



(12)

## CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2023 00638**

(22) Data de depozit: **31/10/2023**

(41) Data publicării cererii:  
**30/04/2024** BOPI nr. **4/2024**

(71) Solicitant:  
• **UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI  
FARMACIE "CAROL DAVILA" DIN  
BUCUREȘTI, STR.DIONISIE LUPU NR.37,  
SECTOR 2, BUCUREȘTI, B, RO**

(72) Inventatori:  
• **POPA LĂCRĂMIOARA,  
STR.PICTOR ȘTEFAN DUMITRESCU NR.3,  
BL.2, SC.1, ET.5, AP.23, SECTOR 4,  
BUCUREȘTI, B, RO;**  
• **DINU-PÎRVU CRISTINA ELENA,  
STR.GH.LAZĂR NR.10, ET.1, SECTOR 1,  
BUCUREȘTI, B, RO;**

• **GHICA MIHAELA VIOLETA,  
CALEA CRÂNGAȘI NR.26-28, BL.48-49,  
SC.A, ET.2, AP.4, SECTOR 6, BUCUREȘTI,  
B, RO;**  
• **ANUȚA VALENTINA, STR. ROTUNDĂ  
NR.4, BL.Y1, SC.Z, ET.1, AP.10, SECTOR 3,  
BUCUREȘTI, B, RO;**  
• **PRISADA RĂZVAN-MIHAI,  
STR. SPIRU HARET, BL.13D, AP.3, BUZĂU,  
BZ, RO;**  
• **TALIANU MARINA-THEODORA,  
ALEEA CIOCĂRLIEI, NR.5, BL.X4, SC.I,  
AP.3, TULCEA, TL, RO**

(54) **MICROEMULSII CU MICONAZOL PENTRU APLICARE  
BUCALĂ ȘI PROCEDEU DE OBȚINERE A ACESTORA**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un procedeu de obținere a unui sistem de tip microemulsie ulei în apă cu miconazol cu acțiune în candidoza oromucozală. Procedeu, conform invenției, constă în etapele: solubilizarea miconazolului bază 2% în acid oleic 5%, adăugarea a 40% stabilizator de tip Tween 20 cu omogenizarea amestecului sub acțiune mecanică, adăugarea până la 20% polietilenglicol 400 sub agitare, prepararea separat a unei soluții apoase de elulcorant din 5% xilitol și 28...48% apă distilată, din masa totală a microemulsiei, titrarea soluției

peste amestecul de miconazol cu fază uleioasă și agenți stabilizatori menținând agitatea până la obținerea a 20 g microemulsie ulei în apă având caracteristici fizico-chimice și biofarmaceutice adecvate utilizării ca sistem de cedare topică a substanței active antifungice miconazol la nivel oromucozal.

Revendicări: 2  
Figuri: 7



## MICROEMULSII CU MICONAZOL PENTRU APLICARE BUCALĂ ȘI PROCEDEU DE OBTINERE A ACESTORA

Invenția se referă la sisteme disperse de tip microemulsie pentru eliberarea miconazolului, destinate aplicării topice la nivel oromucozal pentru a trata candidoza bucală și la un procedeu de obținere a acestora.

### Descrierea stadiului actual:

Candidoza orală este o infecție cu caracter acut sau cronic, dezvoltată la nivelul mucoasei bucale, care prezintă o tendință de extindere la nivel orofaringian în absența administrării unui tratament adecvat. *Candida albicans* rămâne unul dintre agenții patogeni oportuniști regăsiți în cele mai multe cazuri ca promotor al dezechilibrelor epiteliale (Monsen, R.E., *et al.*, *BMC Oral Health*, 2023; 23:223), asociat sau nu cu specii *non-albicans* ca parte a infecțiilor orale mixte. Acestea apar în special în cazul pacienților imuncompromiși, care urmează tratamente anticanceroase, a pacienților infectați cu HIV, sau a celor cu boli metabolice ori patologii orale care determină un răspuns imun slab sau întârziat (Singh, A., *et al.*, *J Oral Maxillofac Pathol*, 2014; Suppl.1:S81-5). În plus, coloniile fungice au abilitatea de a atrage entități bacteriene Gram pozitive și/sau Gram negative și fragmente celulare, promovând generarea unei arhitecturi multirezistente sub forma unui biofilm complex (O'Donnell, L.E., *et al.* *FEMS Yeast Research*, 2015; 15(7): 1-14), ceea ce constituie o provocare în asigurarea unui tratament rapid și eficient la nivel oromucozal.

Candidoza orală acută se dezvoltă ca afecțiune locală sub formă pseudomembranoasă sau eritematoasă. În cazul candidozei orale cronice, pe lângă cele două tipuri anterior menționate, se pot dezvolta forme de candidoză nodulară, hiperplastică sau sub formă de plăci (Singh, A. *et al.*, *J. Oral Maxillofac. Pathol.*, 2014; 18(Suppl1):S81-S85). Dezvoltarea candidozei la nivel tisular antrenează procese inflamatorii, modificări ale pH-ului bucal, disconfort în procesul de deglutiție, disfagie și carențe nutriționale. Cazurile severe culminează cu procese de diseminare sistemică a candidozei (Mardani, M. *et al.*, *Jundishapur J. Microbiol*, 2020; 13(8):e103290, 1-6; Anuța, V. *et al.*, *Int. J. Mol. Sci.*, 2022; 23(14):1-36).

Abordarea căii orale în terapia antifungică se concentrează în special asupra tratamentului candidozelor interne, iar calea intravenoasă este de elecție în managementul formelor invazive de infecții fungice (Garcia-Cuesta, C. *et al.*, *J. Clin. Exp. Dent.*, 2014; 6(5): e576-e582; Șenel, S. *et al.*, *Drug Deliv. Transl. Res.*, 2021; 11:1703-1734). Dezvoltarea rezistenței la tratamentele pe cale orală, efectul de prim pasaj hepatic implicat în metabolizarea medicamentelor

antifungice, biodisponibilitatea redusă a acestora, interacțiunile posibile cu alte medicamente și profilul reacțiilor adverse care pot apărea reprezintă câteva dezavantaje care orientează tratamentul către administrarea medicamentului direct la nivelul leziunii (Chang, Y.-L. *et al.*, *Virulence*, 2017; 8(2):222-236; Mosallam, S. *et al.*, *AAPS PharmSciTech*, 2022; 23:1-11). Prin urmare, terapia oromucozală devine o prioritate în administrarea unui medicament cu acțiune antifungică, și poate fi mai bine tolerată de către pacienți. Aplicarea unor formulări clasice bucale precum ape de gură, soluții, suspensii, colutorii, prezintă un efect de ușoară ameliorare a simptomatologiei având însă dezavantajul unei cedări slabe a substanțelor active, datorate atât rezistenței difuzionale a epitelului bucal, a diluării rapide a vehiculului cu fluidul salivar, cât și a solubilității scăzute a substanței active în vehiculul formulării (Chinna Reddy, P. *et al.*, *Daru.*, 2011; 19(6):385-403). Pe de altă parte, o slabă remanență la nivelul mucoasei este facilitată prin înghițirea accidentală a preparatului, ceea ce impune o utilizare repetată a acestuia (Barua, S. *et al.*, *J. Pharm. Investig.*, 2016; 46:593-613). Cea mai mare parte a substanțelor active antifungice sunt înalt lipofile cu o solubilitate scăzută în apă, ceea ce impune necesitatea entrapării acestora în forme farmaceutice adecvate pentru a ameliora acest dezavantaj (Anuța, V. *et al.*, *Int. J. Mol. Sci.*, 2022; 23(14):1-36; Mosallam, S. *et al.*, *AAPS PharmSciTech*, 2022; 23:1-11).

Cele mai noi abordări în sfera cedării bucale a miconazolului propun utilizarea tabletelor mucoadezive, a sistemelor polimerice de tip hidrogel, prelucrarea acestora sub forma filmelor mucoadezive cu cedare controlată a agentului terapeutic antifungic (Lalla, R.V. and Bensadoun, R.-J., *Expert. Rev. Anti. Infect. Ther.*, 2011; 9(1):13-17; Hosny, K. M. *et al.*, *AAPS PharmSciTech*, 2019; 20:1-12; Tejada, G. *et al.*, *Mater. Sci. Eng. C.*, 79:140-150) precum și cercetarea unor nanosisteme care să prezinte o adaptabilitate crescută pentru a aduce substanța activă la nivel nanometric într-o formă încapsulată, utilizând vehicule de transport biocompatibile, capabile să solubilizeze, să stabilizeze și să protejeze agentul terapeutic (Mosallam, S. *et al.*, *AAPS PharmSciTech*, 2022; 23:1-11).

Microemulsiile sunt cunoscute ca sisteme nanocoloidale care pot îmbunătăți solubilitatea substanțelor active lipofile, având un impact pozitiv asupra eliberării și difuziei substanței active la nivelul mucoasei orale (Padula, C. *et al.*, *Eur. J. Pharm. Sci.*, 2018; 115:1-7; Talianu, M.-T. *et al.*, *Nanomaterials*, 2020; 10(11):1-43)

Atât faza uleioasă cât și amestecul stabilizator sunt direct implicate în mod direct în asigurarea solubilizării și stabilizării microemulsiei, dar și în procesul de eliberare al substanței active, ca promotori ai penetrării la nivel tisular (Suhail, N. *et al.*, *Front. Nanotechnol.*, 2021; 3:1-6). Aceste efecte utile pentru procesul de formulare și eliberare din forma farmaceutică sunt

recunoscute și în cazul agenților terapeutici antifungici; sunt propuse formulări de tip microemulsie utile în candidoza orală care asigură o eliberare locală adecvată, de exemplu pentru clotrimazol (Kaewbanjong, J. *et al.*, *J Pharm Pharmacol.*, 2017; 69(12):1716-1723) sau eugenol (Monton, C. *et al.*, *J. Drug Deliv. Sci. Technol.*, 2020; 57:1-7).

