cocrystalului KET-AcAd aplicând metoda de cristalizare prin răcire și evaporare dintre Ketoconazol cu Acid Adipic.

Figura 1: Difractogramele obținute prin difracția de raze X pe pulberi (DRXP) ale cocrystalului KET-AcAd, respectiv ale compușilor comerciali Ketoconazol și Acid Adipic. Pentru a identifica forma solidă nouă KET-AcAd am utilizat tehnica de difracție DRXP. În difractograma cocrystalului KET-AcAd se observă prezența unor linii de difracție bine definite, ceea ce indică un grad crescut de cristalinitate al materialului. Prin compararea pozițiilor liniilor de difracție caracteristice formei KET-AcAd cu cele ale compușilor Ketoconazol și Acid Adipic se observă apariția și dispariția unor linii de difracție, precum și deplasări ale acestora, confirmând obținerea cocrystalului. Noua formă cristalină se caracterizează prin maximele de difracție: 6.2 ± 0.2 , 8.6 ± 0.2 , 11.6 ± 0.2 , 12.2 ± 0.2 , 12.3 ± 0.2 , 12.4 ± 0.2 , 12.5 ± 0.2 , 12.9 ± 0.2 , 14.6 ± 0.2 , 16.3 ± 0.2 , 17.3 ± 0.2 , 17.6 ± 0.2 , 18.7 ± 0.2 , 20.4 ± 0.2 , 23.3 ± 0.2 , 24.1 ± 0.2 , 24.5 ± 0.2 , 24.8 ± 0.2 , 27.0 ± 0.2 .

Figura 2: Spectrele FTIR pe domeniile spectrale: (a) 3500-2500 și (b) 1800-1300 ale Ketoconazolului, Acidului Adipic respectiv ale cocrystalului KET-AcAd. Pentru a demonstra formarea cocrystalului KET-AcAd am utilizat spectroscopia FTIR. În spectrul FTIR al cocrystalului se constată modificări ale benzilor de vibrație caracteristice compușilor de start, respectiv lărgirea ușoară și deplasarea benzilor de vibrație. Comparativ cu spectrul FTIR al Ketoconazolului se observă: vibrația de întindere a grupării C=O carbonilice de la 1726 și 1646 cm^{-1} se deplasează la 1717 cm^{-1} și 1643 cm^{-1} ; vibrația de întindere a grupării C=N din inelul imidazolic care se regăsește la 1646 cm^{-1} se deplasează la 1643 cm^{-1} ; vibrația de deformare a grupării C=N de la 1052 cm^{-1} se deplasează la 1048 cm^{-1} . Comparativ cu spectrul FTIR al Acidului Adipic pur se identifică modificările: benzile de absorbție caracteristice grupării C=O carboxilice de la 2962 cm^{-1} și 2952 cm^{-1} se deplasează la 2947 cm^{-1} iar de la 1694 cm^{-1} se lărgeste, scade în intensitate și se deplasează la 1716 cm^{-1} . Aceste deplasări ale benzilor de vibrație se datorează interacțiunilor de tip legături

de hidrogen dintre gruparea C=O, respectiv C=N imidazolică ale Ketoconazolului și grupările COOH ale Acidului Adipic.

Figura 3: Curbele DSC ale Ketoconazolului, Acidului Adipic și cocrystalului KET-AcAd. Comportamentul termic al cocrystalului KET-AcAd în intervalul de temperatura 20-300 °C este ilustrat de curba DSC. În intervalul de temperatură analizat apare un semnal endoterm de topire între 125-140 °C cu $T_{on} = 130.4$ °C, $T_{peak} = 135.0$ °C și $\Delta H = -93,31$ J/g. După topire cocrystalul prezintă stabilitate termică până la 150 °C apoi are loc procesul de descompunere.

