

## ASPECTE FARMACEUTICE AL ISOCONAZOLULUI

<sup>1</sup>Ana Podgornîi, <sup>2</sup>Vladimir Valica, <sup>3</sup>Fliur Macaev, <sup>2</sup>Livia Uncu

<sup>1</sup>Catedra Chimie Farmaceutică și Toxicologică, USMF “Nicolae Testemițanu”

<sup>2</sup>Centrul Științific în Domeniul Medicamentului, USMF “Nicolae Testemițanu”

<sup>3</sup>Institutul de Chimie, AȘM

### Summary

#### *Pharmaceutical aspects of isoconazole*

It was researched the active substance isoconazol nitrate, its published informations. At present, there are many topical pharmaceutical forms with isoconazol that are used for treatment of dermatomycoses. It was highlighted the optimization perspectives of analytical methods and standardization.

### Rezumat

S-a studiat informațiile publicate privind isoconazolul și formele farmaceutice care sunt utilizate în tratamentul dermatomicozelor. Au fost evidențiate direcțiile principale de optimizare a metodelor de analiză și standardizare.

### Actualitatea

Afecțiunile micotice ale pielii afectează aproximativ 25% din populația mondială, în ultimii ani incidența acestora fiind în continuă creștere. Dezvoltarea dermatomicozelor este favorizată de aplicarea noilor metode de tratament cu imunosupresoare: chimioterapia cancerului, transplantul de organe și țesuturi, pandemia virusului HIV etc. Utilizarea produselor cosmetice și igienice ce conțin substanțe cu activitate antimicrobiană pronunțată (dioxidin, triclosan) afectează biocenoza pielii, sporind riscul apariției afecțiunilor dermatologice [9,19].

Cei mai răspândiți agenți patogeni în infecțiile dermice sunt dermatofizii (70%), ciuperci (35%), mucegaiurile. [16,19] În majoritatea cazurilor, tratamentul eficient este realizat cu medicamente din clasa azolilor și alilaminelor în combinație cu preparate din alte grupe farmacologice. Azolii sunt cei mai larg utilizați în practica medicală [16].

Prevalența înaltă și creșterea constantă a incidenței infecțiilor micotice ale pielii și anexelor sale determină un interes continuu în îmbunătățirea permanentă a metodelor de tratament și căutarea unor medicamente mai eficiente, inofensive și calitative.

Optimizarea metodei de sinteză este una din direcțiile importante în realizarea acestui scop. Astfel, în cadrul Laboratorului de sinteză organică Institutului de Chimie, Academia de Științe a Moldovei s-a elaborat o metodă nouă de obținere a derivaților imidazolilor metilcetonelor Econazole și Isoconazole, cu utilizarea lichidelor ionice imidazolice sintetizate în premieră [3]. S-au elaborat trei compuși complecși noi cu Cu(II) și Isoconazol (L), numiți compuși mononucleari:  $CuCl_2(L)_2$ ,  $[Cu(O_2CMe)_2(L)_2] \cdot 2H_2O$  și un polimer  $[Cu(pht)(L)_2]_n$  unde pht - acidul o-ftalic. Compușii sintetizați pot fi analizați prin intermediul spectroscopiei în IR, termogravimetriei și cristalografiei cu raze X [4].

### Scopul

Aprecierea perspectivelor de optimizare a formelor farmaceutice cu conținut de isoconazol și a metodelor de analiză și standardizare al acestora.

### Materiale și metode

Studiul este realizat prin meta-analiza datelor științifice publicate în articolele din revistele de specialitate, ediții periodice, manuale.

## Rezultate și discuții

Imidazolii sunt compuși organici pentaatomici heterociclici cu conținut de azot care sunt utilizați predominant topic (isoconazol, bifonazol, clotrimazol, ketoconazol etc.).