Miconazolul, ca substanță activă cu acțiune antifungică, este un derivat imidazolic cu spectru larg, utilizat în tratamentul infecțiilor fungice superficiale, acționând la nivel celular prin distrugerea integrității membranare și alterarea aderenței celulei fungice la nivel tisular, prin inhibiția enzimei 14- $\alpha$  lanosterol demetilază (Zhang, L.-W. *et al.*, *et al.*, *Oral dis.*, 2016; 22(3):185-195). Ca substanță medicamentoasă cu solubilitate scăzută în apă (sub 1  $\mu\text{g/mL}$ ), miconazolul prezintă o serie de dificultăți la încorporarea în preparate topice și respectiv o eliberare nesatisfăcătoare, în detrimentul vindecării leziunilor (Drodz, K.V. *et al.*, *Pharmaceutics*, 2022; 14(5):1-15). Deficiențele anterior menționate pot fi depășite prin obținerea unor sisteme sub formă de microemulsii ulei în apă, utilizând un ulei de origine vegetală precum acidul oleic, o fază apoasă preparată cu un edulcorant care să asigure caracteristici organoleptice satisfăcătoare și respectiv un amestec stabilizator format din Tween 20 și polietilenglicol 400.

Având în vedere aplicabilitatea terapeutică a acestei substanțe antifungice, au fost dezvoltate până la acest moment o serie de formulări conținând miconazol în alte sfere de administrare topică, altele decât calea bucală: (i) compoziție sub formă de ovule cu miconazol (Brevet RO128262); (ii) compoziție topică regăsită sub denumirea de Micogel pentru tratamentul acneei conținând miconazol nitrat 2%, în formula căreia a fost încorporat polietilenglicol 400 20%, propilenglicol 20% și glicerină 20% (Brevet WO2007/00261); (iii) compoziții polimerice pentru tratamentul unor forme de dermatită și pentru regenerare cutanată utilizând miconazol 0,25% (Brevet WO2011/027246); (iv) compoziție dermatologică conținând miconazol nitrat 2%, fusidat de sodiu 2,08% și mometasonă furoat 0,1% (Brevet WO2012/035376); existând și o preocupare actuală pentru dezvoltarea de nanoformulări precum (v) compoziție de tip sistem dispers cu microemulsificare spontană pentru administrare vaginală conținând tinidazol 5-25%, miconazol 2-15%, polgynax 0,24-1%, fază uleioasă (trigliceride cu catenă medie, oleat de etil, miristat de izopropil, ulei de soia, vitamina E sau ulei de ricin) 5-60%, un agent stabilizator (Tween 80, Cremophor RH40, Cremophor EL, Solutol HS15, Span 80 sau fosfolipide din soia) 10-80%, un cosolvent (propilenglicol, etanol, alcool n-butilic sau PEG400) 1-30% și alți excipienți 0-10% (Brevet CN101703617), observându-se prezența celor trei faze destinate formării microemulsiilor în domeniile de concentrație acceptate; (vi) gel topic cu miconazol încărcat în nanoparticule lipidice pentru aplicare topică conținând miconazol nitrat, ulei de ricin

hidrogenat, palmitostearat de gliceril, stearat de colesteril, behenat de gliceril, alcool cetilic, poloxamer 188, monostearat de gliceril, PEG 400 și dimetilformamidă, acestea fiind integrate într-o bază de gel cu Carbomer 970 (Brevet AU2021107452).

Până în prezent au fost elaborate diverse preparate cu administrare bucală a unor agenți terapeutici indicați pentru ameliorarea unor afecțiuni bucale și anume: (i) compoziții pentru tratamentul xerostomiei sub forma unor sisteme lichide pentru retenția oromucozală a xilitolului în concentrații de 42-43% (m/m) într-un sistem lichid hidratant (Brevet WO2016094054); (ii) compoziții destinate tratamentului local al rănilor cutanate și oromucozale de tip soluții conținând extract de *Symphytum officinale* L. 10% și/sau tinctură de *Commiphora molmol* 5%, poloxamer 1%, polihexameten biguanidă 0,1% și apă q.s. 100% (m/m) sau sisteme de tip gel cu hidroxietiluree 8,6%, hidroxietilceluloză 1,8% și un cosurfactant 0,1% (Brevet US20160324971); (iii) tratament topic sub formă de soluție sau suspensie cu azatioprină sau o sare a acesteia în concentrație de 0,5-50 mg/mL și doze de 50-250 mg/zi pentru tratamentul leziunilor auto-imune ale mucoasei bucale (Brevet WO0112264); (iv) compoziții solide adezive absorbabile, în monostrat sau multistrat pentru tratamentul unor afecțiuni ale mucoasei orale cu acțiune imediată de ameliorare a durerii și vindecare a ulcerului/leziunii, conținând unul sau mai mulți polimeri bioadezivi, stearat de magneziu, extracte vegetale, alături de alte formulări derivate conținând benzocaină, lidocaină, amfotericină, enzimă Dextranază, mentol sau iodină (Brevet WO2009013562).

O serie de formulări bucale au fost dezvoltate ca sisteme conținând agenți antifungici: (i) compoziție formatoare de gel *in situ* pentru aplicare bucală conținând nistatin 0,5%, hidrocortizon 0,4% și lidocaină 0,8%, alături de o serie de excipienți selectați și anume Carbopol 934 0,2-0,3%, Cremophor RH40 6%, etanol 8%, Poloxamer 407 15-17,10%, Poloxamer 188 0,75-1,5% și apă distilată 65,90-69,1% (Brevet EP3173067); (ii) compoziție oromucozală conținând un derivat imidazolic substituit numit fipamezol 15-161 mg încorporat sub formă de spray oromucozal, gel oromucozal, comprimat mucoadeziv sau comprimat sublingual (Brevet US8653122); (iii) compoziție conținând *Lactobacillus rhamnosus* No. LMG S-28148 administrat sub formă de cașete orosolubile de trei ori pe zi după masă pentru tratamentul candidozei bucale, testat pe 11 pacienți (Brevet US20190000895).

O serie de compoziții cu miconazol au fost elaborate pentru aplicare bucală, dar nu în forma unui sistem de tip microemulsie: (i) compoziție sub forma unui gel oral cu 5 părți metronidazol, o parte miconazol, 10 părți zahăr, 0,5 părți ciclamat de sodiu, o parte zaharină sodică, o parte Carbopol 940, 10 părți glicerină, 0,05 părți ulei de mentă, 0,01 părți clorofilină cupro-sodică, 3 părți trietanolamină și apă distilată până la 100 părți (% m/m) (Brevet RO94155); (ii)

compoziție sub formă de comprimat mucoadeziv cu miconazol nitrat (micronizat) 10 mg, amidon de porumb 82,8 mg, Carbopol 5 mg, dioxid de siliciu coloidal 0,2 mg, stearil fumarat de sodiu 2 mg și alcool etilic q.s. pentru 100 mg produs (Brevet WO97/24109); (iii) compoziție lipidică într-o structură de gel cu aplicare la nivelul mucoasei bucale pentru efect calmant, protector și lubrifiant conținând miconazol 1-2,5%, fosfolipide (cu un conținut de fosfatidilcolină 45%) 20%, etanol 2,5-15% și glicerol 64-76,5% (Brevet WO99/29301); (iv) compoziție pentru tratamentul candidozei induse de purtarea protezelor dentare cu miconazol 1%, colagen 30% și apă purificată q.s. 100% (Brevet EP1508329); (v) comprimat mucoadeziv cu miconazol bază 50 mg pentru tratamentul leziunilor cauzate de candidoza orofaringiană la pacienți imunocompromiși într-o formulare conținând metilhidroxipropilceluloză 20,50 mg, proteine din lapte LR 85F Metoloză 90SII150000 27,43 mg, amidon din porumb 9,20 mg, lactoză monohidrat 200 mesh 0,39 mg, laurilsulfat de sodiu 5,18 mg, stearat de magneziu 1,32 mg, talc 0,98 mg și apă purificată q.s. pentru o masă totală a comprimatului de 115 g (Brevet US20090137477); (vi) compoziție complexă pe bază de polimeri cu miconazol 2,01%, glicerină 72,94%, dexpanthenol 1,04%, benzoat de sodiu 0,05%, hidroxitoluen butilat 0,11%, zaharină 0,31%, clorură de benzalconiu 0,11%, glicirizat de potasiu 0,54%, CaSO<sub>4</sub> 1,22%, gumă xanthan 0,77%, stearat de monogliceril 0,97%, carboximetilceluloză 15,55%, alginat de sodiu 3,9% și aromă de mentă 0,20% raportate ca procente masice (m/m) (Brevet EP3222270); (vii) compoziție cu miconazol și clorură de cetilpiridiniu cu efect inhibitor asupra formării candidozei la nivelul cavității bucale (Brevet JP2017119651); (viii) compoziție sub forma unui comprimat mucoadeziv bucal cu eliberare prelungită conținând miconazol 43,5%, hidroxipropilemetilceluloză 17,8%, concentrat din proteine din lapte 23,9% (cu un conținut în proteine de 87% și respectiv Ca 2,2%), amidon de porumb 8%, lactoză 0,3%, dodecilsulfat de sodiu 4,5%, stearat de magneziu 1,15% și talc 0,9% exprimate în procente masice (% m/m) (Brevet WO2021/229170); (ix) gel cu eliberare susținută conținând 20-30 părți lipozomi pe bază de lecitină încărcăți cu miconazol și carboximetilceluloză, 30-45 părți gel cu 0,5% hialuronat de sodiu, 10-20 părți soluție de bicarbonat de sodiu de concentrație 1-4% și 5-8 părți gel cu hialuronat de sodiu 5% (Brevet CN113018249); (x) compoziție de tip spray cu formarea unui hidrogel termoresponsiv *in situ* la nivelul cavității bucale conținând miconazol nitrat 2%, poloxamer 188 20%, Tween 80 1%, etilenglicol 6%, benzoat de sodiu 0,1% și apă 90%, cât și o compoziție conținând doi agenți antifungici cu mecanisme de acțiune diferite: miconazol nitrat 2%, nistatin 3%, poloxamer 188 28%, Arlacel-80 1%, propilenglicol 4%, benzoat de sodiu 0,1%, etanol 30% și apă până la 100% (% m/m) (Brevet CN104922139).

