

**MINISTERUL SĂNĂTĂȚII, MUNCII ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AL REPUBLICII MOLDOVA
UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„NICOLAE TESTEMIȚANU”**

Cu titlu de manuscris
CZU: 615.281:615.454.1.07

DONICI ELENA

**ELABORAREA, ANALIZA ȘI STANDARDIZAREA
FORMELOR FARMACEUTICE COMBinate
CU CONȚINUT DE IZOHIDRAFURAL**

316.01. FARMACIE

Rezumat al tezei de doctor în științe farmaceutice

CHIȘINĂU, 2020

Teza a fost elaborată în cadrul Catedrei de chimie farmaceutică și toxicologică a Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” din Republica Moldova.

Conducător științific:

Uncu Livia, dr. șt. farm., conf. univ.

Consultant științific:

Prisacari Viorel, dr. hab. șt. med., prof. univ., membru coresp. al AȘM, Om Emerit

Referenți oficiali:

Adauji Stela, dr. șt. farm., conf. univ., Catedra de farmacie socială „Vasile Procopișin”, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Republica Moldova

Imre Silvia, dr. șt. farm., prof. univ., director departament, Departamentul de Științe Farmaceutice Fundamentale, Universitatea de Medicină, Farmacie, Științe și Tehnologie „George Emil Palade”, Târgu Mureș, România

Membri ai consiliului științific specializat:

Valica Vladimir, președinte, dr. hab. șt. farm., prof. univ.

Nistoreanu Anatolie, secretar, dr. șt. farm., prof. univ.

Diug Eugen, dr. hab. șt. farm., prof. univ.

Gonciar Veaceslav, dr. hab. șt. med., prof. univ.

Ciobanu Nicolae, dr. șt. farm., conf. univ.

Cibotari Silvia, dr. șt. farm., conf. cercetător

Ciurba Adriana, dr. șt. farm., prof. univ. (România)

Tagadiuc Olga, dr. hab. șt. med., conf. univ.

Susținerea va avea loc la 20 februarie 2020, ora 14:00, în ședința Consiliului științific specializat **D 316.01-133** din cadrul Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” din Republica Moldova, bd. Ștefan cel Mare și Sfânt, 165, mun. Chișinău, MD 2004.

Teza de doctor și rezumatul pot fi consultate la biblioteca Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” și pe pagina web a ANACEC (www.cnaa.md, www.anacip.md).

Rezumatul a fost expediat la 16 ianuarie 2020.

Secretar științific

al Consiliului științific specializat,
dr. șt. farm., prof. univ.

Nistoreanu Anatolie

Conducător științific,

dr. șt. farm., conf. univ.

Uncu Livia

Autor

Donici Elena

© Donici Elena, 2020

CUPRINS

Repere conceptuale ale cercetării.....	4
Conținutul tezei.....	8
1. Particularitățile utilizării medicamentelor combinate în terapia unor maladii dermatologice.....	8
2. Studiul pieții, preformularea, formularea-optimizarea și tehnologia unguentelor combinate.....	9
2.1. Studiul sortimentului de medicamente dermatologice combinate autorizate în Republica Moldova în perioada 2012–2017.....	9
2.2. Studiul compatibilității fizico-chimice a substanțelor medicamentoase și excipienților.....	11
2.3. Formularea-optimizarea și elaborarea tehnologiei de preparare a unguentului combinat cu conținut de izohidrafural și metiluracil.....	11
2.4. Formularea-optimizarea și elaborarea tehnologiei de preparare a unguentului combinat cu conținut de izohidrafural, metiluracil și benzocaină.....	12
2.5. Formularea-optimizarea și elaborarea tehnologiei de preparare a unguentului combinat cu conținut de izohidrafural și fluocinolon acetonid.....	13
3. Elaborarea metodelor de analiză ale unguentelor combinate.....	14
3.1. Analiza calitativă.....	14
3.2. Analiza cantitativă.....	18
4. Standardizarea și evaluarea acțiunilor antibacteriene, dermato-resorbtive și local-iritante pentru unguentele combinate.....	20
4.1. Standardizarea unguentelor combinate.....	20
4.2. Cercetarea stabilității și determinarea termenilor de valabilitate pentru unguentele combinate.....	20
4.3. Evaluarea acțiunii antibacteriene in vitro a unguentelor combinate.....	21
4.4. Evaluarea acțiunilor local-iritante și dermato-resorbtive ale unguentelor combinate.....	22
Concluzii generale și recomandări.....	23
Bibliografie.....	25
Lista publicațiilor autorului la tema tezei.....	27
Adnotare.....	31
Аннотация.....	32
Annotation.....	33

REPERE CONCEPTUALE ALE CERCETĂRII

Actualitatea și importanța temei

Elaborarea medicamentelor combinate cu conținut de substanțe medicamentoase antibacteriene noi pentru tratamentul bolilor dermatologice infectate cu germeni bacterieni este una dintre direcțiile prioritare de cercetare-dezvoltare din domeniul sănătății și biomedicinii în Republica Moldova (RM). Terapia bolilor dermatologice asociate cu infecții bacteriene rămâne a fi o problemă actuală atât în țara noastră, cât și la nivel mondial, cel puțin din următoarele considerente:

- incidența înaltă a infecțiilor bacteriene. Datele OMS arată că, în fiecare an, în lume, circa 2 mld de oameni suferă de boli infecțioase, dintre care 25% sunt cazuri letale [1]. În RM 55-60% din patologia umană sunt boli infecțioase [2];
- potențialul înalt al microorganismelor de a dezvolta rezistență la antibiotice [2];
- accesibilitatea redusă a remediilor antibacteriene, deoarece în majoritatea cazurilor ele sunt de import [2, 3].

Problemele enumerate ar putea fi soluționate prin elaborarea de noi medicamente dermatologice combinate, din materie primă locală și fără conținut de antibiotice. Astfel, devine destul de actual inițierea cercetărilor în vederea elaborării de noi substanțe medicamentoase și medicamente autohtone, care ar prezenta o acțiune antibacteriană pronunțată și toxicitate joasă. În acest scop, în Laboratorul de infecții intraspitalicești al Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” pe parcursul anilor au fost investigate mai multe substanțe medicamentoase noi, dintre care izohidrafuralul (*izonicotinoilhidrazona aldehidei 5-nitro-2-furanice*). Acest compus organic este un derivat nou din rândul nitrofuranilor cu acțiune antibacteriană pronunțată, toxicitate joasă și stabilitate înaltă [2, 3, 4, 5, 6]. Prezintă un mecanism de acțiune diferit de cel al antibioticelor, care îi conferă un spectru antibacterian larg, în special asupra germenilor bacterieni care au dezvoltat rezistență la antibiotice. Acest principiu activ există deja în câteva forme farmaceutice: soluție pentru uz extern și unguent [2, 3, 4, 5, 6].

Scopul cercetării

Elaborarea, analiza, standardizarea, determinarea activității antibacteriene, acțiunilor local-iritante și dermato-resorbitive ale unguentelor combinate ale izohidrafuralului cu substanțe medicamentoase regenerante, anestezice locale și dermatocorticosteroizi.

Obiectivele cercetării

1. Evaluarea medicamentelor dermatologice combinate pe piața farmaceutică a Republicii Moldova în perioada 2012-2017;

2. Studii de preformulare, formulare-optimizare și elaborarea tehnologiei de producere a unguentelor combinate ale izohidrafuralului cu metiluracil, benzocaină și fluocinolon acetamid;
3. Elaborarea metodelor de analiză calitativă și cantitativă a unguentelor combinate elaborate și validarea metodelor de dozare a substanțelor active din unguentele combinate;
4. Standardizarea și studiul stabilității unguentelor combinate elaborate;
5. Evaluarea activității antibacteriene pentru unguentele combinate elaborate;
6. Evaluarea acțiunilor dermato-resorbtive și local-iritante pentru unguentele combinate;
7. Elaborarea proiectelor Monografiilor Farmacopeice și proiectelor Regulamentelor Tehnologice pentru cele trei forme farmaceutice: unguent combinat cu conținut de izohidrafural și metiluracil, unguent combinat cu conținut de izohidrafural, metiluracil și benzocaină și unguent combinat cu conținut de izohidrafural și fluocinolon acetamid.

Noutatea și originalitatea științifică

În premieră au fost elaborate unguente combinate pentru tratamentul diferitor afecțiuni dermatologice infectate cu germeni bacterieni. De asemenea au fost elaborate și validate metodele de analiză și standardizare, au fost efectuate cercetări privind determinarea acțiunilor antibacteriene *in vitro*, local-iritante și dermato-resorbtive ale unguentelor combinate.

