

REZUMATE POSTERE

(în ordinea alfabetică a primului autor)

Îmbunătățirea adnotării peptidelor și a glico-localizării folosind disocierea activată de electroni - Un experiment design

Asist. Univ. Dr. Farm. Felicia ANDREI^{1,2},
Prof. Dr. Farm. Anca DRAGOMIRESCU¹

¹Departamentul I, Facultatea de Farmacie,
Universitatea de Medicina și Farmacie
„Victor Babeș”, Timișoara, România

²Spitalul Clinic Județean de Urgență „Pius Brînzeu”,
Timișoara, România

În acest studiu, prezentăm o abordare nouă pentru a îmbunătăți acuratețea adnotării peptidelor și localizarea precisă a situsurilor de glicozilare în proteine, utilizând disocierea activată de electroni (EAD).

Odată cu creșterea semnificației modificărilor post-tranlaționale în înțelegerea proceselor biologice, obiectivul nostru principal a fost să dezvoltăm un design experimental, centrat pe EAD. Ne-am propus să optimizăm parametrii, să validăm metoda pe diverse probe de proteine și să evaluăm performanța acesteia în comparație cu tehnicile existente. Cadrul metodologic a fost elaborat cu meticulozitate, testat riguros și justificat cu atenție.

Rezultatele au demonstrat eficacitatea abordării. Analizele comparative au relevat avantajele față de alte tehnici consacrate, subliniind potențialul său în avansarea cercetării proteomice și aplicabilitatea sa în contexte medicale și farmaco-biologice.

În concluzie, cercetarea noastră a abordat cu succes nevoia existenței unor metode îmbunătățite în cercetarea peptidelor, oferind un instrument valoros pentru oameni de știință și cercetători din diverse domenii ale medicinei sau farmaciei.

Improving peptide annotation and glyco localisation using electron activated dissociation - A design experiment

Assist Prof. Felicia ANDREI^{1,2},
Prof. Anca DRAGOMIRESCU¹

¹Department I, Faculty of Pharmacy, University of
Medicine and Pharmacy, Timisoara, Romania

²“Pius Brinzeu” County Emergency Hospital,
Timisoara, Romania

In this study, we present a novel approach to enhance the accuracy of peptide annotation and the precise localization of glycosylation sites within proteins, employing electron activated dissociation (EAD).

With the ever-increasing significance of post-translational modifications in understanding biological processes, our primary objective was to develop an experimentally design, centered on EAD. We aimed to optimize the parameters, validate the method on diverse protein samples, and assess its performance in comparison to existing techniques. The methodological framework was meticulously developed, rigorously tested thoughtfully justified.

The results demonstrated the effectiveness of this approach. Comparative analyses revealed its advantages over other established techniques, underlining its potential in advancing the field of proteomic research and its applicability in medical and pharmaco-biological contexts.

In conclusion, our research has successfully addressed the need for improved methods in peptide research, offering a valuable tool for scientists and researchers in various medicine or pharmacy domains.





Dezvoltarea și caracterizarea unor comprimate ce conțin dispersii solide de amiodaronă clorhidrat în matrici de polimeri

Conf. Dr. Farm. Pr. Ancuța Cătălina FIȚA,
Conf. Dr. Habil. Farm. Pr.
Emma Adriana OZON,
Prof. Dr. Farm. Dumitru LUPULEASA

Disciplina de Tehnologie Farmaceutică și Biofarmacie, Facultatea de Farmacie, Universitatea de Medicină și Farmacie „Carol Davila”, București, România

Prezentul studiu își propune să demonstreze influența tipului și proporției de polimer asupra performanței unor comprimate cu eliberare imediată nou dezvoltate care conțin dispersii solide de amiodaronă obținute prin extrudare prin topire la cald. Douăsprezece dispersii solide ale amiodaronei cu diferiți polimeri (PEG 1500, PEG 4000, PEG 8000, Soluplus și Koliphor 188) au fost dezvoltate și preparate folosind un extruder orizontal realizat de autori în propriul laborator. Doar unsprezece dintre ele au prezentat caracteristici fizice adecvate și au fost utilizate ca ingrediente active în formulări de comprimate care conțin aceleași cantități din aceiași excipienți, variind doar prin tipul de dispersie solidă. Proprietățile dispersiilor solide au fost stabilite prin microscopie optică cu lumină reflectată, caracteristici volumetrice și evaluarea mărimii particulelor. Pentru a demonstra că pulberile complexe au caracteristici fizice adecvate procesului de comprimare directă, acestea au fost supuse diferitelor analize privind curgerea și comportamentul lor de compresibilitate. După confirmarea atributelor farmacotehnice corespunzătoare pentru toate amestecurile, acestea au fost procesate sub formă de tablete prin tehnologia comprimării directe. Comprimatele fabricate au fost evaluate pentru performanțe farmacotehnice (dimensiuni - diametru și grosime, uniformitatea masei, duritate și friabilitate) și biofarmaceutice *in vitro* (timp de dezintegrare și eliberare a medicamentului). În plus, a fost determinată influența matricei polimerice asupra calității acestora. Diferențele mari în proprietățile de curgere și compresie ale dispersiilor solide dovedesc influența relevantă a tipului de polimer și calității plasticizante dependente de concentrație. S-a putut observa