O serie de compoziții sub forma unor microemulsii topice pentru acțiune antifungică au fost preparate, dar fără a conține ingredientele selectate în invenția propusă: (i) compoziție bucală de tip microemulsie conținând ulei esențial de rozmarin de la specia *Rosmarinus officinalis* cu proprietăți antimicrobiene și antifungice, conținând în compoziție ulei esențial 0,1-5%, miristat de izopropil 25-45%, Cremophor EL și/sau Span 80, ca agenți stabilizatori 5-30%, etanol 35-50% ca agent cosurfactant și apă q.s. (% m/m) (Brevet WO2021201803); (ii) compoziție de tip microemulsie-hidrogel conținând itraconazol 0,02-3%, alcool benzilic 5-15%, fosfolipide 5-20%, Carbopol sau gumă xanthan 0,5-5% și apă până la 100% (% m/m) destinată aplicării pe piele (Brevet KR100866979).

Nu au fost preparate până acum microemulsii pentru aplicații bucale conținând miconazol și utilizând compoziția propusă în prezenta invenție. În brevetul CN1931164 a fost propusă o emulsie medicamentoasă cu miconazol 0,1-2%, caracterizată prin dimensiuni nanometrice ale picăturilor fazei dispersate, utilizând un ulei 5-10%, o fază apoasă 44-52%, un agent stabilizator reprezentat de un eter polioxietilenic al uleiului de ricin sau Cremophor EL 35-45%, și DMSO cu rol de cosolvent 5-10% în sensul măririi biodisponibilității substanței active. Spre deosebire de această invenție, în invenția propusă de noi, miconazolul este încorporat într-o microemulsie cu dimensiuni ale fazei dispersate de ordin nanometric utilizând o singură fază uleioasă și anume acidul oleic 5%, stabilizată de un amestec tensioactiv format din Tween 20 40%, PEG 400 0...20%, destinată aplicării la nivelul mucoasei bucale.

De asemenea, în brevetul CN102579435, s-au propus nanoemulsii topice ulei în apă cu fluconazol 0,05-2,5% conținând unul sau mai mulți surfactanți (preferabil Tween 80, Cremophor RH40, Cremophor EL40) 25-40%, unul sau mai mulți cosurfactanți (etanol, propilenglicol, alcool izopropilic, Macrogol 600 sau în amestec) 3,80-10%, ulei (acetat de butil, carvacrol, aldehydă cinamică sau în amestec) 3-25%, magnolol 0,01-0,70% și apă adăugată până la 100%. Spre deosebire de compoziția prezentată anterior, invenția propusă studiază sisteme de tip microemulsie având la bază o singură concentrație terapeutică a substanței active cu efect antifungic și anume miconazol 2% pentru aplicații bucale în compoziții cu un număr redus de ingrediente, pentru a descrie caracteristici specifice asociate factorilor de formulare incluși, dar și modul de eliberare al substanței active din acest tip de sistem nanocoloidal.

### Problema tehnică

Problema tehnică pe care o rezolvă invenția constă în dezvoltarea unor sisteme topice oromucozale sub formă de microemulsii ulei în apă, bazate pe selectarea a două faze, una apoasă și una uleioasă, a unui amestec stabilizator format dintr-un surfactant și un cosurfactant, selectarea unui agent edulcorant, combinate în anumite proporții astfel încât să se obțină sisteme stabile caracterizate prin parametri adecvați, care să permită aplicarea la nivelul mucoasei bucale a acestora, și obținerea unei cedări îmbunătățite a miconazolului, utilă în tratamentul candidozei orale.

### Soluția tehnică

Având ca reper sistemele tradiționale pentru cedarea medicamentului, formulările de tip microemulsie propuse conform invenției prezintă avantajul că pot asigura solubilizarea miconazolului prin intermediul unei faze lipofile de origine vegetală și dispersarea acesteia într-o fază apoasă cu ajutorul unui amestec stabilizator, ceea ce determină o eliberare rapidă a substanței active și o creștere a biodisponibilității. Prin urmare, dezavantajele prezentate în *Descrierea stadiului actual* sunt înlăturate prin faptul că sistemul proiectat conform invenției prezintă următoarea compoziție raportată la 20 g de microemulsie: a) acid oleic 5% cu rol de fază lipofilă, b) Tween 20 40% cu rol de surfactant, c) polietilenglicol 400 (PEG 400) 0 ... 20% cu rol de cosolvent, d) xilitol 5% cu rol de edulcorant, e) miconazol bază 2%, asociate cu apă distilată 28 ... 48 %.

Evaluarea solubilității miconazolului în faza uleioasă și în cei doi agenți tensioactivi aleși s-a realizat prin testarea solubilității aparente dintr-o serie de excipienți, în acord cu datele din literatură (Vlaia, L. *et al.*, *Processes*, 2021; 9(1):1-21), rezultând următoarele valori ale solubilității la saturare pentru fiecare excipient potențial: ulei de germeni de grâu - 126 mg/mL, miristat de izopropil - 58,2 mg/mL, acid oleic - 198,7 mg/mL, Tween 80 - 204,5 mg/mL, Tween 20 - 241,5 mg/mL, Poloxamer 407 - 56,6 mg/mL, propilenglicol - 263,8 mg/mL, PEG 200 - 237,5 mg/mL, PEG 400 - 265 mg/mL. Din acest grup, acidul oleic, Tween 20 și PEG 400 au fost selectați ca excipienți pentru formarea microemulsiilor.

Procedeul de obținere al microemulsiilor ulei în apă cu miconazol a urmat o succesiune de etape. Cantitatea corespunzătoare de miconazol bază se cântărește într-un flacon de sticlă, utilizând o balanță analitică. În etapa următoare, în flaconul cu miconazol se cântărește acidul oleic în cantitatea necesară solubilizării. Solubilizarea miconazolului se realizează sub agitare magnetică, la temperatura camerei, timp de 1 minut la 500 rpm, urmată de menținere la 1000 rpm timp de 2 minute. Se obține o soluție uleioasă de miconazol cu aspect clar. În continuare,



în flaconul cu soluția uleioasă, se aduce cantitativ Tween 20, iar amestecul se supune omogenizării prin agitare magnetică la 500 rpm, 10 minute. Peste acest amestec se adaugă PEG 400, asigurând același proces de omogenizare, cu o mărire a vitezei de rotație la 1000 rpm. Pentru a realiza titrarea cu fază apoasă, se prepară o soluție apoasă conținând un edulcorant. Astfel, într-un pahar Berzelius adecvat se cântărește xilitolul la balanța analitică, iar cantitatea corespunzătoare de apă distilată se adaugă peste îndulcitor. Xilitolul se dizolvă în apă prin agitare cu o baghetă de sticlă. Soluția rezultată se adaugă peste amestecul anterior, picătură cu picătură, sub agitare, până la obținerea a 20 g microemulsie. Preparatele astfel obținute se depozitează la temperatura camerei, timp de trei zile pentru echilibrare.

Pentru a evidenția calitatea sistemelor preparate a fost realizată evaluarea fizico-chimică a acestora, urmărind parametri precum: pH, conductivitate electrică, indice de refracție, dimensiunea medie a picăturilor dispersate prin spectroscopie de corelație fonică, comportamentul la curgere prin evaluare reologică, utilizând un vâscozimetru con-placă, și caracteristici superficiale prin evaluare goniometrică aplicând modelul ”*pendant drop*” pentru studiul tensiunii superficiale, respectiv modelul ”*contact angle*” pentru a evalua proprietățile de adeziune, prin analiza unghiului format de o picătură din probă la suprafața unei lame de sticlă. Proprietățile biofarmaceutice ale sistemelor au fost analizate la  $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$  printr-un studiu cinetic *in vitro* utilizând un sistem format din celule verticale de difuzie Franz. Pentru separarea mediului donor de mediul receptor s-au utilizat membrane artificiale din acetat de celuloză Sartorius, cu diametrul 25 mm, pori de  $0,47\mu\text{m}$ , cu o suprafață efectivă de cedare de  $1,77\text{ cm}^2$ , iar mediul de cedare a fost tampon fosfat. Cedarea miconazolului a fost evaluată pe o perioadă de 10 ore.