Sinteza metodologiei de cercetare

Au fost utilizate substanțele medicamentoase și cele auxiliare acceptate conform specificațiilor de calitate prevăzute de Farmacopeea Europeană ediția 9.0. Izohidrafuralul a fost sintetizat printr-o metodă originală, cu randamentul optim de sinteză. Cercetarea compatibilității fizico-chimice a fost realizată prin cele mai moderne și eficiente metode: calorimetria cu scanare diferențială (DSC) și spectroscopia în infraroșu cu transformare Fourier (FTIR). Compozițiile optime ale unguentelor combinate au fost stabilite cu ajutorul programelor computerizate: *Modde 13 software* (Sartorius Stedim Data Analytics AB, Umea, Sweden) și *Design Expert software* (versiunea 8.0.7). Acestea au permis fitarea rezultatelor pentru fiecare variabilă dependentă, analiza de varianță ANOVA și obținerea suprafețelor de răspuns. Astfel, cantitatea excipienților a fost stabilită cu exactitate. Pentru analiza unguentelor combinate au fost elaborate metode fizico-chimice sensibile, exacte și performante: cromatografia lichidă de înaltă performanță (HPLC) și spectrofotometria în ultraviolet-vizibil (UV-VIS). Rezultatele obținute au fost prelucrate prin metode statistice, conform prevederilor Farmacopeii Europene ediția 9.0, metodele fiind validate în conformitate cu ghidurile Conferinței Internaționale de Armonizare (ICH). Metoda HPLC a permis analiza concomitentă a substanțelor active din unguent. S-a

determinat termenul de valabilitate pentru fiecare unguent combinat elaborat prin metoda clasică în timp real.

Activitatea antibacteriană *in vitro* a unguentelor combinate a fost determinată prin metoda diluțiilor în serie în mediu nutritiv lichid: bulion peptonat din carne 2% la pH-ul 7,0. În calitate de culturi de referință au fost selectate cele care pot cauza cel mai frecvent infectarea plăgilor, arsurilor, dermatitelor și psoriazisului: *Staphylococcus aureus* (209), *Enterococcus faecalis* (ATCC 25922), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Proteus vulgaris* (HX 19222), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 13883), *Salmonella typhimurium* (ATCC 13311), *Enterobacter cloacae* (ATCC 13047T).

Au fost inițiate și cercetările preclinice, fiind determinate acțiunile dermato-resorbitive și local-iritante ale unguentelor combinate pe șobolani albi. Cercetările au avut loc în Laboratorul de infecții intraspitalicești din cadrul Universității de Stat de Medicină și Farmacie “Nicolae Testemițanu” în baza avizului pozitiv al Comitetului de Etică a Cercetării din cadrul Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” din 04.11.2014.

Problema științifică soluționată

Asocierea substanței medicamentoase antibacteriene, izohidrafural, cu principiile active regenerante, cicatrizante, anestezice locale va contribui la optimizarea tratamentului plăgilor și arsurilor infectate. Combinarea activității antibacteriene a izohidrafuralului și acțiunilor antiinflamatoare, antialergică și antipruritică a fluocinolonului acetonid va permite tratarea mai eficientă a dermatitelor și psoriazisului infectate.

Unguentul combinat cu conținut de izohidrafural și metiluracil prezintă avantajele:

- activitate antibacteriană pronunțată, cu un mecanism de acțiune diferit de cel al antibioticelor, datorită izohidrafuralului, fapt care îi conferă un spectru larg, în special asupra germenilor bacterieni care au dezvoltat rezistență la antibiotice;
- activitate osmotică optimă, datorită polietilenglicolilor, prin care se înlătură exudatul format în prima fază a rănilor și se reduce riscul de infectare;
- proprietăți regenerante, cicatrizante și imunostimulatoare datorate metiluracilului, care stimulează diviziunea și creșterea celulelor.

Unguentul combinat cu conținut de izohidrafural, metiluracil și benzocaină prezintă toate avantajele menționate mai sus, la care se adaugă înlăturarea durerii pacientului, datorită benzocainei, care posedă efect anestezic local pronunțat. Unguentul combinat cu conținut de izohidrafural și fluocinolon acetonid prezintă avantajele: activitate antibacteriană pronunțată datorită izohidrafuralului și acțiuni antiinflamatoare, antialergică, antipruritică datorate fluocinolonului acetonid.

Implementarea rezultatelor științifice

Au fost elaborate proiectele Regulamentelor Tehnologice de producere și Monografiilor Farmacopeice pentru formele farmaceutice elaborate. Rezultatele obținute au fost implementate în secția Forme magistrale a Centrului Farmaceutic Universitar „Vasile Procopișin” a Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” și în cadrul Departamentului Managementul Calității a S.A. Farmaco.

Structura tezei

Teza este expusă pe 129 pagini de text de bază (până la bibliografie) și include: adnotări în limbile română, rusă și engleză, lista abrevierilor, introducere, patru capitole, concluzii generale și recomandări, bibliografie (155 de titluri), 33 anexe, 41 figuri, 39 tabele. Rezultatele obținute au fost publicate în 23 lucrări științifice.

Aprobarea rezultatelor tezei

Rezultatele tezei au fost prezentate și discutate în cadrul următoarelor forumuri științifice naționale și internaționale:

- The 14th International Symposium and Summer School on Bioanalysis (Smolenice, Bratislava, 2014);
- Congresul Național de Farmacie din România „Farmacia – centru al interdisciplinarității științelor vieții” (București, 2016);
- Conferința Națională de Farmacie Clinică “Provocări ale farmacoterapiei contemporane” (București, 2017);
- Conferința științifico-practică cu participare internațională pentru studenți și tineri cercetători consacrată celei de-a 155-a aniversări a V.V. Pidvysotskyi (Odesa, 2012);
- Congresul Național de Farmacie din România cu participare internațională, Viziune și inovație în practica farmaceutică Orizont 2020 (Iași, 2014);
- Congresul Internațional pentru Studenți și Tineri Medici „MedEspera” (Chișinău, 2010; 2012; 2014; 2016; 2018);
- Conferința științifică anuală a cadrelor științifico-didactice, doctoranzilor, studenților și rezidenților USMF „Nicolae Testemițanu” (Chișinău, 2010; 2012; 2013; 2014; 2017);
- Primul congres al Asociației Studenților Farmaciști din Republica Moldova consacrat anului Nicolae Testemițanu (Chișinău, 2017).

Cuvinte cheie: izohidrafural, metiluracil, benzocaină, fluocinolon acetamid, unguent combinat, activitate antibacteriană, optimizare, tehnologie, calitate, standardizare.

CONȚINUTUL TEZEI

1. Particularitățile utilizării medicamentelor combinate în terapia unor maladii dermatologice

Bolile de piele sunt unele dintre cele mai răspândite maladii, care afectează anual milioane de oameni la nivel mondial [1, 7]. Un studiu efectuat în Statele Unite ale Americii arată că, pe parcursul anului 2013, 85 milioane de pacienți au primit consultație medicală pentru cel puțin o maladie cutanată [8]. Prevalența înaltă a bolilor de piele se datorează în primul rând numărului mare și divers de afecțiuni dermatologice, estimat actualmente de către OMS cu aproximativ 3000 [1, 7]. În ultimii ani plăgile, arsurile, psoriazisul și dermatitele rămân a fi unele dintre cele mai frecvente boli de piele [1, 7].

De-a lungul anilor, combinarea mai multor substanțe active într-un singur medicament a prezentat un interes în practica medicală [9, 10]. Astfel, au fost elaborate combinații ale substanțelor medicamentoase în diverse forme farmaceutice pentru diferite scopuri: obținerea sinergismului, reducerea rezistenței la antibiotice, reducerea efectelor adverse, prețuri mai mici etc. [9]. Însă, principalul avantaj al terapiei combinate este mărirea complianței tratamentului datorită comodității administrării de către pacient. Actualmente, se remarcă și o creștere a interesului față de terapia combinată locală în dermatologie. Astfel, există deja multiple asocieri ale antibioticelor de uz extern, glucocorticosteroizilor topici, cicatrizantelor, anestezicelor locale etc. [10].

Literatura de specialitate arată o creștere a interesului față de medicamentele combinate. În special acestea sunt utilizate în afecțiunile dermatologice, tratamentul cărora este complex. Administrarea unui singur medicament în loc de două sau mai multe devine mult mai comodă pentru pacient. De asemenea, se reduce și durata tratamentului, efectele terapeutice fiind atinse mult mai rapid [9, 10].

În ultimii ani plăgile, arsurile, psoriazisul și dermatitele rămân a fi unele dintre cele mai frecvente boli de piele asociate cu infecții. Tratamentul medicamentos al acestor afecțiuni este orientat în primul rând spre înlăturarea țesuturilor devitalizate și a infecției. În cazul unei contaminări cu germeni bacterieni se administrează antibiotice atât local, cât și sistemic. În prezent, medicina se confruntă cu o instalare a rezistenței agenților patogeni la majoritatea antibioticelor. Tot mai des, cercetătorii din întreaga lume îndeamnă spre reorientarea atenției asupra substanțelor medicamentoase antibacteriene [11]. Sunt recomandate de asemenea medicamentele cu acțiune regenerantă și cicatrizantă.

Datele din literatura de specialitate indică faptul că metiluracilul este utilizat în special pentru acțiunea regenerantă. Totodată este inofensiv la administrarea locală și poate fi asociat cu izohidrafuralul din punct de vedere farmacologic. Pe o bază hidrofilă, în care metiluracilul

posedă o biodisponibilitate mai mare, doza recomandată este cuprinsă între 3-5%, pentru cercetările ulterioare fiind selectată cea de 4% [1, 7].