creșterea caracteristicilor de curgere și compresibilitate ale dispersiilor solide, după combinarea acestora cu excipienții direct compresibili care dețin calități mecanice superioare. Influența tipului de polimer este cel mai bine detectată în testul de dezagregare, unde valorile obținute sunt destul de diferite între formulările studiate. Utilizarea PEG 1500 singur sau combinat în diferite proporții cu Soluplus® duce la o dezagregare rapidă. Viteza de dizolvare după 60 de minute este în conformitate cu cerințele USP pentru toate cele unsprezece serii, variind între 91,7% (F9 bazat pe PEG 4000 și Soluplus® în raport de masă 3:1) și 97,66% (F4 care conține PEG 8000 și Poloxamer 188, în cantități egale). AMH în matrice simplă de PEG 4000/PEG 8000 sau Poloxamer 188 a arătat un profil mai rapid în comparație cu AMH într-un amestec de 50/50 PEG 4000 sau Poloxamer 188.

Rolul probioticelor în ameliorarea tulburărilor motorii într-un model experimental de boală Parkinson la șoarece

Farm. Rez. Anca LUNGU,
Farm. Cristina D. ROTĂRESCU,
Prof. Dr. Farm. Cornel CHIRIȚĂ

Disciplina de Farmacologie și Farmacie Clinică, Facultatea de Farmacie, Universitatea de Medicină și Farmacie „Carol Davila”, București, România

Obiective. În acest studiu, am efectuat cercetări privind legătura dintre creier și intestin și modul în care modificările microbiotei intestinale pot modula simptomele bolii Parkinson (BP).

Obiectivul nostru principal a fost de a investiga efectele probioticelor și ale acidului butiric asupra simptomelor parkinsoniene induse la șoareci, precum și efectele lor adjuvante în asociere cu terapia clasică cu levodopa. Un alt obiectiv a fost obținerea unui model experimental de BP folosind haloperidol, medicament antipsihotic, care prin blocarea receptorilor D2 din nigrostriat, zonă a creierului implicată în coordonarea mișcărilor motorii, induce simptomele caracteristice bolii.

Metode. Cercetarea s-a desfășurat pe perioada a 7 săptămâni, cuprinzând 2 etape și utilizând 84 de animale de experiență.

Inițial, am dezvoltat un model animal de BP prin administrarea de haloperidol, intraperitoneal, zilnic, pe tot parcursul cercetării.

Apoi, după debutul simptomelor motorii, s-a administrat un amestec de probiotice conținând 50 de miliarde de UFC (*Lactobacillus rhamnosus*, *L. plantarum*, *L. casei*, *L. acidophilus*, *Bifidobacterium breve*, *B. bifidum*, *B. longum*, *Lactococcus lactis*, *Streptococcus thermophilus*) și acid butiric. Acestea s-au administrat fie singure, fie amestecul de probiotice sau acidul butiric în asociere cu levodopa, prin gavaj oral, zilnic timp de o lună.

Levodopa a fost utilizată ca substanță de referință, administrându-se zilnic, prin gavaj oral timp de o lună.

Pentru a evalua rezultatele, la fiecare 2 săptămâni, animalele de experiență au fost supuse unui set de teste comportamentale, incluzând testul Activity Cage, Rotarod, Grip Strength și Stride Length Test.

Rezultate. După creșterea dozei de haloperidol de la 1 mg/kgC la 1,5 mg/kgC și mai mult de 2 săptămâni de administrare, haloperidol a produs:

- o scădere cu 54,56% ($p < 0,001$, testul t Student) a AMO și cu 82,05% ($p < 0,001$, testul t Student) a AMV în Activity Cage;
- o creștere de 31,38% (ns, Mann-Whitney) a latenței de a cădea de pe axa de rotație în Rotarod;
- o scădere cu 15,47% (ns, testul t Student) la testul de forță;
- o scădere cu 6,71% ($p < 0,05$, testul t Student) a lungimii pasului.

Cu excepția testului Rotarod, aceste rezultate reprezintă debutul deficitelor motorii la șoareci.

Tratamentul numai cu probiotice a produs modificări reduse după 14 zile de administrare zilnică. Putem spune că aceste rezultate se datorează nevoii probioticelor de a avea un timp mai îndelungat de administrare, astfel încât speciile microbiene să reușească să adere, persiste și să prolifereze la nivel intestinal.

Acidul butiric a restabilit parțial funcția motorie afectată la șoareci. După 14 zile, la Grip Strength, forța de tracțiune a crescut semnificativ față de martor, cu 38,89% ($p < 0,05$, testul t Student).

S-au obținut rezultate pozitive în asocierea dintre levodopa și probiotice, comparativ cu grupul care a primit doar levodopa.