În acord cu Figura 1, s-au obținut cinci microemulsii cu aspect variind de la opalescent la clar, de culoare gălbuie, cu miros specific componentelor, cu aspect fluid și gust ușor dulce, codate în ordine ME 1, ME 2, ME 3, ME 4 și ME 5, asociate compoziției și influențate de prezența fazei uleioase reprezentate de acidul oleic 5% și de amestecul stabilizator format din Tween 20 (HLB=17) și PEG 400 de 40 ... 60%.

Așa cum se poate observa în Tabelul 1, valorile de pH testate pentru sistemele dezvoltate au variat în domeniul 5,40-6,04. Creșterea valorilor de pH a fost dependentă de variația amestecului stabilizator, rezultând compoziții compatibile pentru acțiune la nivelul mucoasei bucale afectate de candidoză. Este cunoscut faptul că în anumite condiții patologice precum infecția cu *C. albicans*, pH-ul bucal poate fi deplasat în domeniul ușor acid, prolific multiplicării fungice, ceea ce a impus adaptarea pH-ului sistemelor în funcție de ingredientele selectate.

Variația PEG 400 de la 0 ... 20% a influențat în mod pozitiv creșterea valorilor de pH spre valoarea maximă 6,04.

În continuare, valorile medii ale conductivității au fost utile pentru stabilirea apartenenței microemulsiilor la tipul ulei în apă. Acestea au variat între 27,23-92,53  $\mu\text{S}/\text{cm}$ , conform Tabelului 1, fiind remarcată o variație proporțională a conductivității în funcție de concentrația apei din sistem.

În mod similar, valorile indicilor de refracție plasați în domeniul 1,3994-1,4322, au fost dependenți de conținutul de amestec stabilizator utilizat. Știind faptul că valorile concentrației acidului oleic și ale surfactantului Tween 20 au fost constante, s-a constatat faptul că cele două variabile – concentrația de PEG 400 și apă – au fost determinante pentru obținerea indicilor de refracție prezentați în Tabelul 1.

Analiza dimensiunii picăturilor și a distribuției acestora pentru fiecare microemulsie obținută prin procedeul descris anterior a fost realizată utilizând metoda spectroscopiei de corelație fonică la  $24 \pm 0,5^\circ\text{C}$ . În accepțiunea modelului Rayleigh privind fenomenul de împrăștiere a luminii s-au determinat valorile coeficientului de difuzie care au fost ulterior integrate în ecuația Stokes-Einstein (ec. 1) pentru estimarea diametrului hidrodinamic al picăturii prin raportare la modelul Cumulantului.

$$d_{app} = \frac{k_B \cdot T}{3\pi\eta \cdot D_{app}} \quad (1)$$

unde  $d_{app}$  reprezintă diametrul hidrodinamic al picăturilor,  $k_B$  – constanta Boltzmann,  $T$  – temperatura absolută,  $\eta$  – vâscozitatea mediului, iar  $D_{app}$  – coeficientul de difuzie calculat din funcția de autocorelație interpretată de aparat.

Astfel, valorile medii ale dimensiunii picăturilor ( $D_p$ ) exprimate în nm au variat între  $301,68 \pm 6,73$  nm și  $167,74 \pm 0,97$  nm fiind caracterizate prin indici de polidispersie plasați în domeniul 0,306-0,338, așa cum sunt prezentați în Tabelul 1. Prin urmare, s-a observat o dependență a valorilor  $D_p$  în funcție de compoziția descrisă. Agentul cosurfactant PEG 400 modifică alura structurală a sistemului dependent de concentrație. PEG 400 participă în mod activ la reducerea dimensiunii picăturilor și la creșterea gradului de stabilitate exprimat prin claritate a microemulsiilor ME 4 și ME 5, conținând 15% respectiv 20% PEG 400. Rezultatele obținute ale distribuției dimensiunii picăturilor ca intensitate (a.u.) funcție de diametru (nm) sunt prezentate în Figura 2. Aceste rezultate au fost obținute prin aplicarea unui laser cu lungimea de undă de 638 nm, la un unghi de  $170^\circ$  asupra probei plasate într-un accesoriu de analiză *in situ*.

Tabel 1. Parametri fizico-chimici pentru compozițiile dezvoltate pentru n=3 determinări.

Cod	pH	k ( $\mu\text{S/cm}$ )	n	$D_p$ (nm)	PDI
ME 1	5,40 $\pm$ 0,01	92,53 $\pm$ 0,32	1,3994 $\pm$ 0,0001	301,68 $\pm$ 6,73	0,338 $\pm$ 0,028
ME 2	5,54 $\pm$ 0,01	70,03 $\pm$ 0,06	1,4116 $\pm$ 0,0001	261,15 $\pm$ 2,43	0,306 $\pm$ 0,002
ME 3	5,68 $\pm$ 0,01	57,73 $\pm$ 0,21	1,4161 $\pm$ 0,0002	237,00 $\pm$ 2,55	0,316 $\pm$ 0,002
ME 4	5,82 $\pm$ 0,01	42,26 $\pm$ 0,06	1,4249 $\pm$ 0,0001	184,94 $\pm$ 0,40	0,320 $\pm$ 0,009
ME 5	6,04 $\pm$ 0,01	27,23 $\pm$ 0,15	1,4322 $\pm$ 0,0001	167,74 $\pm$ 0,97	0,314 $\pm$ 0,009

Notă: k reprezintă conductivitatea ( $\mu\text{S/cm}$ ), n – indicele de refracție,  $D_p$  – dimensiunea medie a picăturilor (nm) și PDI – indicele de polidispersie.

Evaluarea reologică a microemulsiilor a fost realizată la  $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$  și a conturat comportamentul la curgere, fiind un parametru de calitate critic recomandat pentru formulările topice. Interpretarea matematică a modelului liniar, descris de legea lui Newton (ec. 2) a permis obținerea unor profile de curgere tensiune de forfecare (Pa) funcție de viteză de forfecare ( $\text{s}^{-1}$ ), reprezentate pentru fiecare microemulsie, în Figura 3.

$$\tau = \eta \cdot \dot{\gamma} \quad (2)$$

unde  $\tau$  reprezintă tensiunea de forfecare ( $\text{Pa}\cdot\text{s}$ ),  $\eta$ - vâscozitatea (Pa) și  $\dot{\gamma}$  – viteza de forfecare ( $\text{s}^{-1}$ ). Caracterul newtonian al acestora a fost descris prin ecuații de ordinul 1 ale dreptelor de regresie și validat prin coeficienți de corelație R specifici modelului cu valori cuprinse între 0,9986 și 0,9997. Astfel, s-a observat o variație a valorilor vâscozității între 0,165-0,2144  $\text{Pa}\cdot\text{s}$ , ceea ce denotă obținerea unor sisteme fluide, cu o curgere dependentă de compoziție. Ca și în cazul parametrilor anterior discutați, PEG 400 contribuie la scăderea vâscozității microemulsiilor odată cu reducerea dimensiunii picăturilor, prin intercalarea acestuia la nivelul interfeței ulei/apă alături de Tween 20. În cazul microemulsiei ME 1, vâscozitatea are o valoare de 0,1911  $\text{Pa}\cdot\text{s}$  întrucât sistemul nu conține cosolvent, iar pe măsură ce se adaugă concentrațiile calculate de PEG 400, sistemul își modifică vâscozitatea. În primă fază, la concentrații de PEG 400 de 5-10%, vâscozitatea atinge două valori de maxim în cazul microemulsiilor ME 2 și ME 3. La mărirea concentrației de PEG 400 de la 15% la 20%, apare o fluidizare acestora, marcată printr-o variație a valorilor de vâscozitate de 0,1869  $\text{Pa}\cdot\text{s}$  în cazul microemulsiei ME 4, până la 0,165  $\text{Pa}\cdot\text{s}$  în cazul microemulsiei ME 5.

**Tabelul 2.** Descriptori reologici specifici profilelor reologice pentru compozițiile dezvoltate.

Formulare	Ecuția drepteii	Coeficient de corelație (R)	Vâscozitate (Pa·s)
ME 1	$y = 0,1911 x + 1,3159$	0,9988	0,1911
ME 2	$y = 0,2144 x + 1,2662$	0,9986	0,2144
ME 3	$y = 0,2142 x + 0,7967$	0,9995	0,2142
ME 4	$y = 0,1869 x + 0,5769$	0,9994	0,1869
ME 5	$y = 0,165 x + 0,4235$	0,9997	0,165

Variația valorilor tensiunii superficiale obținute în urma testării goniometrice prin aplicarea modelului "pendant drop" nu este semnificativă, acestea fiind plasate între  $25,20 \pm 0,27 - 25,67 \pm 0,09$  mN/m. Valorile obținute sunt exprimate ca medie  $\pm$  deviație standard pentru  $n=3$  determinări și prezentate în Tabelul 3. Modelul de testare a urmărit fenomenul de desprindere al unei picături din proba analizată dintr-un capilar al unui ac C209-22 montat la nivelul unei seringi Hamilton atașate goniometrului. Profilul picăturii formate a fost vizualizat și captat cu ajutorul unei camere cuplate cu software-ul aparatului, fiind analizat cu ajutorul ecuației Young-Laplace, ecuația fiind în continuare utilă pentru evaluarea unghiului de contact și a tensiunii superficiale utilizând cel de-al doilea model de studiu.

$$\gamma_{SG} = \gamma_{SL} + \gamma_{LG} \cdot \cos\theta \quad (3)$$

unde  $\gamma_{SG}$  reprezintă tensiunea superficială la interfața solid/gaz,  $\gamma_{SL}$  – tensiunea superficială la interfața solid/lichid,  $\gamma_{LG}$  – tensiunea superficială la interfața lichid gaz, și  $\theta$  – unghiul de contact. În acord cu rezultatele obținute, comportamentul probei și forța care acționează pentru a se opune desprinderii picăturii sunt similare în cazul tuturor probelor de microemulsie. În Figura 4 sunt prezentate profile ale picăturilor de microemulsie analizate prin aplicarea modelului "pendant drop".