Nu trebuie ignorată nici durerea, care apare imediat ce s-a format o plagă sau arsură și intensitatea căreia depinde de locul și suprafața afectată. Pentru reducerea acesteia se recurge la administrarea anestezicelor locale. Analiza mai multor surse bibliografice de specialitate indică faptul că, benzocaina manifestă cea mai lungă durată a acțiunii anestezice locale și toxicitate redusă. Este asociată cu diverse substanțe medicamentoase în mai multe forme farmaceutice semisolide. Pe excipienți hidrofilii, doza recomandată este între 0,1 și 2%, în cercetările ulterioare fiind selectată cea de 1% [1, 7].

De asemenea se recomandă utilizarea corticoterapiei dermatologice pentru reducerea inflamației și pruritului. În urma analizei bibliografice privind dermatocorticosteroizii, s-a ajuns la concluzia că, fluocinolonul acetonid în concentrația 0,025% are cea mai potentă acțiune antiinflamatoare, iar efectele adverse mineralocorticoide sunt reduse la zero [1, 7, 8].

2. Studiul pieții, preformularea, formularea-optimizarea și tehnologia unguentelor combinate

2.1. Studiul sortimentului de medicamente dermatologice combinate autorizate în Republica Moldova în perioada 2012–2017

Pe parcursul perioadei 2012-2017, în RM au fost înregistrate 205 denumiri de medicamente de uz dermatologic, dintre care 47 au fost combinate. Deși pe piața farmaceutică a RM au predominat medicamentele topice monocomponente (77,1%) față de cele multicomponente (22,9%), s-a atestat o creștere cu circa 57,0% a medicamentelor înregistrate combinate de la 7 denumiri în 2012 la 47 denumiri în 2017 [12, 13]. Majoritatea medicamentelor autorizate au fost din import, volumul producției locale fiind de aproximativ 3 ori mai mic. Pe parcursul perioadei 2012–2017, în țara noastră, au fost autorizate 36 denumiri de medicamente combinate de uz extern, cutanat din importul a 13 țări, principalele fiind: Rusia, Ucraina și România, împreună constituind jumătate din producția existentă pe piață. Producătorul autohton cu cele mai multe medicamente dermatologice combinate a fost Farmaprim SRL – 8 denumiri, fiind urmat de Universal-Farm SRL – 2 denumiri și Beta SRL – 1 denumire (Tabelul 2.1).

Tabelul 2.1. Medicamentele dermatologice combinate autohtone înregistrate în Republica Moldova la 27.12.2017

Denumirea comercială	Denumirea Comună Internațională	Forma farmaceutică	Data înregistrării	Cod ATC
Farmaprim SRL				
Dixipantol	Dexpanthenol + Chlorhexidinum bigluconat	Cremă	09.08.2012	D08AC52
Glametazon	Betamethasonum + Acidum salicylicum	Unguent	28.02.2013	D07XC01
Cloromicol	Chloramphenicolum + Methyluracilum	Unguent	20.03.2013	D06C
Wishnevsky	Gudron de mesteacăn + Xeroform	Liniment	20.03.2013	D08AX
Cloromicol-S	Chloramphenicolum + Methyluracilum+Sulphadi metoxinum+Trimecaini hydrochloridi	Unguent	16.09.2013	D06C
Exocort	Hydrocortisonum + Oxytetracyclinum	Unguent	24.02.2014	D07CA01
Jojoderm	Zinci oxidum + Oleum seminis Simmondsiae chinensis	Unguent	28.05.2014	D02AB
Klyntopic	Clindamycinum + Benzoyl peroxidum	Gel	22.01.2015	D10AF51
Universal-Farm SRL				
Levobior	Chloramphenicolum + BioR	Unguent	16.07.2013	D03AX
L-mecol	Chloramphenicolum + Methyluracilum	Unguent	16.09.2013	D03AX
Beta SRL				
Anticlavus	Viridum nitens + Acidum salicylicum	Soluție cutanată	20.03.2013	D11AF

În perioada 2012–2017, în RM au fost înregistrate medicamente dermatologice combinate sub diferite forme farmaceutice, fiind predominante cele semisolide: unguente, creme și geluri. Unguentele au ocupat aproape jumătate din arsenalul înregistrat. Acestea sunt urmate de creme, geluri, soluții cutanate, aerosoli dermatologici și linimente [12, 13]. Majoritatea medicamentelor dermatologice combinate au prezentat asocieri dintre antibiotice și corticosteroizi cutanați – 9 denumiri, la care se alătură 7 denumiri, care conțin în plus și antifungice. Urmează combinațiile dintre antibiotice și regenerante – 5 denumiri, la care se adaugă încă 2 denumiri ce conțin suplimentar anestezice locale [12, 13]. De asemenea au fost înregistrate 2 denumiri ce conțin asocieri dintre antibiotice ale diverselor grupe farmacologice, dar și o denumire ce combină un antibiotic cu un anestezic local.

Potrivit datelor obținute, 55% medicamente dermatologice combinate înregistrate în RM în perioada 2012-2017 au avut în componență antibiotice, la care microorganisme pot dezvolta rezistență.

2.2. Studiul compatibilității fizico-chimice a substanțelor medicamentoase și excipienților

O etapă importantă la preformularea medicamentelor combinate este studiul compatibilității fizico-chimice ale substanțelor medicamentoase și excipienților, care ar putea interacționa, afectând stabilitatea și eficacitatea medicamentului [14, 15]. Studiarea compatibilității fizico-chimice a acestora ar permite ca într-un timp foarte scurt să fie determinate posibilele interacțiuni [14, 15]. În acest scop, au fost utilizate metodele DSC și spectroscopia FTIR. Determinările au fost realizate pe probele substanțelor pure de substanțe medicamentoase, pe excipienții individuali și pe amestecurile binare ale substanțelor medicamentoase și excipienților în raport de 1:1 (m/m).

Interpretarea rezultatelor la aplicarea metodei DSC s-a efectuat cu ajutorul termogramelelor obținute, prin care s-au evaluat: punctul de topire, temperatura minimului vârfului endoterm, temperatura începutului descompunerii exoterme și temperatura maximului vârfului exoterm [14, 15]. Valorile de temperatură la care au apărut evenimentele termice în termogramele DSC ale amestecurilor binare dintre substanțe medicamentoase între ele, dintre substanțe medicamentoase și excipienți și dintre excipienți între ei nu au prezentat modificări față de datele înregistrate în termogramele DSC ale substanțelor medicamentoase și excipienților individuali.

Compatibilitatea fizico-chimică a substanțelor medicamentoase și excipienților a fost confirmată și prin utilizarea metodei spectroscopice FTIR prin interpretarea spectrelor obținute. Prezența acelorași benzi de absorbție caracteristice grupărilor funcționale atât în spectrul fiecărei substanțe pure, cât și în spectrul amestecului a demonstrat lipsa interacțiunilor chimice [14, 15].

2.3. Formularea-optimizarea și elaborarea tehnologiei de preparare a unguentului combinat cu conținut de izohidrafural și metiluracil

În scopul determinării compoziției optimele a unguentului combinat de izohidrafural și metiluracil (IHF+MTU) s-a folosit un plan experimental cu doi factori și trei nivele [16]. În calitate de variabile independente s-au selectat: polietilenglicolul (PEG) 400 (nivelul de jos -1: 60%, nivelul de bază 0: 75% și nivelul de sus +1: 90%) și PEG 1500 (nivelul de jos -1: 10%, nivelul de bază 0: 20% și nivelul de sus +1: 30%). Pentru optimizarea formulării unguentului combinat IHF+MTU s-a aplicat *Modde 13 software* (Sartorius Stedim Data Analytics AB, Umea, Sweden). Valorile experimentale obținute ale variabilelor dependente sunt redate în tabelul 2.2.

Tabelul 2.2. Design-ul factorial 3^2 și rezultatele experimentale

Formularea unguentului	Nivelele variabilelor independente		Indice de consistență, $\text{Pa}\cdot\text{s}^n$		Vâscozitatea la cea mai mică viteză de forfecare, $\text{cP}\cdot 10^2$		Activitatea osmotică, %
	X_1 (%)	X_2 (%)	22°C	37°C	22°C	37°C	
F 1	-1	-1	27,99	16,22	139,34	81,96	202,18
F 2	0	-1	34,75	20,45	198,79	113,56	348,12
F 3	+1	-1	33,01	19,44	193,67	101,93	301,07
F 4	-1	0	30,14	16,75	176,51	101,41	301,10
F 5	0	0	31,82	17,97	164,68	94,44	268,44
F 6	+1	0	29,14	16,21	165,44	93,47	202,03
F 7	-1	+1	38,01	22,36	232,54	135,22	361,33
F 8	0	+1	28,34	16,67	158,33	87,96	201,11
F 9	+1	+1	36,17	21,25	211,34	122,16	358,02

Studiul influenței factorilor de formulare asupra variabilelor dependente a arătat creșterea vâscozității, consistenței și proprietăților osmotice ale formulărilor hidrofile odată cu creșterea greutatei moleculare a PEG-ului și a cantității de PEG 1500 (Fig. 2.1).