Figura 4: Curbele de dizolvare ale Ketoconazolului și a cocrystalului KET-AcAd în apă deionizată, la temperatura camerei. Evoluția procesului de dizolvare în timp în sisteme apoase este un indicativ al modului în care o formă solidă este absorbită în organism (de exemplu în stomac sau în sistemul intestinal). Testul de dizolvare s-a efectuat prin spectrofotometrie UV-Vis și a constat în următorii pași: i) în experimentul de calibrare s-a utilizat o soluție stock de concentrație pre-definită de 0.138 mg/ml KET-AcAd, s-a evaluat intensitatea absorbției în UV și s-a stabilit lungimea de undă în vederea construirii curbei de calibrare la 300 nm; ii) experimentele de dizolvare sunt efectuate pentru concentrații care să cuprindă domenii cât mai apropiate de concentrația de saturație (care să reprezinte solubilitatea compusului în mediul apos). Solubilitatea maximă a cocrystalului a atins o valoare de 0.15 mg/mL, fiind astfel îmbunătățită cu de aproximativ 10 ori față de solubilitatea Ketoconazolului în apă raportată în literatura de specialitate (0.017 mg/mL, Choi, J. Y.; Park, C. H.; Lee, J. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 2008, 34(11), 1209–1218). La finalul experimentului de disoluție proba de KET-AcAd nedizolvată a fost filtrată pe hartie de filtru, uscată la temperatura camerei și analizată prin difracție DRXP, confirmând stabilitatea în mediu apos a formei solide.

Se prezintă în continuare un exemplu concret de preparare a formei solide de tip cocrystal dintre Ketoconazol și Acidul Adipic în raport molar 1:1.

Procedeu 1 scală mică

Se cântăresc 15 mg Ketoconazol și 4.2 mg Acid Adipic (raport molar 1:1) peste care se adaugă 0.5 mL amestec de solventi apă:etanol (6:4 v/v). Suspensia obținută se agită magnetic la temperatura camerei timp de 10 minute apoi se încălzește treptat până la temperatura de 53 °C. Se obține o soluție transparentă care se răcește lent

până la temperatura camerei apoi se depozitează la frigider la 4 °C. După 24 ore se observă apariția unui precipitat alb, care se filtrează pe hârtie de filtru și se usucă la temperatura camerei, obținându-se o pudră albă. În urma analizelor efectuate a rezultat forma solidă de cocrystal KET-AcAd.

Procedeu 2 scală mare

Se cântăresc 200 mg Ketoconazol și 55 mg Acid Adipic (raport molar 1:1) peste care se adaugă treptat 10 mL amestec de apă:etanol (6:4 v/v). Suspensia obținută se agită magnetic timp de 30 minute la temperatura camerei apoi se încălzește treptat până la temperatura de 58 °C. Se obține o soluție transparentă care se răcește lent până la temperatura de 12 °C și apoi se depozitează la frigider la 4 °C. După 24 ore se observă apariția unui precipitat alb, care se filtrează pe hârtie de filtru și se usucă la temperatura camerei, obținându-se o pudră albă. În urma analizelor efectuate a rezultat forma solidă de cocrystal KET-AcAd.

Referințe bibliografice:

- [1] De Igado, J. N.; Gisvold, O.; Remers. W. A. Wilson and Gisvold's Textbook of Organic Medical and Pharmaceutical Chemistry, Lippincott Williams & Wilkins: New York, 1998
- [2] Odds, F. C.; Milne, L. J. R.; Gentles, J. C.; Ball, E. H. J. Antimicrob. Chemother. 1980, 6 (1), 97–104
- [3] G.L.Amidon, H.Lennernas, V.P.Shah, J.R. Crison, J. R., Pharm. Res. 12, 413–420, 1995
- [4] Elder, E. J.; Evans, J. C.; Scherzer, B. D.; Hitt, J. E.; Kupperblatt, G. B.; Saghir, S. A.; Markham, D. A. Drug Dev. Ind. Pharm. 2007, 33(7), 755–765].
- [5] Levine, H. B. Ketoconazole in the Management of Fungal Disease; Adis Press: New York, 1982,
- [6] O.M.Peeters, N.M.Blaton, J.G.Gerber, J.Gal (2004) Acta Crystallogr.,Sect.E: Struct.Rep.Online ,60,o367
- [7] O.M.Peeters, N.M.Blaton, C.J.De Ranter (1979) Acta Crystallogr.,Sect.B: Struct.Crystallogr.Cryst.Chem. ,35,2461
- [8] Eva Iniguez, A.Sanchez, M.A.Vasquez, A.Martinez, J.Olivas, A.Sattler, R.A.Sanchez-Delgado, R.A.Maldonado (2013) J.Biol.Inorg.Chem.(JBIC) ,18,779
- [9] Aggarwal, A. K.; Jain, S. Chem. Pharm. Bull. 2011, 59 (5), 629–638, Balata, G.; Mahdi, M.; Bakera, R. A. Asian J. Pharm. Sci. 2010, 5(1), 1–12