Determinarea unghiului de contact a oferit informații asupra gradului de umectare al microemulsiilor. Folosind același model matematic de analiză expus anterior, s-a evidențiat gradul de hidrofilie al microemulsiilor cuantificat prin valori ale unghiului de contact variind între  $45,95 \pm 0,372 - 60,39 \pm 0,504^\circ$ , într-un mod direct proporțional cu valorile tensiunii superficiale  $\gamma_{LG}$  aflate între  $30,71 \pm 0,184 - 49,22 \pm 0,69$  mN/m. Rezultatele obținute sunt exprimate ca medie  $\pm$  deviație standard pentru  $n=5$  determinări și prezentate în Tabelul 3. Având în vedere faptul că valorile unghiului de contact se află în domeniul  $0-90^\circ$ , probele au prezentat o udare incompletă, definită printr-o variație a forțelor de adeziune și a celor de coeziune, în sensul etalării microemulsiei la nivelul suprafeței. Prin urmare, dacă se realizează

o asociere cu elementele de formulare specifice invenției propuse, se poate observa că încorporarea cosurfactantului PEG 400 modulează hidrofilia microemulsiilor, prin scăderea valorilor unghiului de contact, după cum sunt prezentate în capturile picăturilor etalate la nivelul suprafeței solide, evaluate goniometric și prezentate în Figura 5. Astfel, sistemul codat ME 1 preparat fără PEG 400 este caracterizat prin valoarea maximă a unghiului de contact de  $60,39 \pm 0,504^\circ$ . Pe măsură ce se adaugă concentrații crescătoare de PEG 400, valoarea unghiului de contact scade spre o valoare minimă de  $45,95 \pm 0,372^\circ$ . Pentru a cuantifica modul de alternare al forțelor specifice adeziunii și a celor de coeziune în structura probelor, s-au cuantificat lucrul de adeziune necesar etalării probei la nivelul suprafeței și lucrul de coeziune care se opune stabilirii unei legături între probă și suprafața de etalare. Cuantificarea celor doi parametri a fost realizată prin aplicarea ecuației Dupré (ec. 4) și a ecuației de definire a lucrului de coeziune (ec. 5):

$$W_a = \gamma_{LG} (1 + \cos\theta) \quad (4)$$

$$W_c = 2\gamma_{LG} \quad (5)$$

unde  $W_a$  reprezintă lucrul de adeziune,  $W_c$  – reprezintă lucrul de coeziune,  $\gamma_{LG}$  – tensiunea superficială la interfața lichid/gaz și  $\theta$  – unghiul de contact. Lucrul de adeziune este mai mare pentru microemulsiile cu conținut redus de PEG 400 între 0-10% și variază între 70,07 mN/m și 73,14 mN/m, ceea ce semnifică o interacțiune puternică între molecule de același fel și un lucru mecanic necesar etalării mult mai mare. În acest caz lucrul de coeziune are de asemenea valori mari între 87,12 mN/m și 98,44 mN/m. Pe de altă parte, la concentrații de PEG 400 de 15-20%, lucrul mecanic necesar etalării are valori minime, adeziunea lichidului la suprafața de aplicare este mai mare, iar lucrul de coeziune atinge valori minime, conform datelor expuse în Tabelul 3.

**Tabelul 3.** Rezultate obținute la determinarea proprietăților superficiale evaluate la  $24 \pm 0,5^\circ\text{C}$  prin metoda goniometrică, pentru compozițiile dezvoltate.

Cod	"Pendant drop"	"Contact angle"		$W_a$ (mN/m)	$W_c$ (mN/m)
	$\gamma_{LG}$ (mN/m)	$\theta$ (°)	$\gamma_{LG}$ (mN/m)		
ME 1	$25,67 \pm 0,09$	$60,39 \pm 0,504$	$49,22 \pm 0,690$	$73,14 \pm 1,370$	$98,44 \pm 1,380$
ME 2	$25,48 \pm 0,10$	$57,25 \pm 0,471$	$47,31 \pm 0,732$	$72,85 \pm 1,450$	$94,61 \pm 1,460$
ME 3	$25,38 \pm 0,06$	$52,50 \pm 0,410$	$43,56 \pm 0,441$	$70,07 \pm 0,436$	$87,12 \pm 0,882$
ME 4	$25,20 \pm 0,27$	$48,15 \pm 0,306$	$30,78 \pm 0,126$	$51,31 \pm 0,124$	$61,56 \pm 0,252$
ME 5	$25,29 \pm 0,02$	$45,95 \pm 0,372$	$30,71 \pm 0,184$	$52,05 \pm 0,366$	$61,42 \pm 0,744$

Notă:  $\gamma_{LG}$  (mN/m) reprezintă tensiunea superficială la interfața lichid/gaz testată goniometric aplicând modelul "pendant drop",  $\theta$  (°) – unghiul format de picătura de microemulsie la suprafața solidului, prin testare goniometrică aplicând modelul "contact angle",  $\gamma_{LG}$  (mN/m) – tensiunea superficială la interfața lichid/gaz testată goniometric aplicând modelul "contact angle",  $W_a$  (mN/m) – lucrul de adeziune al microemulsiei și  $W_c$  (mN/m) – lucrul de coeziune al microemulsiei.

În urma studiului cedării miconazolului din microemulsiile ME 1-ME 5, s-au obținut descriptori cinetici, cuantificați prin coeficienți de difuzie și coeficienți de corelație specifici modelului Higuchi (ec. 6) și prezentați în Tabelul 4.

$$D_m = \frac{tg^2\theta \cdot \pi}{4C_0^2} \quad (3)$$

unde  $tg\theta$  reprezintă cantitatea de miconazol difuzată în compartimentul receptor la diferite intervale de timp, raportată la unitatea de suprafață, ca funcție de radical de timp.  $C_0$  reprezintă concentrația inițială a medicamentului în microemulsie.

**Tabelul 4.** Descriptori cinetici specifici modelului Higuchi pentru compozițiile dezvoltate.

Formulare	1	2	3	4	5
<b>Coeficient de difuzie, D</b> (cm <sup>2</sup> /s)	4,06E-05	3,79E-05	2,51E-05	4,33E-05	5,17E-05
<b>Coeficient de corelație, R</b>	0,9961	0,9922	0,9907	0,9966	0,9965

Coeficienții de difuzie, de același ordin de mărime, variază între  $2,51 \cdot 10^{-5}$  cm<sup>2</sup>/s și  $5,17 \cdot 10^{-5}$  cm<sup>2</sup>/s, observându-se un coeficient maxim de difuzie pentru microemulsia ME 5. Eliberarea miconazolului din sistemele proiectate este dependentă de compoziția acestora și influențată de solubilitatea substanței active în cele două faze ale microemulsiei (faza uleioasă și faza apoasă), dar și de efectul stabilizator al surfactantului Tween 20 și a cosurfactantului PEG 400. Prin urmare, eliberarea miconazolului este influențată pe de-o parte de dimensiunea picăturilor fazei dispersate, iar pe de altă parte de vâscozitate care modulează difuzia substanței în timp. Se poate astfel sugera faptul că o creștere a coeficientului de difuzie poate fi justificată de solubilitatea miconazolului în faza uleioasă și amestecul stabilizator, substanța fiind reținută către interfața ulei/apă de unde va difuza rapid în faza apoasă.

Eliberarea miconazolului din microemulsiile inventate se poate observa în profilul de eliberare prezentat în Figura 6 și definit prin cantitate de miconazol cedat pe unitatea de suprafață

(mg/cm<sup>2</sup>) în timp (min), respectiv în profilul de eliberare a miconazolului, validat prin modelul Higuchi și definit prin cantitate de miconazol cedat pe unitatea de suprafață (mg/cm<sup>2</sup>), în funcție de rădăcină pătrată din timp (min<sup>1/2</sup>). Prin modul de alegere a factorilor de formulare se poate controla modul de eliberare a substanței active din microemulsie, în funcție de tipul de afecțiune și de evoluția acesteia.

#### **Scurtă descriere a desenelor:**

Figura 1 prezintă aspectul microemulsiilor inventate cu miconazol 2%, obținute prin procedeul descris anterior, notate a) Exemplul 1-ME 1; b) Exemplul 2-ME 2; c) Exemplul 3-ME 3; d) Exemplul 4-ME 4; e) Exemplul 5-ME 5.

Figura 2 prezintă expuneri grafice ale dimensiunii medii a picăturilor, exprimate ca intensitate (a.u.) funcție de dimensiunea picăturilor (nm) pentru fiecare compoziție descrisă în procedeul de obținere: a) Exemplul 1-ME 1; b) Exemplul 2-ME 2; c) Exemplul 3-ME 3; d) Exemplul 4-ME 4; e) Exemplul 5-ME 5;

Figura 3 prezintă profilele reologice ale microemulsiilor cu miconazol 2% obținute prin procedeul de obținere expus anterior, definite ca tensiune de forfecare (Pa) funcție de viteză de forfecare (s<sup>-1</sup>) astfel: a) Exemplul 1-ME 1; b) Exemplul 2-ME 2; c) Exemplul 3-ME 3; d) Exemplul 4-ME 4; e) Exemplul 5-ME 5.