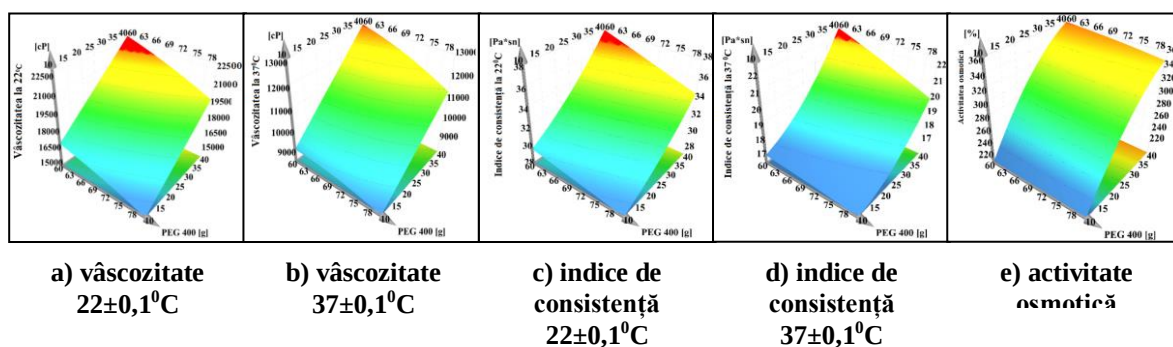


Fig. 2.1. Suprafețele de răspuns ale valorilor variabilelor dependente față de valorile variabilelor independente

Formularea optimă a unguentului combinat IHF+MTU a fost calculată prin modulul de optimizare a programului Modde. Astfel, potrivit datelor obținute, cantitatea optimă de PEG 400 (X_1) a fost determinată a fi egală cu 76,7284% și a PEG-ului 1500 (X_2) – 19,1829%.

2.4. Formularea-optimizarea și elaborarea tehnologiei de preparare a unguentului combinat cu conținut de izohidrafural, metiluracil și benzocaină

În scopul determinării compoziției optime a unguentului combinat de izohidrafural, metiluracil și benzocaină (IHF+MTU+BNZ) s-a utilizat design-ul factorial deplin 3^2 [16]. În calitate de variabile independente s-au selectat PEG 400 (nivelul de jos -1: 60%, nivelul de bază 0: 70% și nivelul de sus +1: 80%) și PEG 1500 (nivelul de jos -1: 10%, nivelul de bază 0: 25% și nivelul de sus +1: 40%). Valorile experimentale obținute ale variabilelor dependente sunt redată în tabelul 2.3.

Tabelul 2.3. Design-ul factorial 3^2 și rezultatele experimentale

Formularea unguentului	Nivelurile variabilelor independente		Indice de consistență, $\text{Pa}\cdot\text{s}^n$		Vâscozitatea la cea mai mică viteză de forfecare, $\text{cP}\cdot 10^2$		Activitatea osmotică, %
	$X_1(\%)$	$X_2(\%)$	22°C	37°C	22°C	37°C	
F 1	-1	-1	27,73	15,89	126,67	74,51	202,25
F 2	0	-1	41,50	20,37	180,72	103,24	348,67
F 3	+1	-1	39,99	20,18	176,06	92,66	299,78
F 4	-1	0	37,15	19,77	160,46	92,19	301,25
F 5	0	0	38,55	20,09	171,19	98,92	303,94
F 6	+1	0	30,69	16,14	150,40	84,97	202,15
F 7	-1	+1	50,54	26,55	211,40	122,93	360,17
F 8	0	+1	30,62	16,60	143,94	79,96	201,02
F 9	+1	+1	53,59	24,77	192,13	111,05	361,12

Pentru optimizarea formulării unguentului combinat IHF+MTU+BNZ s-a aplicat programul computerizat *Design Expert software* (versiunea 8.0.7). Suprafețele de răspuns denotă că valorile vâscozității și indicelui de consistență la cea mai mică viteză de forfecare cresc proporțional cu mărirea concentrației de PEG 1500 și micșorarea cantității de PEG 400, iar valorile activității osmotice sunt direct proporționale cu cantitatea de PEG 1500 (Fig. 2.2).

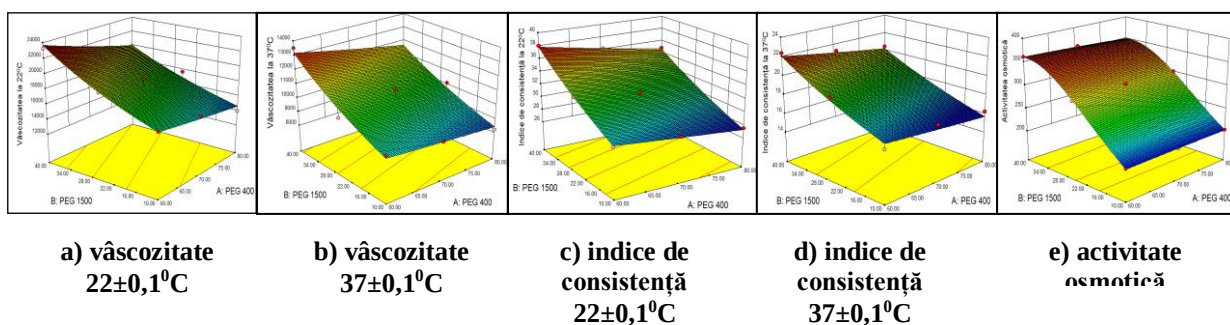


Fig. 2.2. Suprafețele de răspuns ale valorilor variabilelor dependente față de valorile variabilelor independente

Cu ajutorul răspunsurilor planului experimental au fost determinate cantitățile optime de PEG 400 – 75,92% și PEG 1500 – 18,98% necesare pentru prepararea unguentului combinat.

2.5. Formularea-optimizarea și elaborarea tehnologiei de preparare a unguentului combinat cu conținut de izohidrafural și fluocinolon acetonid

Pentru a stabili compoziția optimă a unguentului combinat de izohidrafural și fluocinolon acetonid (IHF+FLAc) s-a utilizat design-ul factorial 3^2 [16]. Variabilele independente au fost propilenglicolul (nivelul de jos -1: 3 g, nivelul de bază 0: 4 g și nivelul de sus +1: 5 g) și alcoolul cetostearilic (nivelul de jos -1: 3 g, nivelul de bază 0: 5 g și nivelul de sus +1: 7 g). Pentru optimizarea formulării unguentului combinat IHF+FLAc s-a aplicat programul computerizat *Design Expert software* (versiunea 8.0.7) (Tabelul 2.4).

Tabelul 2.4. Design-ul factorial 3^2 și rezultatele experimentale

Formularea unguentului	Nivelurile variabilelor independente		Indice de consistență, Pa*s ⁿ		Vâscozitatea la cea mai mică viteză de forfecare, cP*10 ²		Procentul cedării	
	X ₁ (g)	X ₂ (g)	22 ^o C	37 ^o C	22 ^o C	37 ^o C	Izohidrafural 90 min.	Fluocinolon acetamid 6 h
F 1	-1	-1	37,154	12,405	97,684	36,179	81,86	68,69
F 2	0	-1	33,963	11,238	84,317	31,229	89,86	71,17
F 3	+1	-1	29,923	9,103	73,152	27,931	99,97	75,39
F 4	-1	0	47,753	15,845	160,202	58,147	60,55	48,02
F 5	0	0	45,499	15,052	156,998	49,445	64,19	51,29
F 6	+1	0	41,879	13,839	133,502	43,298	71,32	53,09
F 7	-1	+1	62,806	20,964	259,527	96,121	42,79	39,68
F 8	0	+1	59,841	20,328	203,457	75,354	49,65	42,59
F 9	+1	+1	54,576	18,109	193,844	71,794	54,57	44,29

Suprafețele de răspuns denotă că valorile vâscozității și indicelui de consistență la cea mai mică viteză de forfecare cresc proporțional cu mărirea concentrației de alcool cetostearilic și micșorarea cantității de propilenglicol, iar procentul cedării *in vitro* a substanțelor medicamentoase crește o dată cu mărirea cantității de propilenglicol și scăderea cantității de alcool cetostearilic (Fig. 2.3).

Cu ajutorul răspunsurilor planului experimental au fost determinate cantitățile optime de propilenglicol – 5,0 g și alcool cetostearilic – 3,0 g necesare pentru prepararea a 100 g unguent combinat.

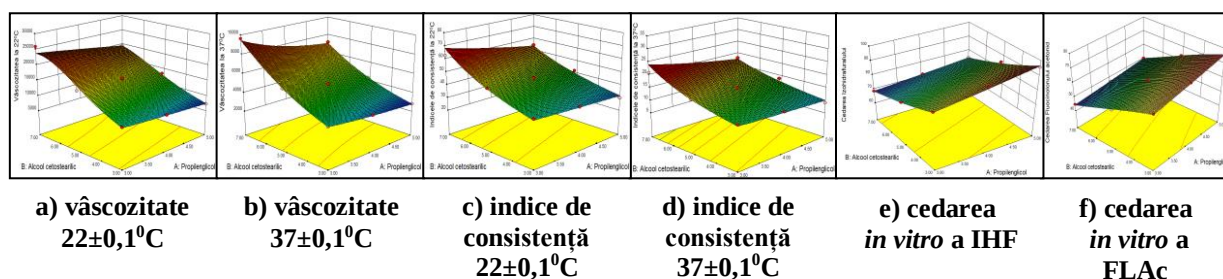


Fig. 2.3. Suprafețele de răspuns ale valorilor variabilelor dependente față de valorile variabilelor independente

3. Elaborarea metodelor de analiză ale unguentelor combinate

3.1. Analiza calitativă

Metode chimice. Au fost stabilite tehnicile de extracție ale substanțelor medicamentoase prin extracția repetată cu apă purificată. Pentru identificarea izohidrafuralului au fost selectate reacțiile chimice specifice derivaților de 5-nitrofuran: cu hidroxid de sodiu și cu dimetilformamidă. Identificarea metiluracilului s-a efectuat prin reacția cu nitrat de argint în mediul bazic [17]. Pentru benzocaină au fost ajustate reacțiile chimice de formare a azocolorantului și cu cloramina, iar pentru fluocinolon acetamid au fost selectate reacțiile cu

reactivul Fehling (soluția apoasă de sulfat de cupru asociată cu soluția apoasă de tartrat dublu de sodiu și potasiu) și cu fenilhidrazina.