[10] Martin, F.A., Pop, M.M., Borodi, G., Filip, X., Kacso, I., Cryst. Growth Des. 2013, 13, 4295–4304

[11] Flavia Martin, Mihaela Pop, Irina Kacso, Ioana Georgeta Grosu, Maria Miclăuș, Dan Vodnar, Ildiko Lung, Gabriela Adriana Filip, Elena Diana Olteanu, Remus Moldovan, Andras Nagy, Xenia Filip, Ioana Bâldea, Mol. Pharmaceutics 2020, 17, 3, 919–932

[12] Xin Chen, Duanxiu Li, Zongwu Deng, Hailu Zhang, Cryst.GrowthDes. 2020, 20, 6973–6982

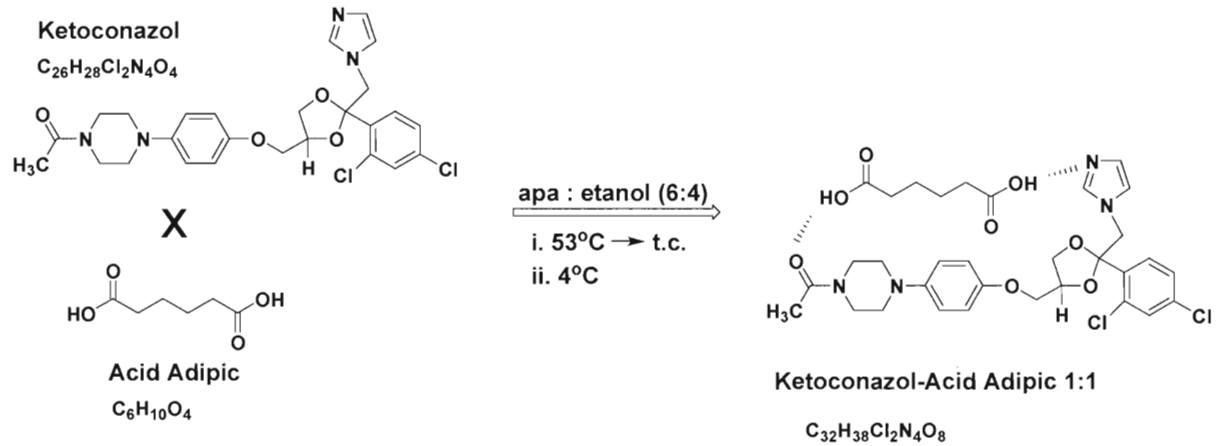
REVEDICĂRI

COCRISTAL KETOCONAZOL - ACID ADIPIC 1:1 CU SOLUBILITATE CRESCUTĂ
PENTRU ADMINISTRARE ORALĂ

1. Formă cristalină solidă de tip cocrystal dintre Ketoconazol și Acidul Adipic, în raport stoechiometric 1:1 cu solubilitate apoasă de 0.15 mg/mL mărită de 10 ori față de Ketoconazol, cu următoarele peak-uri de difracție de raze X: 6.2 ± 0.2 , 8.6 ± 0.2 , 11.6 ± 0.2 , 12.2 ± 0.2 , 12.3 ± 0.2 , 12.4 ± 0.2 , 12.5 ± 0.2 , 12.9 ± 0.2 , 14.6 ± 0.2 , 16.3 ± 0.2 , 17.3 ± 0.2 , 17.6 ± 0.2 , 18.7 ± 0.2 , 20.4 ± 0.2 , 23.3 ± 0.2 , 24.1 ± 0.2 , 24.5 ± 0.2 , 24.8 ± 0.2 , 27.0 ± 0.2 .
2. Procedeu de preparare a cocrystalului conform revendicării 1 la scala mică în cantitate cuprinsă între 20-90 mg, **caracterizat prin aceea că:**
 - a) se dizolvă compusul activ farmaceutic și coformerul în amestec apă:etanol (6:4 v/v), acceptabil farmaceutic;
 - b) suspensia obținută la a) se încălzește treptat până la dizolvare completă;
 - c) soluția obținută la b) se răcește lent și se menține la rece ($4\text{ }^{\circ}\text{C}$) până la precipitare;
 - d) precipitatul se filtrează pe hârtie de filtru și se usucă la temperatura camerei.
3. Procedeu de preparare a cocrystalului conform revendicării 1 la scala mare în cantitate cuprinsă între 100-500 mg, **caracterizat prin aceea că:**
 - a) se dizolvă compusul activ farmaceutic și coformerul în amestec apă:etanol (6:4 v/v), acceptabil farmaceutic;
 - b) suspensia obținută la a) se încălzește treptat până la dizolvare completă;
 - c) soluția obținută la b) se răcește lent și se menține la rece ($4\text{ }^{\circ}\text{C}$) până la precipitare;
 - d) precipitatul se filtrează pe hârtie de filtru și se usucă la temperatura camerei.