Figura 4 prezintă imagini ale picăturilor de microemulsie analizate prin studiu goniometric în scopul determinării tensiunii superficiale prin aplicarea modelului "pendant drop", astfel: a) Exemplul 1-ME 1; b) Exemplul 2-ME 2; c) Exemplul 3-ME 3; d) Exemplul 4-ME 4; e) Exemplul 5-ME 5.

Figura 5 prezintă imagini ale picăturilor de microemulsie etalate la nivelul unei suprafețe solide, analizate prin studiu goniometric și aplicarea modelului "contact angle", astfel: a) Exemplul 1-ME 1; b) Exemplul 2-ME 2; c) Exemplul 3-ME 3; d) Exemplul 4-ME 4; e) Exemplul 5-ME 5.

Figura 6 prezintă profile de eliberare a miconazolului din microemulsiile inventate, definite prin cantitate de miconazol cedat pe unitatea de suprafață (mg/cm<sup>2</sup>) în funcție de timp (min), astfel: a) Exemplul 1-ME 1; b) Exemplul 2-ME 2; c) Exemplul 3-ME 3; d) Exemplul 4-ME 4; e) Exemplul 5-ME 5.

Figura 7 prezintă profile de eliberare a miconazolului din microemulsiile inventate, definite prin cantitate de miconazol cedat pe unitatea de suprafață (mg/cm<sup>2</sup>) în funcție de rădăcină pătrată din timp (min<sup>1/2</sup>) prin aplicarea modelului Higuchi, astfel: a) Exemplul 1-ME 1; b) Exemplul 2-ME 2; c) Exemplul 3-ME 3; d) Exemplul 4-ME 4; e) Exemplul 5-ME 5.

### **Avantajele invenției în raport cu stadiul tehnicii**

Aplicarea prezentei invenții aduce următoarele avantaje:

- utilizarea topică a unor microemulsii ulei/apă;
- încorporarea în sistemele dezvoltate și anterior menționate a unei substanțe active cu efect antifungic;
- substanța activă menționată anterior este un antifungic cu structură imidazolică și anume miconazol bază care poate exercita un efect local antifungic la nivelul mucoasei bucale;
- miconazolul bază este încorporat într-o concentrație terapeutică fixă de 2%;
- rezolvarea unor probleme de solubilitate și biodisponibilitate a miconazolului bază, prin utilizarea acidului oleic ca fază uleioasă;
- rezolvarea unor probleme de solubilitate și biodisponibilitate a miconazolului prin utilizarea unei componente cu rol stabilizator și anume Tween 20, singur sau în asociere cu PEG 400;
- includerea PEG 400 cu rol de cosolvent sau cosurfactant determină creșterea stabilității și reducerea dimensiunii picăturilor fazei dispersate;
- proprietățile menționate anterior sunt definitorii pentru profilul de cedare a miconazolului din cele cinci formulări de sisteme propuse;
- mascarea gustului neplăcut al sistemului prin intermediul alegerii unui edulcorant din clasa poliolorilor, și anume xilitolul.
- componenta cu rol stabilizator definită prin asocierea unui surfactant neionic (Tween 20) cu un cosurfactant (PEG 400) este implicată în micșorarea dimensiunii picăturilor, dar poate asigura și o bună etalare la nivelul mucoasei, așa cum a fost sugerat în evidențierea proprietăților superficiale;
- în acord cu toate datele menționate, se pot obține sisteme microemulsionate cu proprietăți superioare celor convenționale, prin utilizarea unei metode de obținere facilă, rapidă, cu un consum scăzut de energie.

### **Descrierea detaliată a invenției**

Acidul oleic de origine vegetală reprezintă faza uleioasă selectată pentru solubilizarea miconazolului. Acesta este un acid gras mononesaturat omega 9, cu o largă distribuție în natură, fiind studiat pentru proprietățile deosebite de solubilizare a substanțelor medicamentoase și de promotor al cedării (Padula, C. *et al.*, *Pharmaceutics*, 2018; 10(4):1-10), dar și pentru acțiunea antifungică dovedită și explicată prin mecanisme de inhibiție a filamentării și formării biofilmelor de *Candida albicans*. Asociat în sisteme de tip microemulsie împreună cu agenți stabilizatori și cosolvenți în concentrații adecvate, se poate obține un efect antifungic superior



preparatelor convenționale, dar și o eliberare mărită a substanței active (Yang, T-L. *et al.*, *Pharmaceutics*, 2022; 14(3):1-13). La selecția unei concentrații de 5% conform prezentei invenții, se obțin sisteme cu vâscozitate redusă și o eliberare rapidă a substanței active. După cum a fost demonstrat în studii anterioare ale unor formulări de tip gel, la concentrații mai înalte de acid oleic de 10%, faza uleioasă determină atât o creștere a vâscozității, cât și o reducere a eliberării substanței active din forma farmaceutică (Moreira, T.S. *et al.*, *Pharm. Pharm. Sci.*, 2010; 13(2):286-302).

Tween 20 sau Polisorbat 20, cunoscut și sub denumirea de monolaurat de polioxietilen-20 sorbitan este un surfactant neionic format dintr-un amestec de monoesteri ai copolimerilor acidului lauric cu sorbitolul și anhidridele acestuia. Se prezintă ca un agent vâscos, de culoare galbenă, utilizat pe scară largă în formularea formelor farmaceutice (Zheng, Y. *et al.*, *npj Sci.*, 2023; 7: 1-10). Valoarea HLB = 17 a acestuia este specifică formării microemulsiilor ulei/apă. Concentrația selectată pentru realizarea invenției discutate este de 40%, considerând că domenii de concentrație între 20-45% au fost testate pentru obținerea unor sisteme disperse cu fluconazol cu diferite grade de stabilitate (Nirmala, M.J. *et al.*, *Biotechnol. Appl. Biochem.*, 2013; 60(4):417-429).

Polietilenglicolul 400 (PEG 400) este un polimer al oxidului de etilen, caracterizat prin gradul de polimerizare  $n=400$ . Se prezintă sub forma unui lichid vâscos, hidrofil, cu capacitate bună de solubilizare a medicamentelor. Este solubil în apă, metanol, etanol, acetonitril, benzen și diclorometan, dar insolubil în dietileter și hexan (Kulkarni, V.S. and Shaw, C., *Essential Chemistry for Formulators of Semi-solid and Liquid Dosages*, Academic Press, London, 2016 p. 43-69). PEG 400 poate îndeplini rolul de cosurfactant prin intercalarea la nivelul interfeței ulei/apă, pentru a asigura stabilitatea în formularea micro-/nanoemulsiilor pentru administrare orală, topică la nivelul pielii sau a mucoaselor (Chen, Y.-S. *et al.* *Int. J. Nanomedicine*, 2019; 14: 3601-3613; Monton, C. *et al.*, *J. Drug Deliv. Sci. Technol.*, 2020; 57:1-7). În cadrul invenției propuse acesta a fost selectat în procent de 0% ... 20%.

Xilitolul, polioliol cu cinci atomi de carbon, găsit în mod natural în plante și produs de o serie de bacterii sau fungi, se prezintă ca un solid alb, cristalin sau cu structură granulară, higroscopic, solubil în apă, greu solubil în etanol, 1-butanol, 1-pentanol, acetonă, toluen. Este un agent îndulcitor, înlocuitor al zahărului (Wang, S. *et al.*, *J. Chem. Eng. Data*, 2007; 52:186-188). Xilitolul este apreciat în formularea diferitelor preparate pentru igienă bucală pentru că exercită o serie de proprietăți benefice la nivelul cavității orale și anume inhibarea formării plăcii bacteriene dentare și a dezvoltării *C. albicans* la nivelul mucoasei bucale, stimularea remineralizării țesutului dentar, a secreției salivare și hidratarea mucoasei bucale (Benahmed,

A.G., *et al.* Appl Microbiol. Biotechnol., 2020; 104: 7225-7237). În ape de gură sau paste de dinți poate fi selectat în concentrație de 5% (Subramaniam, P. *et al.*, *Contemp. Clin. Dent.*, 2011; 2(4):287-290; O'Connor, M. *et al.*, *Lett. Appl. Microbiol.*, 2023;76:1-7). A fost selectat pentru microemulsiile preparate în procent de 5%.

Miconazolul bază (Mw=416 g/mol), este un agent antifungic cu structură imidazolică, cu spectru larg, acționând la nivel molecular prin efect de inhibiție a enzimelor 14- $\alpha$  lanosterol demetilază și a peroxidazei, cu efect de destructurare celulară și inhibare a formării biofilmelor rezistente (Sharapova, A. *et al.*, *J. Mol. Liq.*, 2022; 347:1-10). Din punct de vedere fizico-chimic se prezintă ca o pulbere albă, fină, greu solubilă în apă, mult mai greu solubilă decât sarea sa de tip nitrat, dar cu posibilități extinse de îmbunătățire a profilului de solubilitate prin reducerea dimensiunii particulelor și entrapare în sisteme de tip microemulsii, nanoemulsii sau nanoparticule (Shah, R.M. *et al.*, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 2017; 117:141-150; Farooq, U. *et al.*, *Des Monomers Polym.* 2021; 24(1):240-258.). În microemulsiile preparate, miconazolul a fost solubilizat în acid oleic 5% și ulterior omogenizat cu stabilizatorul Tween 20 40%, respectiv cosolventul PEG 400 în proporție de 0% ... 20%. Miconazolul bază a fost integrat în microemulsii în procent de 2% pentru acțiunea antifungică, utilă în tratamentul candidozei orale.