Metode fizico-chimice. Pentru determinarea identității și purității unguentelor combinate au fost elaborate metodele spectrofotometrice UV-VIS. Pentru elaborarea tehnicii de extracție a substanțelor medicamentoase din unguentul combinat cu conținut de izohidrafural și metiluracil au fost cercetați mai mulți solvenți: apă purificată, soluție de hidroxid de sodiu 0,1 mol/l, dimetilformamidă și amestecul format din soluție de hidroxid de sodiu 0,1 mol/l și dimetilformamidă în raportul 1:3. Extracția repetată cu dimetilformamidă a satisfăcut toate cerințele pentru analiza calitativă și cantitativă a izohidrafuralului și metiluracilului, randamentul de extracție fiind 99,8% [18]. Spectrele UV-VIS ale probelor de izohidrafural 5 μg/ml, metiluracil 10 μg/ml înregistrate în regiunea 230-450 nm au prezentat un maxim de absorbție specific izohidrafuralului la 373±1 nm și 1 maxim de absorbție caracteristic metiluracilului la 267±1 nm, identificate și pe spectrele UV-VIS ale soluțiilor standard de substanțe medicamentoase (Fig. 3.1).

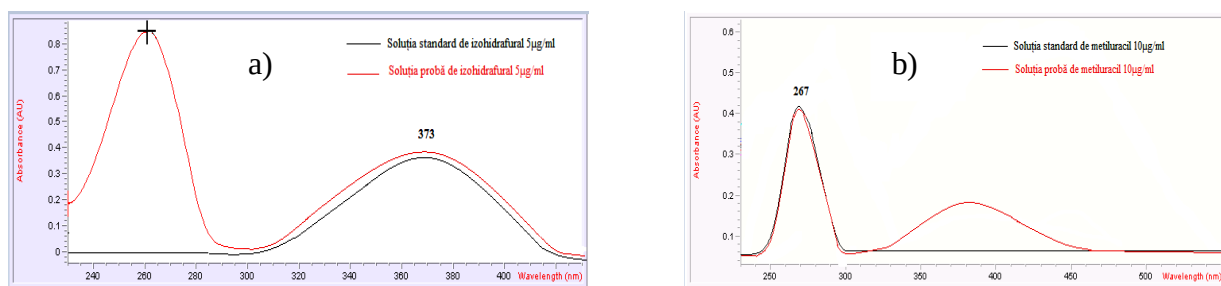


Fig. 3.1. Spectrele de absorbție UV-VIS ale soluțiilor standard și probă de izohidrafural (a) și metiluracil 10 (b)

Pentru unguentul combinat cu conținut de izohidrafural, metiluracil și benzocaină s-au cercetat aceiași solvenți pentru extracție: apă purificată, soluție de hidroxid de sodiu 0,1 mol/l, dimetilformamidă și amestecul format din soluție de hidroxid de sodiu 0,1 mol/l și dimetilformamidă în raportul 1:3. Ca urmare a determinărilor efectuate, dimetilformamida a fost selectată în calitate de extragent.

Spectrele UV-VIS ale probelor de izohidrafural 8 μg/ml, metiluracil 16 μg/ml și benzocaină 10 μg/ml înregistrate în regiunea 230-450 nm au prezentat maxime de absorbție specifice izohidrafuralului la 373±1 nm, metiluracilului la 261±1 nm și benzocainei la 286±1 nm, identificate și pe spectrele UV-VIS ale soluțiilor standard (Fig. 3.2).

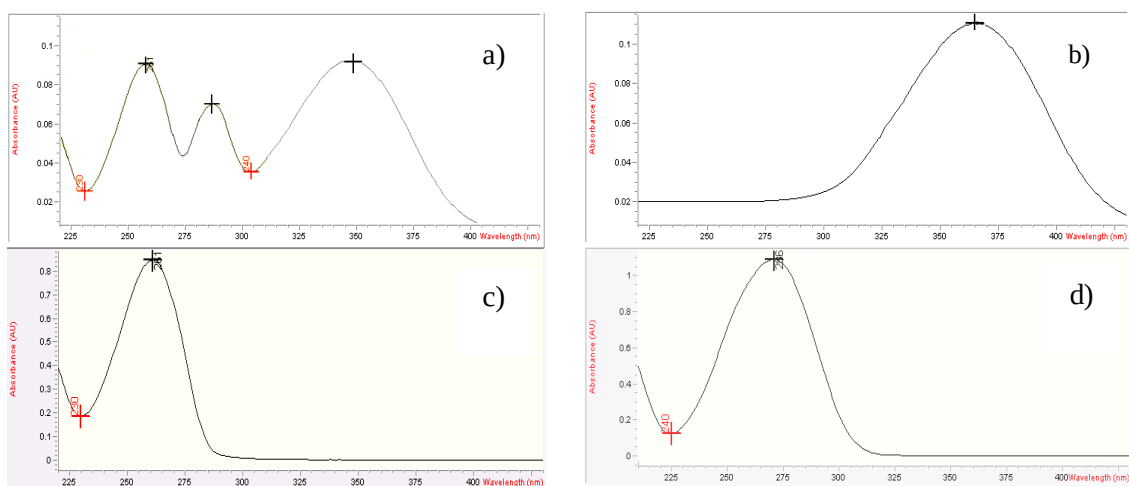


Fig. 3.2. Spectrele de absorbție UV-VIS ale soluției probă (a) și soluțiilor standard de izohidrafural (b), metiluracil (c) și benzocaină (d)

Pentru unguentul combinat cu conținut de izohidrafural și fluocinolon acetamid a fost selectată apa purificată în calitate de solvent, servind și ca mediu de dizolvare în studiul cineticii cedării substanțelor active din unguent. Spectrele UV-VIS ale probelor de izohidrafural 8 $\mu\text{g/ml}$ și fluocinolon acetamid 10 $\mu\text{g/ml}$ înregistrate în regiunea 230-450 nm au prezentat maxime de absorbție specifice izohidrafuralului la 373 ± 1 nm, fluocinolonului acetamid la 240 ± 1 nm, fiind identificate și pe spectrele UV-VIS al soluțiilor standard [19] (Fig. 3.3).

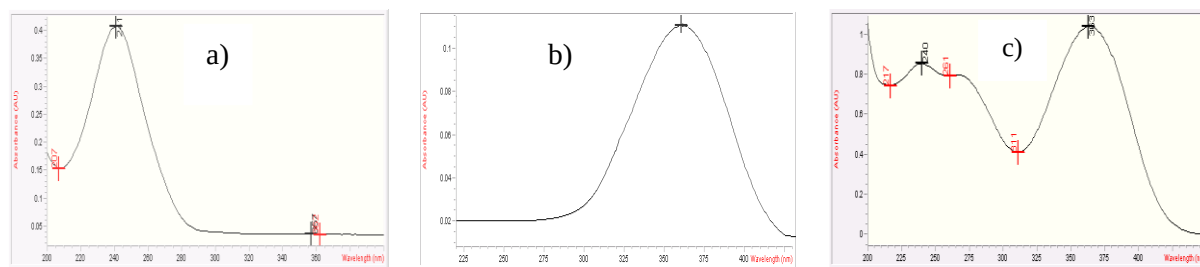


Fig. 3.3. Spectrele de absorbție UV-VIS ale soluțiilor standard de izohidrafural (a), fluocinolon acetamid (b) și soluției probă (c)

Metoda HPLC este una dintre cele mai des utilizate metode de analiză pentru formele farmaceutice combinate [123]. Având la bază mecanismul separării componentelor dintr-un amestec, permite identificarea principiilor active și detectarea cu exactitate a impurităților [123]. La elaborarea metodelor HPLC de analiză a unguentului combinat de izohidrafural cu metiluracil și unguentului combinat de izohidrafural, metiluracil și benzocaină s-a utilizat aparatul: Liquid Chromatograph Agilent 1220 Infinity LC Technologies. S-a folosit coloana cromatografică Nucleosil 100 C18, cu dimensiunile 4x150 mm, mărimea particulelor 10 μm .

În urma cercetărilor preliminare, amestecul de metanol și apă purificată în raportul 25:75 a fost selectat ca fază mobilă. Debitul fazei mobile a fost de 1,0 ml/minut. Detecția UV-VIS a avut loc la lungimea de undă 260 nm. Temperatura coloanei cromatografice a fost menținută la 30°C.