**COCRISTAL KETOCONAZOL - ACID ADIPIC 1:1 CU SOLUBILITATE
CRESCUTĂ PENTRU ADMINISTRARE ORALĂ**

DESENE



Schema 1

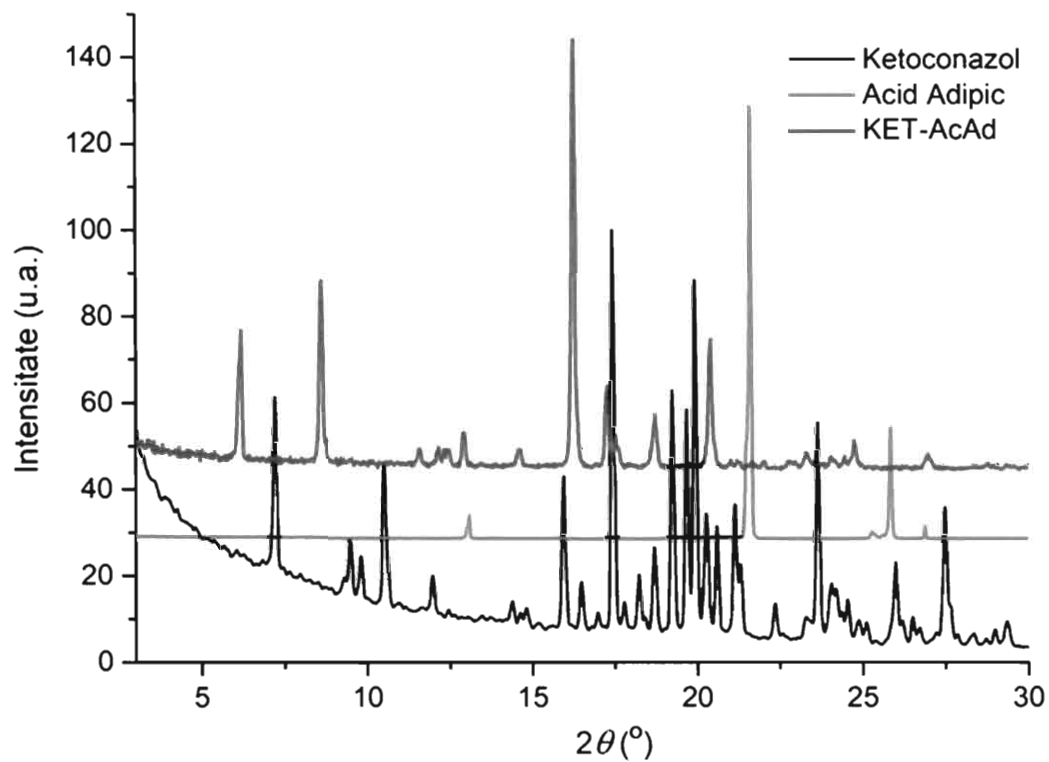


Figura 1

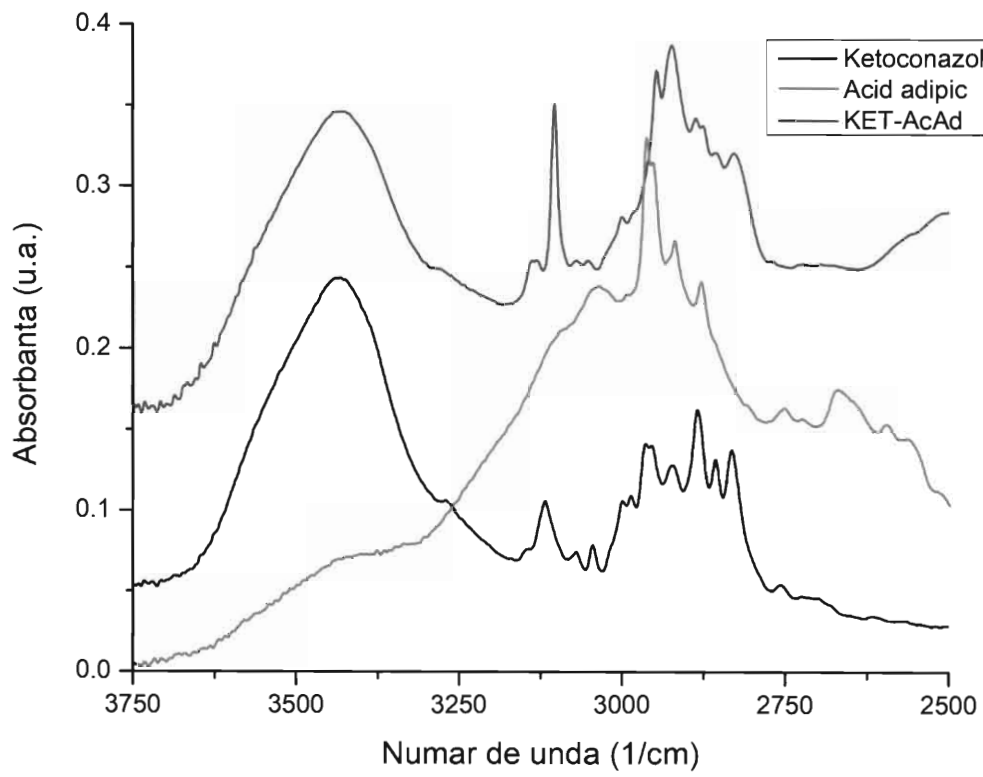


Figura 2.a

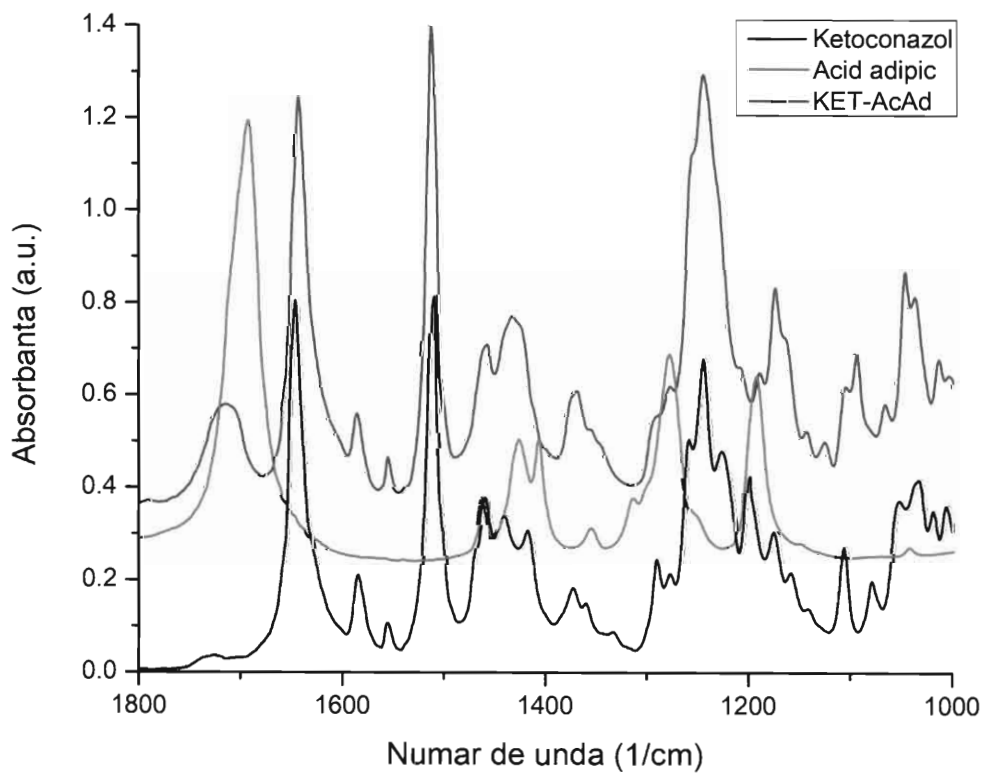