Invenția va fi explicată mai în detaliu prin următoarele exemple:

### **Exemplul 1**

În această invenție s-a cântărit miconazolul bază 2% într-un flacon de sticlă adecvat, utilizând balanța analitică. În etapa următoare, în flaconul cu miconazol s-a adăugat acidul oleic 5% pentru a realiza solubilizarea substanței active. Soluția uleioasă s-a menținut sub agitare magnetică, la temperatura camerei, timp de 1 minut la 500 rpm, apoi la 1000 rpm timp de 2 minute. În continuare, în flaconul cu soluția uleioasă, s-a adăugat cantitativ Tween 20 40%, iar amestecul a fost supus omogenizării sub agitare magnetică la 500 rpm, 10 minute. Procesul de omogenizare a fost continuat prin mărirea vitezei de rotație la 1000 rpm. Pentru a realiza titrarea cu fază apoasă, s-a preparat o soluție apoasă conținând xilitol 5%. Într-un pahar Berzelius adecvat, s-a cântărit xilitolul, iar cantitatea corespunzătoare de apă distilată 48% s-a adăugat peste îndulcitor. Xilitolul s-a dizolvat în apă prin agitare cu o baghetă de sticlă. Soluția rezultată s-a adăugat peste amestecul anterior prin titrare, până la obținerea a 20 g microemulsie cu aspect opalescent, codată ME 1.

**Exemplul 2**

Microemulsia ulei în apă cu miconazol 2% notată ME 2, a fost obținută aplicând metoda descrisă la Exemplul 1, exceptând faptul că după adăugarea Tween 20 40%, s-a introdus cosurfactantul PEG 400 5%. Procentul de fază apoasă a fost redus astfel la 43%. S-a obținut un sistem cu aspect similar celui prezentat în Exemplul 1.

**Exemplul 3**

Microemulsia ulei în apă cu miconazol 2% notată ME 3, a fost obținută aplicând metoda descrisă la Exemplul 1, exceptând faptul că după adăugarea Tween 20 40% s-a introdus cosurfactantul PEG 400 10%. Procentul de fază apoasă a fost redus astfel la 38%. S-a obținut un sistem cu aspect similar celui prezentat în Exemplul 1 și Exemplul 2.

**Exemplul 4**

Microemulsia ulei în apă cu miconazol 2% notată ME 4, a fost obținută aplicând metoda descrisă la Exemplul 1, exceptând faptul că după adăugarea Tween 20 40% s-a introdus cosurfactantul PEG 400 15%. Procentul de fază apoasă a fost redus astfel la 33%. S-a obținut un sistem cu aspect clar.

**Exemplul 5**

Microemulsia ulei în apă cu miconazol 2% notată ME 5, a fost obținută aplicând metoda descrisă la Exemplul 1, exceptând faptul că după adăugarea Tween 20 40% s-a introdus cosurfactantul PEG 400 20%. Procentul de fază apoasă a fost redus astfel la 28%. S-a obținut un sistem cu aspect similar celui prezentat în Exemplul 4.

Sistemele de tip microemulsie ulei în apă cu miconazol au fost obținute în prezenta invenție utilizând o fază uleioasă reprezentată de un ulei de origine vegetală, o fază apoasă și diferite amestecuri de stabilizatori, iar proprietățile organoleptice ale acestora au fost ajustate cu ajutorul unui edulcorant. Rezultatele pozitive ale evaluărilor fizico-chimice și biofarmaceutice le indică ca potențiale preparate utile pentru tratamentul candidozei orale.

## REVENDICĂRI

1. Sistem de tip microemulsie ulei în apă cu miconazol bază 2% elaborat pentru acțiune locală în candidoza oromucozală, **caracterizat prin aceea că** prezintă următoarea compoziție exprimată procentual și raportată la 20 g de produs final și anume: o fază uleioasă de origine vegetală și anume acid oleic 5%, un amestec stabilizator compus din Tween 20 40% și PEG 400 0 ... 20%, xilitol 5%, apă distilată 28 ... 48%, în asociere cu o substanță activă antifungică și anume miconazol bază 2%.

2. Procedeu de obținere a microemulsiei ulei în apă cu miconazol, destinată tratamentului candidozei oromucozale, definit prin compoziția din revendicarea 1, **caracterizată prin aceea că** se cântărește miconazolul bază 2% și se solubilizează în acid oleic 5% sub agitare magnetică, iar ulterior se adaugă Tween 20 40%. Peste amestecul nou format se va adăuga cosurfactantul polietilenglicol 400 0 ... 20% sub continuă agitare. Separat se va prepara soluția apoasă de edulcorant, folosind xilitol 5% și apă distilată 28 ... 48% din masa totală a microemulsiei. Soluția de edulcorant se va titra peste amestecul anterior de miconazol cu fază uleioasă și agenți stabilizatori, menținând agitarea până la obținerea a 20 g microemulsie ulei în apă. Rezultă astfel un sistem de tip microemulsie fluid, cu aspect ce variază de la opalescent la clar, prezentând caracteristici fizico-chimice și biofarmaceutice adecvate.