La elaborarea metodei HPLC pentru controlul calității unguentului combinat cu conținut de izohidrafural și fluocinolon acetonid s-a utilizat cromatograful: Shimadzu HIGH Performance liquid chromatograph LC-20 A. Pentru separarea cromatografică s-a întrebuințat coloana cromatografică: Nucleosil C18, cu dimensiunile 5x300 mm, mărimea particulelor 2,6 μm. În urma cercetărilor preliminare, amestecul de acetonitril:apă purificată în raportul 40:60 a fost selectat drept fază mobilă. Debitul fazei mobile a fost de 0,4 ml/minut. Detecția UV-VIS a avut loc la lungimea de undă 260 nm. Temperatura coloanei cromatografice a fost menținută la 30°C.

Preventiv s-a petrecut extracția substanțelor active cu fază mobilă. Pentru identificarea principiilor active și depistarea impurităților, s-au comparat cromatogramele soluțiilor probă cu cromatogramele soluțiilor standard ale substanțelor medicamentoase. Cromatogramele soluțiilor probă au prezent picuri cu timpi de retenție identice cromatogramelor soluțiilor standard (Fig. 3.4, Fig. 3.5 și Fig. 3.6).

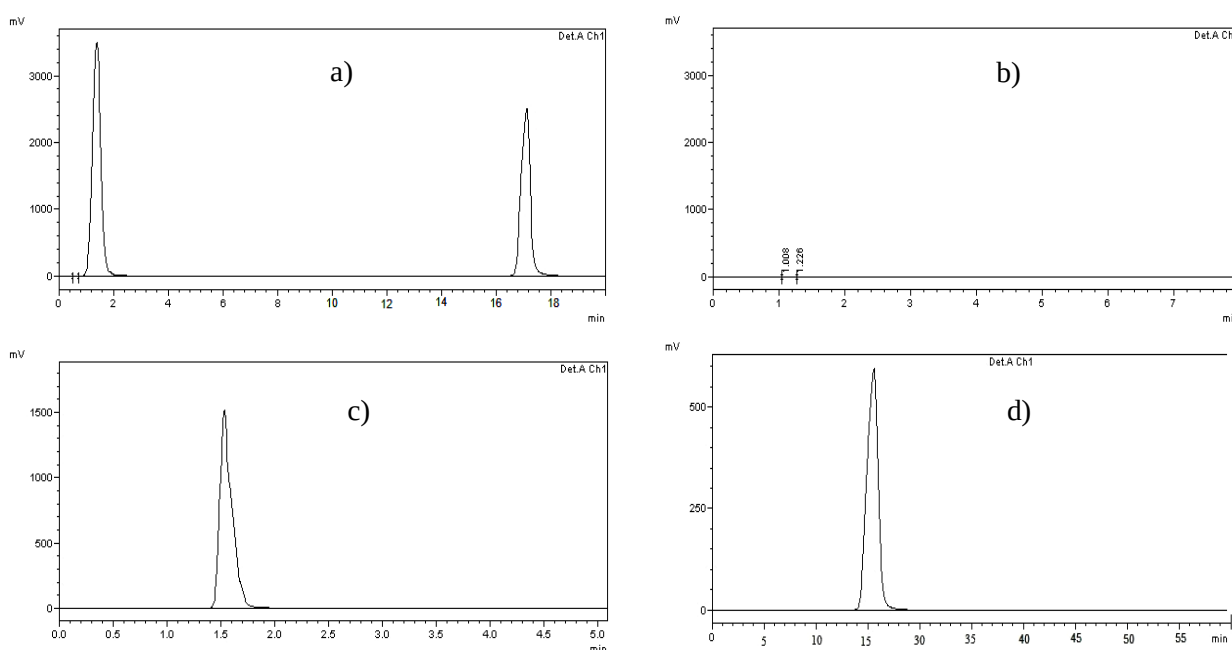


Fig. 3.4. Cromatogramele soluțiilor probă (a), placebo (b) standard de metiluracil (c) și izohidrafural (d)

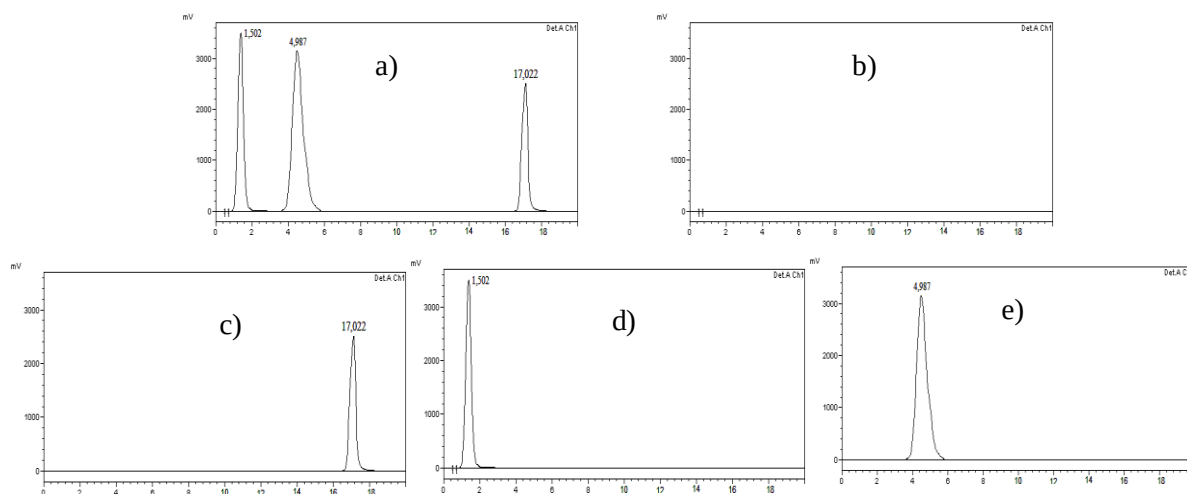


Fig. 3.5. Cromatogramele soluțiilor probă (a), placebo (b) standard de izohidrafural (c), metiluracil (d) și benzocaină (e)

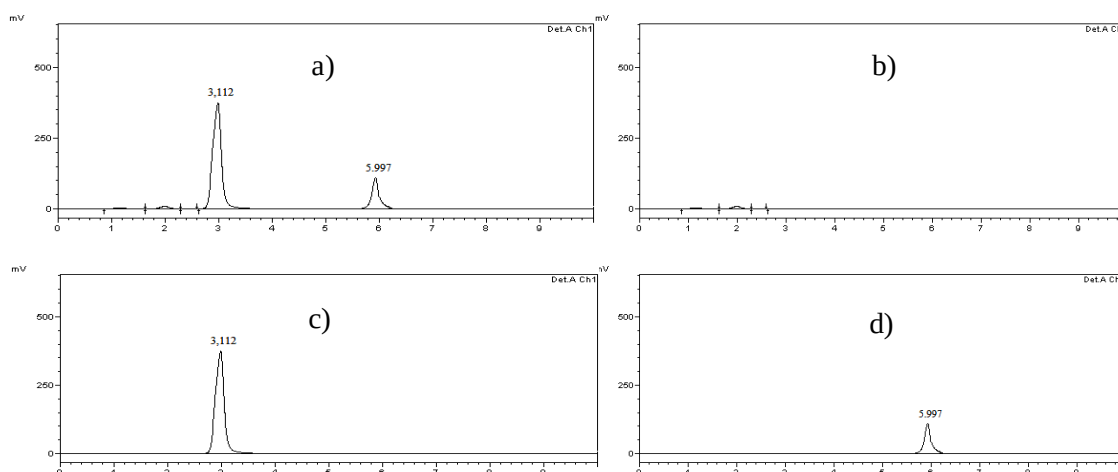


Fig. 3.6. Cromatogramele soluțiilor probă (a), placebo (b) standard de izohidrafural (c) și fluocinolon acetonid (d)

3.2. Analiza cantitativă

Au fost elaborate și validate metodele spectrofotometrice UV-VIS și HPLC pentru dozarea substanțelor active din unguentele combinate [20].

Metodele spectrofotometrice UV-VIS și HPLC elaborate sunt liniare (valorile coeficientului Pearson au fost mai mari de 0,999), selective (soluțiile placebo nu au prezentat maxime de absorbție caracteristice substanțelor medicamentoase), exacte (randamentul recuperării a fost între 85% și 105%), precise și robuste (valorile coeficientului de variație au fost mai mici de 2%). Substanțele medicamentoase pot fi detectate și cuantificate în concentrații mici (Tabelul 3.1, Tabelul 3.2).