Isoconazol nitrat manifestă acțiune antimicotică și antibacteriană. Este efectiv în infecțiile cu dermatofiți (*Trichophyton*, *Microsporum*, *Epidermophyton*), fungii, levuri (*Candida spp.*) și mușegai (*Aspergillus spp.*), bacterii Gram pozitive (*Stafilococcus aureus*, *Corynebacterium minutissimum*). Acțiunea fungistatică se realizează prin împiedicarea biosintezei unor componente vitale ale membranei celulare. El acționează prin inhibarea enzimei dependente de citocromul P450 14- $\alpha$  demetilaza, care catalizează reacția de transformare a lanosterolului în ergosterol. Ergosterolul este un compus vital important pentru asigurarea integrității celulare ale fungilor. Lipsa lui determină alterarea permeabilității membranei celulare și oprirea diviziunii celulare. Cumularea sterolilor anormali duce la fragilitatea peretelui celular [7,12,18,20]. În general, rata rezistenței la tratamentul cu azoli este destul de joasă pentru *Candida spp.*, și variază în limitele 1%-2,1% [11].

Acțiunea bacteriostatică și bactericidă a isoconazolului este determinată de creșterea concentrației intracelulare a compușilor activi cu oxigen în urma stresului oxidativ care distruge structurile celulare și determină apoptoza, moartea celulei. Este remarcabil faptul că isoconazolul este efectiv în infecții provocate de *Stafilococcus aureus* multirezistent [1,16].

Azoli au capacitatea de a inhiba hemooxigenaza- enzimă ce participă la metabolizarea hemoglobinei prin catalizarea reacției de transformare a hemului în biliverdină, cu eliminarea monoxidului de carbon [13].

Isoconazolul traversează membrana celulară datorită lipofilității marcate. La aplicarea locală se realizează concentrații înalte în epidermă unde se menține timp îndelungat fără a se metaboliza. În pielea afectată se realizează o concentrație de 5 ori mai înaltă decât în cea sănătoasă. În circuitul sistemic ajunge mai puțin de 1 %, după 4 ore. El poate fi detectat în țesuturi până la 2 săptămâni după ultima administrare. Concentrația realizată în circuitul sistemic la aplicarea topică a isoconazolului este prea mică pentru analiza metabolismului și excreției, de aceea s-a studiat izotopul radioactiv al isoconazolului care a fost injectat voluntarilor sănătoși. Medicamentul este complet metabolizat în acid 2,4- dichloromandelic și 2-(2,6-diclorobenzoxiloxi)-2-(2,4-diclorofenil)-acetic și eliminat rapid. O treime este eliminată cu urină și două treimi prin bilă. Timp de 24 de ore, 75% din doza administrată se elimină sub formă de metaboliți [16,21].

Din punct de vedere al proprietăților fizice, isoconazolul nitrat se prezintă ca o pulbere albă sau aproape albă, foarte puțin solubilă în apă, solubilă în metanol și foarte bine solubilă în alcool. Identificarea se realizează prin determinarea punctului de topire (178°C-182°C), reacției pentru ionul nitrat, de asemenea cu ajutorul metodei spectrofotometrice IR și cromatografiei pe strat subțire(CSS). Pentru analiza cromatografică se prepară soluția test și cea de referință cu ajutorul metanolului. Developantul este un amestec compus din soluție de acetat de amoniu, dioxan, metanol (20:40:40). Se revelează cu vapori de iod, iar spoturile pot fi analizate la lumina zilei.

Impuritățile specifice care pot fi prezente în isoconazol: (1*RS*)-1-(2,4-dichlorophenyl)-2-(1*H*-imidazol-1-yl)ethanol, (2*RS*)-2-[(2,6-dichlorobenzyl)oxy]-2-(2,4-dichlorophenyl)ethanamine și 1-[(2*RS*)-2-[(2,4-dichlorobenzyl)oxy]-2-(2,4-dichlorophenyl)ethyl]-1*H*-imidazole [5,6], pot fi determinate prin metoda HPLC care poate fi considerată ca una de perspectivă [17].

Isoconazolul nitrat poate fi determinat cantitativ și prin metoda în mediu anhidru cu solvenți protogeni. Substanța analizată este solubilizată în amestecul format dintre acid acetic glacial și metiletiletona (1:7) și titrată cu acid percloric. Punctul de echivalență se determină potențimetric [5,6]. De asemenea această substanță poate fi determinată cantitativ în formele farmaceutice prin metoda de cromatografiei de lichide de înaltă performanță [17].