FIGURI

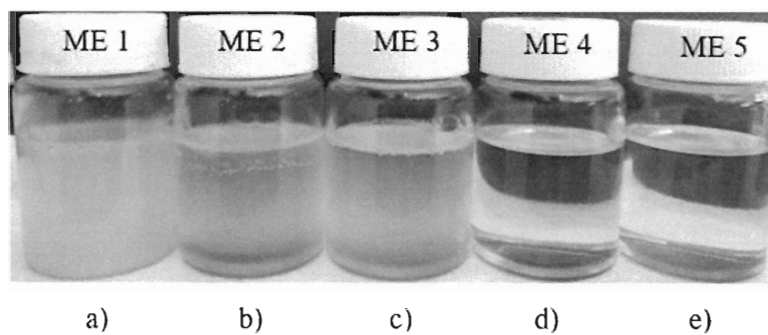


Figura 1

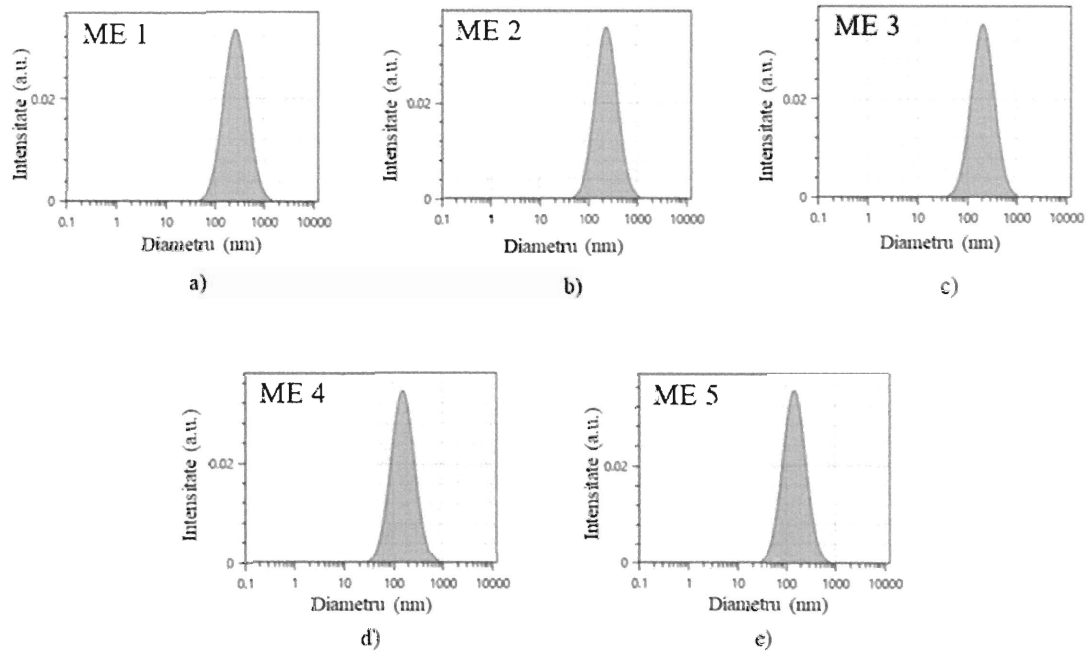


Figura 2

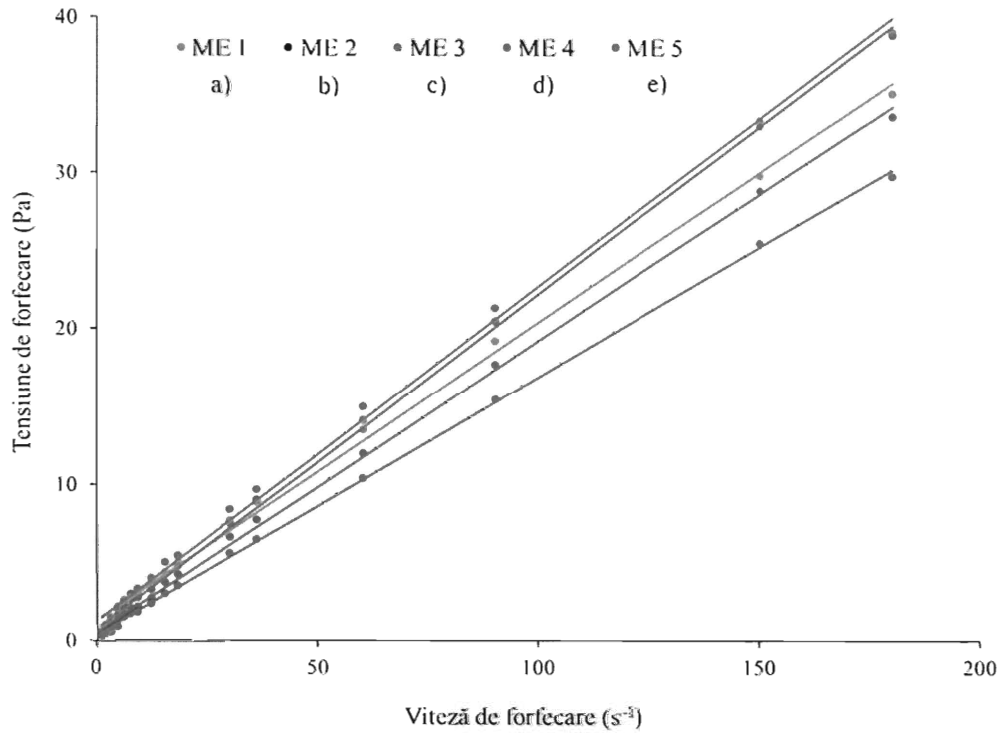


Figura 3

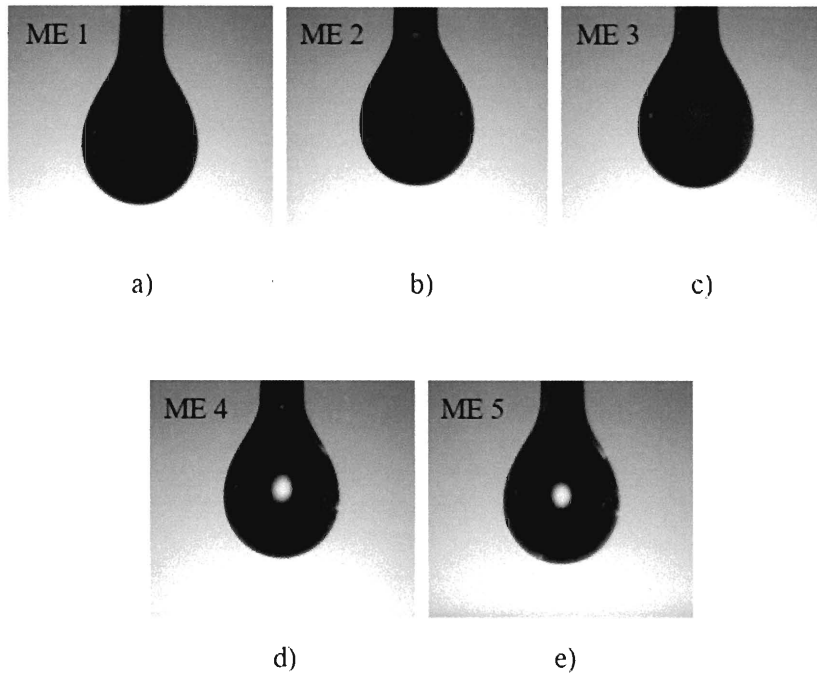


Figura 4



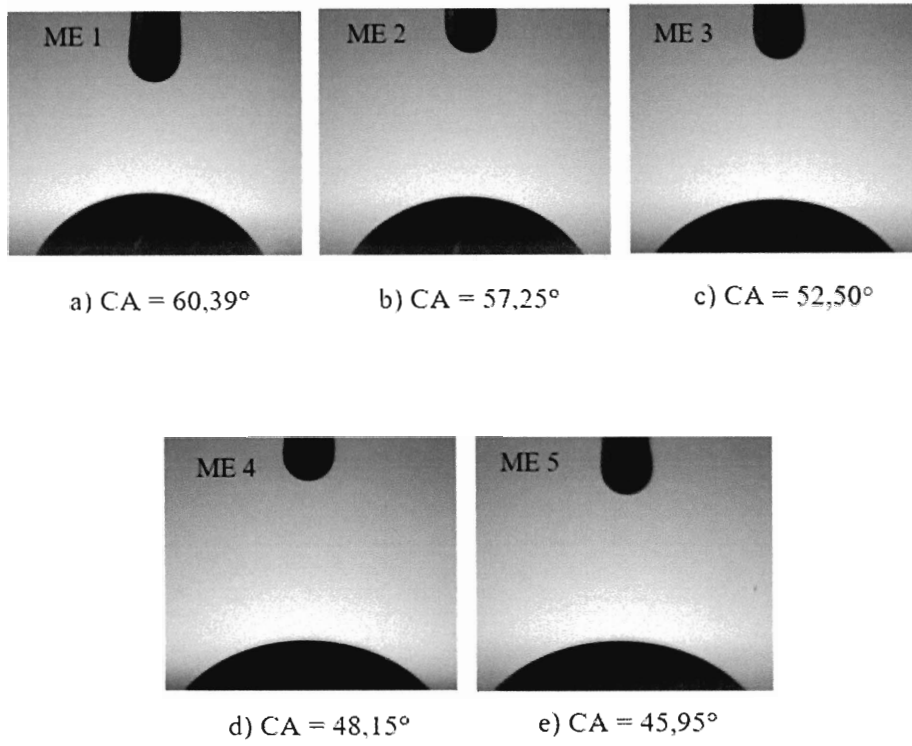


Figura 5

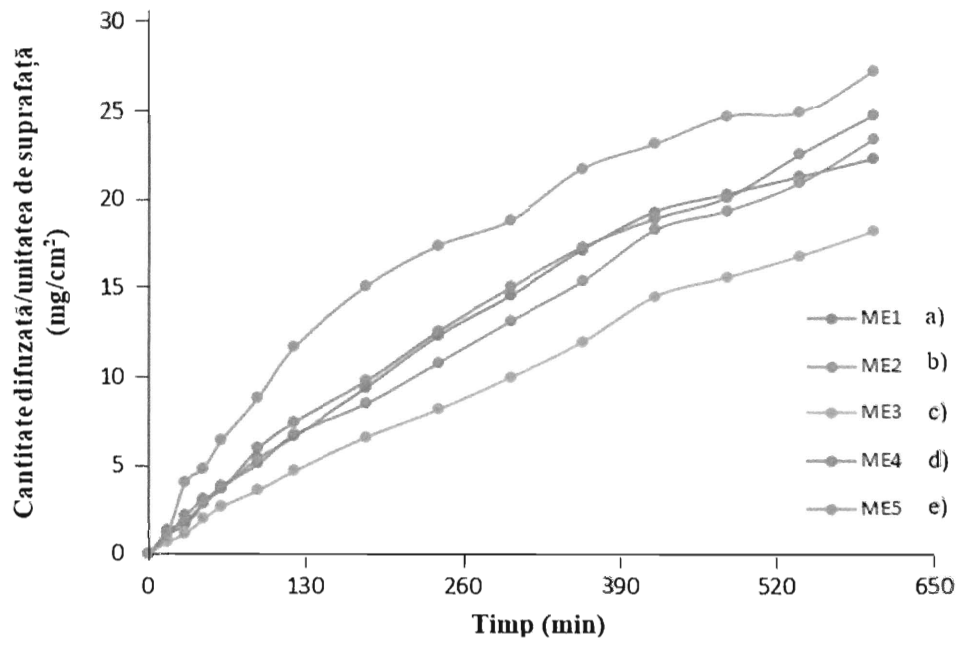


Figura 6

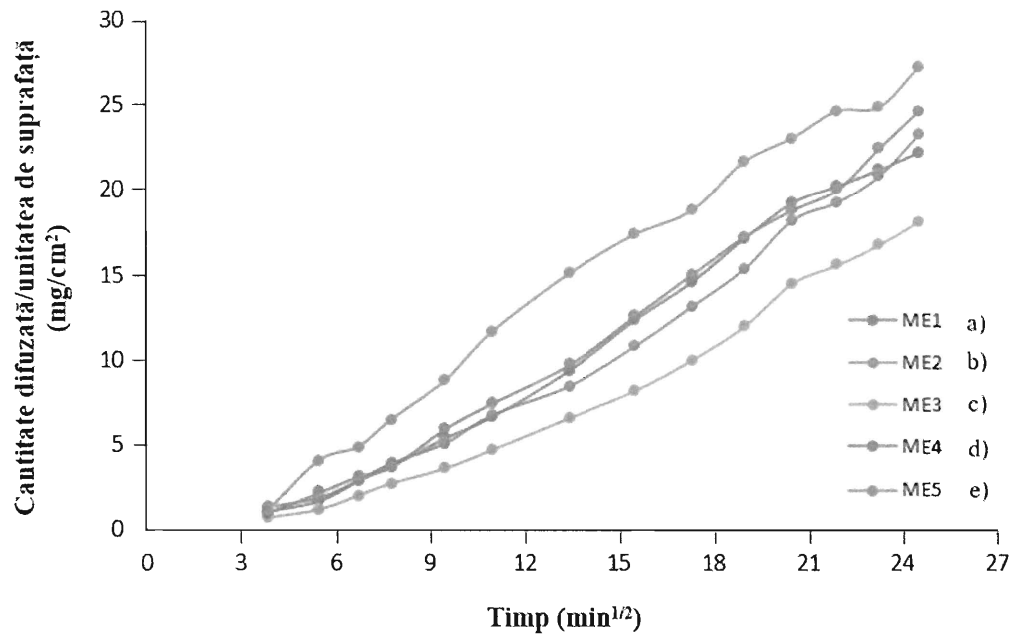


Figura 7