Tabelul 3.1. Rezultatele validării metodelor spectrofotometrice UV-VIS de dozare a substanțelor medicamentoase din unguentele combinate

Parametrii de validare		Unguentul combinat IHF+MTU*		Unguentul combinat IHF+FLAc**	
		IHF	MTU	IHF	FLAc
Limita de detecție, µg/ml		0,0197	0,0189	0,084	0,365
Limita de cuantificare, µg/ml		0,059	0,0057	0,254	1,107
Coeficientul Pearson		0,9995	0,9999	0,9997	0,9998
Randamentul recuperării, %		100,01	99,24	99,65	99,94
Repetabilitate	Conținutul de substanță, g	0,104	4,000	0,099	0,0249
	CV, %	1,661	0,596	0,015	0,86
Precizie intermediară ziua 1	Conținutul de substanță, g	0,105	3,999	0,099	0,0249
	CV, %	0,518	0,283	0,024	0,91
Precizie intermediară ziua 2	Conținutul de substanță, g	0,106	3,993	0,099	0,0250
	CV, %	0,883	0,136	0,0175	0,041
Robustețe, CV, %		372 nm: 0,031	266 nm: 0,008	362 nm: 0,121	240 nm: 0,082
		373 nm: 0,052	267 nm: 0,005	363 nm: 0,050	241 nm: 0,662
		374 nm: 0,032	268 nm: 0,006	364 nm: 0,031	242 nm: 0,134

Tabelul 3.2. Rezultatele validării metodelor HPLC de dozare a substanțelor medicamentoase din unguentele combinate

Parametrii de validare		Unguentul combinat IHF+MTU		Unguentul combinat IHF+MTU+BNZ			Unguentul combinat IHF+FLAc	
		IHF	MTU	IHF	MTU	BNZ	IHF	FLAc
Limita de detecție, µg/ml		0,075	14,642	0,003	0,316	0,011	0,086	0,00063
Limita de cuantificare, µg/ml		0,023	44,368	0,0096	0,957	0,033	0,260	0,0019
Coeficientul Pearson		0,9998	0,9996	0,9996	0,9995	0,9991	0,9998	0,9998
Randamentul recuperării, %		99,63	99,41	99,03	99,44	99,64	99,49	99,80
Repetabilitate	Conținutul de substanță, g	0,0999	4,0017	0,0999	3,993	0,999	0,0999	0,0249
	CV, %	0,055	0,066	0,124	0,094	0,061	0,503	0,245
Precizie intermediară ziua 1	Conținutul de substanță, g	0,0999	3,9997	0,0998	3,998	0,993	0,0998	0,0250
	CV, %	0,05	0,014	0,04	0,007	0,218	0,06	0,108
Precizie intermediară ziua 2	Conținutul de substanță, g	0,0999	3,9997	0,0998	3,9976	0,992	0,0996	0,0249
	CV, %	0,034	0,02	0,04	0,057	0,065	0,022	0,176
Robustețe, CV, %		1,087	1,351	1,679	1,077	0,720	0,521	0,079

4. Standardizarea și evaluarea acțiunilor antibacteriene, dermato-resorbitive și local-iritante pentru unguentele combinate

4.1. Standardizarea unguentelor combinate

Unguentele combinate elaborate au fost supuse standardizării în conformitate cu prevederile Farmacopeei Europene ediția 9.0 și Farmacopeei Române ediția a X-a [21].

Descriere. S-a determinat mirosul și culoarea unguentelor pe fond alb, la lumina zilei. Unguentele combinate IHF+MTU și IHF+MTU+BNZ s-au prezentat de culoare gălbuie și fără miros. Unguentul combinat IHF+FLAc a fost de culoare alb-gălbui și fără miros.

Omogenitate. Probele analizate ale celor trei unguente combinate nu au prezentat picături sau aglomerări de particule [22].

pH. Valorile pH-ului celor trei unguente au corespuns cerințelor farmaceutice, care trebuie să fie cuprinse între 4,5 și 8,5, deviațiile standard relative fiind mai mici de 1,0%.

Proprietăți reologice. Caracterul nenewtonian și pseudoplastic al unguentelor combinate a fost demonstrat prin trasarea reogramelor tensiunii de forfecare în funcție de viteza de forfecare la temperaturile 22°C și 37°C.

Sterilitate. Mediile de cultură ale unguentelor combinate IHF+MTU și IHF+MTU+BNZ nu au prezentat creșterea microorganismelor, probele fiind transparente.

Dozare. Rezultatele obținute pentru cele trei serii ale unguentului combinat IHF+MTU au fost în limitele admisibile și nu au depășit abaterile admise: $\pm 5\%$ pentru izohidrafural, $\pm 3\%$ pentru metiluracil, $\pm 3\%$ pentru benzocaină și $\pm 7,5\%$ pentru fluocinolon acetonid.

4.2. Cercetarea stabilității și determinarea termenilor de valabilitate pentru unguentele combinate

Stabilitatea unguentelor combinate precum și stabilirea termenilor de valabilitate s-a realizat prin metoda depozitării în timp real, în conformitate cu prevederile ghidurilor ICH [23, 24]. Determinările au avut loc pentru câte 3 serii de unguente combinate, care au fost ambalate în recipiente din sticlă întunecată și depozitate la loc ferit de lumină, la temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ și umiditatea relativă de $60 \pm 5\%$. Periodicitatea testării a fost la 0, 3, 6, 9, 12, 18, 24 și 30 luni.

Descriere și omogenitate. Pe parcursul a 30 luni, unguentele combinate nu au prezentat modificări ale aspectului, mirosului și omogenității.

pH. Pentru unguentele combinate s-au înregistrat pe parcursul a 30 luni valori ale pH-ului în limitele admisibile.

Vâscozitate. Timp de 30 luni nu au fost semnalate devieri semnificative ale valorilor vâscozității celor trei unguente combinate.

Identificare. Timp de 24 luni, pe cromatogramele HPLC ale celor trei serii ale unguentelor combinate au fost detectate toate substanțele active și valorile timpului de retenție s-

au inclus în limitele admisibile. La 30 luni de la depozitare s-a atestat modificări ale formei picurilor și valorilor timpului de retenție specifice metiluracilului, benzocainei și fluocinolonului acetonid.

Dozare. Timp de 24 luni, pe cromatogramele celor trei serii ale unguentelor combinate au fost detectate substanțele active în concentrații corespunzătoare normelor stabilite. La 30 luni de la depozitare s-a atestat micșorarea concentrației metiluracilului, benzocainei și fluocinolonului acetonid sub limitele admisibile, stabilindu-se termenii de valabilitate pentru unguentele combinate de 24 luni.

4.3. Evaluarea acțiunii antibacteriene in vitro a unguentelor combinate

Activitatea antibacteriană *in vitro* a unguentelor a fost determinată prin metoda diluțiilor în serie în mediu nutritiv lichid: bulion peptonat din carne 2% la pH-ul 7,0. Solventul utilizat pentru dizolvarea unguentelor a servit dimetilformamida. În calitate de referință a servit „Unguentul Izofural 0,1%” cu următoarea compoziție: izohidrafural – 0,1 g, tween 80 – 7 g, alcool cetilic – 17 g, vaselină albă – 25 g, glicerol – 15 g și apă purificată până la 100 g. Pentru unguentul combinat IHF+FLAc, nu a fost posibil de a fi determinată concentrația minimă bacteriostatică, deoarece la amestecarea unguentului cu dimetilformamidă și bulion peptonat din carne a fost obținută o suspensie. Ulterior, după amestecarea suspensiei cu inoculatele de test-culturi bacteriene cercetate, s-a format opacitate. Unguentul combinat IHF+MTU manifestă activitate atât bacteriostatică, cât și bactericidă față de *Staphylococcus aureus* 209-P, fiind de 4 ori mai înaltă față de unguentul monocomponent de izohidrafural. Activitatea bactericidă față de *Enterococcus faecalis* este de 2 ori mai mare decât a unguentului-control. Față de bacteriile Gram-negative cercetate, prezintă o activitate antimicrobiană mai pronunțată. Pentru *Escherichia coli* concentrația minimă de inhibiție (CMI) este de 8 ori mai mare și concentrația minimă bactericidă (CMB) este de 16 ori mai mare în comparație cu unguentul monocomponent de izohidrafural, iar pentru *Proteus vulgaris* CMI este de 2 ori mai mare comparativ cu cea a unguentului martor. Unguentul combinat cu conținut de izohidrafural și metiluracil inhibă creșterea și posedă acțiune bactericidă față de *Klebsiella pneumonia*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium* și *Enterobacter cloacae* aproximativ la nivelul unguentului Izofural (Tabelul 4.1).

Activitatea antibacteriană a unguentului combinat IHF+MTU+BNZ este foarte asemănătoare cu cea a unguentului IHF+MTU. În comparație cu unguentul monocomponent de izohidrafural prezintă de asemenea avantaje. Astfel, față de *Staphylococcus aureus* 209-P acțiunile bactericidă și bacteriostatică sunt de 4 ori mai înalte, față de *Enterococcus faecalis* CMI este de 2 ori mai mare, iar CMB este de 4 ori mai mare. Față de *Escherichia coli* prevalează activitatea unguentului-control de 8-16 ori. Activitatea bactericidă față de *Proteus vulgaris* este

de aproximativ 2 ori mai mare. Unguentul combinat cu conținut de izohidrafural, metiluracil și benzocaină prezintă acțiune bactericidă și bacteriostatică față de *Klebsiella pneumonia*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium* și *Enterobacter cloacae* aproximativ la același nivel precum unguentul Izofural (Tabelul 4.1).

Unguentul combinat IHF+FLAc manifestă o activitate antimicrobiană mai pronunțată față de unguentul cu conținut de izohidrafural și puțin mai joasă decât a celor două unguente combinate. Astfel, cea mai mare activitate bacteriostatică o posedă față de *Staphylococcus aureus* 209-P, CMI fiind de 3 ori mai mare comparativ cu unguentul-martor. Față de bacteriile Gram-negative cercetate manifestă o activitate antimicrobiană mai mare pentru *Pseudomonas aeruginosa* și *Enterobacter cloacae*. Astfel, CMI este de 1,5 ori și respective de 2 ori mai mare comparativ cu unguentul de izohidrafural. Preparatul inhibă creșterea *Salmonella typhimurium* aproximativ la nivelul unguentului-control. Față de *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* și *Klebsiella pneumonia* unguentul acționează bacteriostatic în concentrația 83,33 μg/ml (Tabelul 4.1).