Pentru identificarea și dozarea isoconazolului din forme farmaceutice se poate utiliza metoda HPLC. Faza mobilă este amestecul dintre acetonitril și acetat de amoniu 0,5M (70:30), cu ajustarea pH-ului la 6 prin intermediul acidului fosforic. Se detectează prin absorbție în UV la  $\lambda$  254 nm. Metoda este liniară pentru concentrațiile de la 50% la 150%. S-a demonstrat ca solventul și compușii adjuvanți utilizați în formularea produselor medicamentoase nu interferează cu substanța analizată, ceea ce demonstrează selectivitatea testului. [2].

Identificarea simultană a diflucortolon valerate și isoconazol nitrat în cremă a fost realizată prin cromatografie în faza inversă. Pentru o separare optimă: faza mobilă este compusă din metanol și apă (95:5). S-a măsurat absorbanta la lungimi de undă în intervalul 240-298 nm. S-a determinat absorbanta maximă la 247,8 nm pentru diflucortolone valerat și 240,2 nm pentru isoconazol. Pentru combinația în metanol apă (3:1), liniaritatea metodei este în limitele 4,00-48,00 mcg/mL pentru diflucortolon valerate și 50,0-500 mcg/mL pentru isoconazol nitrat. Această metodă este validată pentru analiza combinației sintetice [22].

Separarea efectivă a enantiomerilor a tioconazolului, isoconazolului și fenticonazolului a fost realizată prin cromatografia electrocinetică micelară cu ciclodextrina modificată (CD-MEKS), prin combinarea a 2 ciclodextrine accesibile: HP- $\gamma$ -CD, DM- $\beta$ -CD (35mM:10mM) ca selectori chirali, în combinație cu electrolit complex format din soluție tampon fosfat (pH 7), 50mM dodecilsulfat de sodiu și 15% acetonitril. Măsurările se desfășoară la 30°C, timp de 15 min. Metoda este liniară în limitele 25-200mg l (-1) și limitele de detecție (S/N=3) a 3 imidazoli este determinat 2,7-7,7 mg l (-1). Metoda este aplicată cu succes pentru determinarea acestor trei imidazoli din lichidele biologice și forme farmaceutice (93,6-106,2%) [23].

Pe piața farmaceutică isoconazolul este prezent în forme farmaceutice externe. Pentru prima perioadă a tratamentului dermatomicozei se utilizează cremă cu compoziție mixtă, cu valearului de diflocortolon (corticosteroid), apoi se continuă cu crema cu conținut doar de isoconazol. Pentru tratamentul candidozei vaginale se utilizează ovule vaginale monocomponente în priză unică sau repetată în dependență de tabloul clinic.

Studiile demonstrează că utilizarea isoconazolul are rezultate mai bune în tratamentul infecțiilor antifungice decât latexul vegetal din *Asclepias curassavica*. Preparatele combinate a isoconazolului (antifungic) și valearului de diflocortolon (corticosteroid) au rezultate clinice mai bune decât preparatul monocomponent cu isoconazol, deoarece substanțele acționează sinergic și se potențează reciproc, mai ales în cazurile cu eritem și prurit pronunțat [10,14,15].

## Concluzii

Sinteza complexă a rezultatelor cercetărilor efectuate a permis evidențierea principalelor direcții de optimizare a metodelor de analiză și standardizare a formelor farmaceutice cu conținut de isoconazol, inclusiv și în aspectul trasării unor noi perspective de utilizare a isoconazolului ca remediu antifungic și antimicrobian.

## Bibliografie

1. Czaika V. A., Siebenbrock J., Czekalla F., Zuberbiel T., Sieber M. A.. Reactive oxygen species and the bacteriostatic and bactericidal effects of isoconazole nitrate. *Mycoses*, 2013 (Suppl. 1), 16-22 p.
2. Dayyih A., Alsaadi N., Hamad M., Mallah E., Matalka K., Arafat T.. Development and validation of HPLC method for some azoles in pharmaceutical preparation. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* Vol 3, Issue 10, 2012. 3686-3692 p.
3. Duca Gh.. Chimia la interfața timpurilor. *Rev. Akademos*, 2011, N1(20) martie, 7p.
4. Dulcevscaia G.; Kravtsov V. Ch.; Macaev F. Z.; Duca Gh.G.; Stingachi E.P.; Pogrebnoi S.I.; Boldescu V.V.; Clapco S. F.; Tiurina J. P.; Deseatnic-Ciloci A. A.; Lipkowski J.; Shi-Xia Liu; Decurtins, S.; Baca, S. G. New Copper(II) Complexes with Isoconazole: Synthesis, Structures and Biological Properties. *Polyhedron*, 2012, 48, p.9.