Figura 2.b

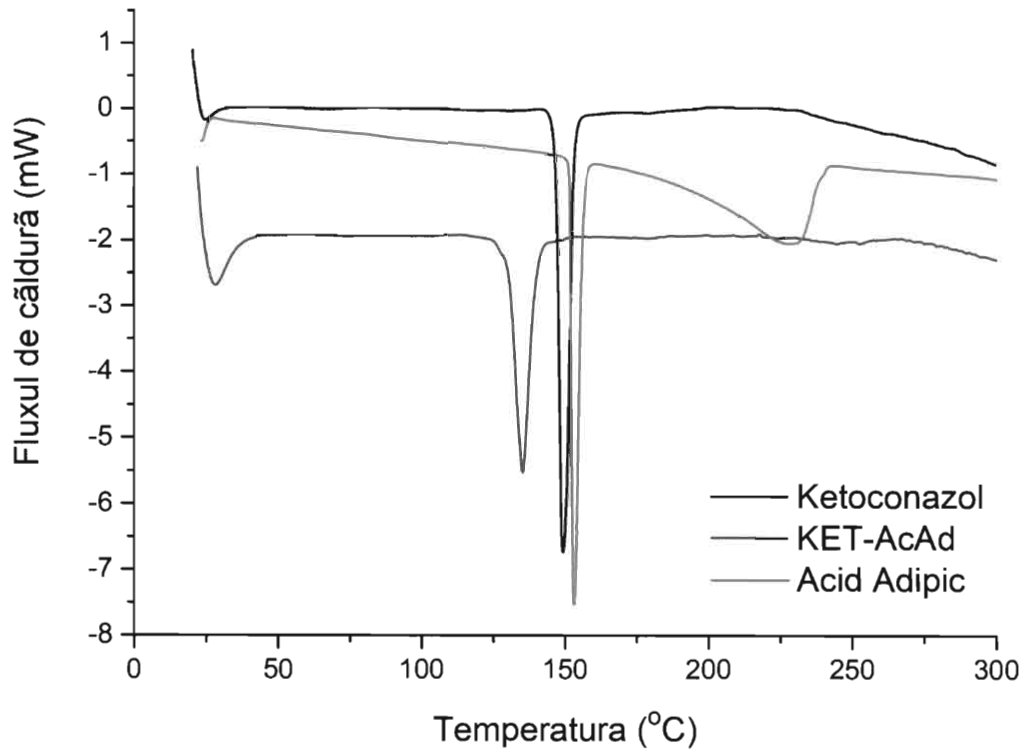


Figura 3

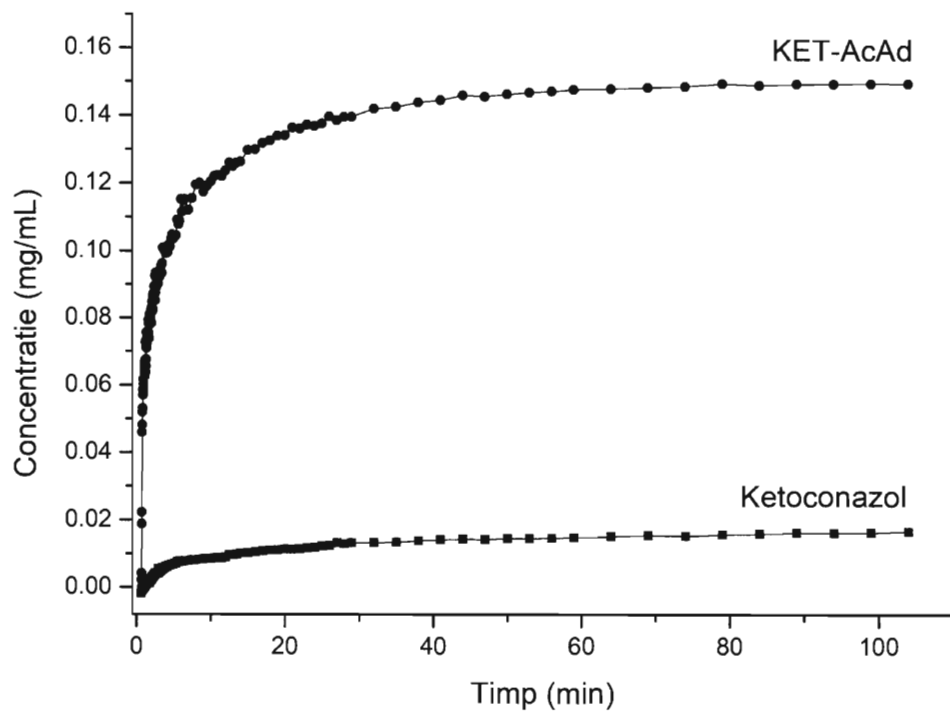


Figura 4