În Activity Cage, asocierea a crescut atât AMO (\uparrow 31,72%, $p > 0,05$) cât și AMV (\uparrow 125,52%, $p > 0,05$). În Rotarod, a fost o creștere semnificativă a latenței, cu 55,12% mai mult decât grupul levodopa ($p < 0,05$, Mann-Whitney).

În Activity Cage, șoarecii tratați cu acid butiric au avut AMO cu 31,60% mai mare și AMV cu 27,49% mai mare comparativ cu șoarecii martor, tratați numai cu haloperidol. În asociere cu L-Dopa, acidul butiric a stimulat activitatea acesteia, AMO a crescut semnificativ în comparație cu grupul levodopa, cu 98,74% ($p < 0,05$, Mann-Whitney) și AMV cu 307,29%. În testul Rotarod, latența de cădere a fost cu 33,27% mai mare în comparație cu grupul care a primit doar levodopa.

Concluzii. Probioticele pot fi o opțiune interesantă și utilă pentru pacienții cu BP, care pe lângă farmacoterapiile cu medicamente consacrate, ar putea beneficia și de o opțiune mai puțin explorată, dar cu posibile beneficii pe termen lung.

În această cercetare am reușit să obținem rezultate semnificative doar în cazul asocierii probioticelor/acidului butiric cu levodopa. În sprijinul rezultatelor noastre, alte cercetări au arătat efectul benefic al probioticelor atât asupra simptomelor motorii, cât și non-motorii din boala Parkinson, precum ameliorarea constipației, care în peste 70% dintre cazuri precedă cu mulți ani apariția simptomelor motorii. Mai mult, probioticele au determinat reducerea anxietății/depresiei, durerii și îmbunătățirea mirosului, vederii și somnului, care sunt adesea afectate la acești pacienți.

Sistemul de clasificare a medicamentelor semisolide topice. Criterii și relația cu echivalența farmaceutică extinsă

Flavian-Ștefan RĂDULESCU,
Dalia-Simona MIRON,
Dumitru LUPULEASA,
Horațiu-Marius VIZITEU

Centrul de Științele Medicamentului, Laboratorul de Biofarmacie, Facultatea de Farmacie, Universitatea de Medicină și Farmacie „Carol Davila”, București, România

Medicamentele semisolide topice reprezintă forme farmaceutice speciale, cu mecanisme de eliberare și interacțiuni complexe în contact cu barierele biologice la nivelul cărora se realizează administrarea. Excipientii pot determina schim-



bări ample ale microstructurii vehiculului ca urmare a stresului mecanic și termic, cu modificări consecutive ale rezistenței difuzionale și ale vitezei de cedare. În același timp, pot juca un rol activ în modificarea permeabilității barierei și în răspunsul terapeutic obținut. Evaluarea comparativă prin studii cu obiective clinice rămâne abordarea majoră pentru evaluarea biodisponibilității și demonstrarea bioechivalenței, în lipsa unor metode adecvate de determinare a expunerii locale. În anul 2014, doctorul Vinod P. Shah a propus un sistem de clasificare a medicamentelor semisolide topice, prin analogie cu sistemul de clasificare biofarmaceutică. Prin înlocuirea termenilor de solubilitate și permeabilitate cu echivalența compoziției calitative-cantitative și similaritatea performanțelor *in vitro*, noul sistem abreviat TCS (Topical drug Classification System) ar putea fi utilizat ca un instrument simplu de evaluare și înregistrare rapidă a produselor generice. Prezentarea va include evoluția conceptului de clasificare, relația cu ghidurile emise de autoritățile de reglementare și rolul central al testelor de cedare *in vitro*.

Topical drug Classification System. The criteria and the relationship with the extended pharmaceutical equivalence concept

Flavian-Stefan RADULESCU,
Dalia-Simona MIRON,
Dumitru LUPULEASA,
Horatiu-Marius VIZITEU

Center for Drug Sciences, Biopharmaceutics
Laboratory, Faculty of Pharmacy, "Carol Davila"
University of Medicine and Pharmacy, Bucharest,
Romania

The topical semisolid drug products represent special dosage forms, with complex release mechanisms and interactions once in contact with the biological barriers where the administration is performed. The excipients can trigger ample changes of the microstructure of the vehicle because of the mechanical and thermal stress, with consequent modifications of the diffusional resistance and of the release rates. At the same time, they can play an active role in changing the permeability of the barrier and the resulting therapeutic outcome. The comparative evaluation by clinical endpoint studies remains the main approach for the assessment of bioavailability and demonstration of bioequivalence. In 2014, Dr. Vinod P. Shah proposed a topical drug classification system, in analogy with the Biopharmaceutics drug Classification System. By replacing the solubility and permeability terms with the equivalence of qualitative-quantitative composition and the similarity of *in vitro* performance, the new TCS (Topical drug Classification System) could be utilized as a simple evaluation and rapid registration tool for generic products. The presentation will include the evolution of the classification concept, its relationship with the draft guidance documents issued by the regulatory authorities and the central role of the *in vitro* release tests.