5. Farmacopeea Britanică, 2012.
6. Farmacopeea Europeană, ed. 3RD, 2001.
7. Fromtling R.A. Overview of medically important antifungal azole derivatives. Clin Microbiol Rev. 1988, april N1 (2), 187-217 p.
8. Giordani R., Moulin- Traffort J., Regli P. Glycosidic activities of Candida albicans, after action of vegetable latex saps (natural antifungals) and isoconazole (synthetic antifungal). Mycoses, 1991, 34, 67-73 p.
9. Havlickova B., Czaika V.A., Friedrich M. Epidemiological trends in skin mycoses worldwide. Mycosis 2008; 51 (Suppl. 4): 2–15p.
10. Havlickova B., Friedrich M. The advantages of topical combination therapy in the treatment of inflammatory dermatomycoses. Mycoses, 2008, 51 (suppl. 4), 16-26 p.
11. Kanafani Z.A., Perfect J.R. Resistance to Antifungal Agents: Mechanisms and Clinical Impact. Clinical Infectious Diseases, 2008, N 46, 120-128 p.
12. Kessler H-J. Microbiological studies with isoconazole nitrate, a broad-spectrum antimycotic from the group of imidazole derivatives. Drug Res 1979; 29-37p.
13. Kinobe R. T., Dercho R. A., Vlahakis J. Z., Brien J. F., Szarek W. A., Nakatsu K. Inhibition of the Enzymatic Activity of Heme Oxygenases by Azole-Based Antifungal Drugs. The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 2006, vol.319, N 1, 277-284 p.
14. Kye Y. Successful treatment of tinea pedis with a topical agent containing isoconazole nitrate and diflucortolone valerate. Mycoses, 2008, 51 (suppl 4), 48-49 p.
15. Veraldi S., Persico M.C., Schianchi R. Isoconazole nitrate vs isoconazole nitrate and diflucortolone valerate in the treatment of tinea inguinalis: results of a multicenter retrospective study. J. Drugs Dermatol., 2012, Nov, 11 (11), 70-73 p.
16. Veraldi S. Isoconazole nitrate: a unique broad-spectrum antimicrobial azole effective in the treatment of dermatomycoses, both as monotherapy and in combination with corticosteroids. Mycoses, 2013 (Suppl. 1), 3-15 p.
17. Wael Abu Dayyih, Noor Al saadi, Mohmad Hamad, Eyad Mallah, Khalid Matalka and Twafiq Arafat Development and validation of HPLC method for some azoles in pharmaceutical preparation, International Journal Pharmaceutical Science and Research, 2012; Vol. 3(10): 3686-3692 p.
18. Белоусова Т.А., Горячкина М.В., Грязева Т.М. Принципы наружной терапии дерматозов сочетанной этиологии. Дерматология 2011.
19. Босак И.А., Котрехова Л.П. Действие изоконазола в отношении избранных бактерий, Проблемы медицинской микологии, 2010, Т.12, №4: 49-51 с.
20. Васильева Н.В., Разнатовский К.И., Котрехова Л.П. и др. Результаты многоцентрового наблюдательного проспективного исследования по оценке эффективности, безопасности и переносимости крема травоген (изоконазол) и крема травокорт (изоконазол, дифлукортолон) у больных ограниченными микозами кожи разной этиологии и локализации. Проблема медицинской микологии. 2009; 11 (1): 2–7 с.
21. Хрянин А.А., Решетников О.В.. **Комбинированная местная терапия бактериально грибковых инфекций кожию** Клиническая дерматология и венерология, 2011 N.4, 84-89 с.
22. Ibrahim W., Wahib A. SM, Hermanwad D, Sanagi MM. Separation of selected imidazole enantiomers using dual cyclodextrin system in micellar electrokinetic chromatography. Wiley Periodicals, 2013, 25(6), 328-363 p.
23. Karacan E., Caqayan MG., Palabiyik IM., Onur F. Liquid chromatographic and spectrophotometric determination of diflucortolone valerate and isoconazole nitrate in creams. 2011, N.94(1), 128-163 p.