Tabelul 4.1. Activitatea antibacteriană a unguentelor combinate ale izohidrafuralului și a unguentului Izofural

Unguent	<u>Concentrația Minimă Bactericidă, μg/ml</u> <u>Concentrația Minimă de Inhibiție, μg/ml</u>							
	<i>Staphylococcus aureus</i> 209-P	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumonia</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>
Izohidrafural și metiluracil	<u>0,97</u> 0,97	<u>62,50</u> 7,80	<u>3,90</u> 3,90	<u>62,50</u> 31,25	<u>31,25</u> 31,25	<u>7,80</u> 7,80	<u>83,33</u> 83,33	<u>83,33</u> 83,33
Izohidrafural, metiluracil și benzocaină	<u>0,97</u> 0,97	<u>62,50</u> 7,80	<u>4,10</u> 3,90	<u>62,50</u> 31,25	<u>31,25</u> 31,25	<u>7,90</u> 7,80	<u>83,33</u> 83,33	<u>83,33</u> 83,33
Izohidrafural și fluocinolon acetonid	<u>1,30</u> -	<u>83,33</u> -	<u>83,33</u> -	<u>83,33</u> -	<u>20,83</u> -	<u>15,60</u> -	<u>83,33</u> -	<u>41,66</u> -
Izofural	<u>3,90</u> 3,90	<u>250,0</u> 15,60	<u>62,50</u> 31,25	<u>62,50</u> 31,25	<u>31,25</u> 31,25	<u>15,60</u> 7,80	<u>83,33</u> 83,33	<u>83,33</u> 83,33

4.4. Evaluarea acțiunilor local-iritante și dermato-resorbitive ale unguentelor combinate

În experiență au fost luate 12 grupuri de șobolani albi cu masă corporală de aproximativ 200 grame. În fiecare grup au fost incluși 4 masculi și 4 femele. Grupul de control a fost constituit din 8 șobolani (4 masculi și 4 femele) nesupuși tratamentului. Unguentele s-au aplicat zilnic, timp de 7 zile pe un sector de piele, prealabil depilat în regiunea dorsală (3x3 cm) prin fricționarea timp de 2-3 minute cu ajutorul unei spatule de plastic, fără a provoca hiperemie cutanată (Tabelul 4.2).

Tabelul 4.2. Modul de aplicare a unguentelor combinate

Unguentul combinat	Numărul grupului	Numărul de animale	Cantitatea unguentului aplicat, g
Izohidrafural și metiluracil	1	4 femele	0,25
	2	4 masculi	0,25
	3	4 femele	0,50
	4	4 masculi	0,50
Izohidrafural, metiluracil și benzocaină	5	4 femele	0,25
	6	4 masculi	0,25
	7	4 femele	0,50
	8	4 masculi	0,50
Izohidrafural și fluocinolon acetonid	9	4 femele	0,25
	10	4 masculi	0,25
	11	4 femele	0,50
	12	4 masculi	0,50

Pe întreaga perioadă de experiență s-a determinat starea generală a animalelor, particularitățile comportamentului, intensitatea și caracterul activității motorii, întrebuințarea hranei, apei, ritmul și frecvența respirației, starea învelișului pielos și a mucoaselor vizibile. Prezența acțiunii local-iritante a unguentelor a fost evaluată prin verificarea modificării culorii, turgorului și elasticității cutanate, prezența sau absența fisurilor și exfolierii, apariția la locul aplicării a hiperemiei, edemelor, îngroșarea pielii. Prezența durerii în regiunea cutanată de aplicare a unguentelor a fost evaluată prin urmărirea reacției animalelor la palparea locului aplicării. În urma cercetărilor unguentele combinate nu au manifestat acțiune local-iritantă. La aplicarea unguentelor timp de 7 zile și în următoarele 14 zile de supraveghere, nu s-au atestat schimbări la locul aplicării. De asemenea nu s-a atestat durere în regiunea cutanată prelucrată cu unguente. Analiza acțiunii dermato-resorbitive a unguentelor combinate a arătat că unguentele s-au absorbit ușor prin pielea șobolanilor și nu au fost semnalate simptome de intoxicație timp de 7 zile de aplicare și pe parcursul a 14 zile de supraveghere a animalelor.

CONCLUZII GENERALE ȘI RECOMANDĂRI

1. Studiul sortimentului de medicamente dermatologice combinate în Republica Moldova, în perioada 2012–2017 denotă prezența pe piața farmaceutică a 205 denumiri de medicamente, dintre care doar 22,9% combinate, 76,6% din import și 55% dintre ele cu conținut de cel puțin 1 antibiotic, ceea ce evidențiază necesitatea elaborării de noi remedii combinate antibacteriene autohtone fără antibiotice.
2. În urma analizei datelor obținute la aplicarea metodelor DSC și spectroscopie FTIR pentru studiul compatibilității fizico-chimice a substanțelor active și a excipienților, s-a constatat lipsa interacțiunilor fizico-chimice dintre substanțe medicamentoase, dintre excipienți și dintre substanțe medicamentoase cu excipienți.

3. Studiile de optimizare a compozițiilor unguentelor combinate prin aplicarea planurilor experimentale au contribuit la determinarea cu exactitate a cantităților optime ale excipienților: PEG 400 – 76,7284%, PEG 1500 – 19,1829% pentru unguentul izohidrafural și metiluracil; PEG 400 – 75,92%, PEG 1500 – 18,98% pentru unguentul izohidrafural, metiluracil și benzocaină; propilenglicol – 5,0 g, alcool cetostearilic – 3,0 g pentru unguentul combinat izohidrafural și fluocinolon acetamid.
4. Pe baza datelor experimentale s-a demonstrat că analiza calitativă (identificare și puritate) a unguentelor combinate poate fi realizată prin metodele chimice (reacții de identificare ale substanțelor active) și fizico-chimice elaborate (spectrofotometria UV-VIS și HPLC), iar pentru analiza cantitativă s-au elaborat și validat metodele: spectrofotometria UV-VIS și HPLC, acestea fiind liniare în diapazonul concentrațiilor cercetate (valorile coeficientului Pearson > 0,999), selective, exacte (valorile randamentului recuperării au fost între 85 – 105%), precise și robuste (valorile coeficientului de variație < 2%).
5. Parametrii de standardizare ai unguentelor combinate: descriere, omogenitate, pH, proprietăți reologice, dozare, stabilitate și sterilitate se includ în limitele admise de Farmacopeea Europeană ed. 9.0 și Farmacopeea Română ed. X. Studiile de stabilitate efectuate în timp real, la temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ și umiditatea relativă de $60 \pm 5\%$, au permis stabilirea termenilor de valabilitate de 24 luni pentru fiecare unguent combinat.
6. Rezultatele evaluării activității antibacteriene *in vitro* denotă că toate cele trei unguente combinate au prezentat o activitate antimicrobiană mai pronunțată comparativ cu unguentul de izohidrafural, cea mai mare acțiune bactericidă fiind față de *Staphylococcus aureus* 209-P (CMB fiind de 0,97 $\mu\text{g/ml}$ pentru unguentele IHF+MTU și IHF+MTU+BNZ și 1,3 $\mu\text{g/ml}$ pentru unguentul IHF+FLAc). Cercetările preclinice au demonstrat lipsa acțiunii local-iritante, iar examinarea efectului dermato-resorbtiv a arătat că unguentele s-au absorbit ușor prin pielea șobolanilor fără a produce semne de intoxicație.
7. Au fost elaborate proiectele Regulamentelor Tehnologice de Producere și proiectele Monografiilor Farmaceutice pentru cele trei forme farmaceutice: *Unguent combinat cu conținut de izohidrafural și metiluracil*, *Unguent combinat cu conținut de izohidrafural, metiluracil și benzocaină* și *Unguent combinat cu conținut de izohidrafural și fluocinolon acetamid*.

În baza cercetărilor efectuate, se propun următoarele **recomandări**:

1. Metodele și rezultatele obținute la etapele de preformulare și formulare-optimizare să fie utilizate în Laboratorul de tehnologie farmaceutică și transfer tehnologic al Centrului Științific al Medicamentului din cadrul Universității de Stat de Medicină și Farmacie “Nicolae Testemițanu”, precum și în departamentele de cercetare-dezvoltare a întreprinderilor farmaceutice, pentru elaborarea altor combinații medicamentoase.
2. Metodele de analiză și standardizare elaborate să fie utilizate în cadrul laboratoarelor de control a calității medicamentelor, dar și în departamentele de cercetare-dezvoltare a întreprinderilor farmaceutice, care posedă ca tematică studierea medicamentelor combinate.
3. Metodele aplicate și rezultatele obținute să fie utilizate în procesul de instruire a studenților facultății de Farmacie la disciplinele de profil farmaceutic: Tehnologie farmaceutică magistrală, Chimie farmaceutică, Controlul medicamentelor și Elaborarea medicamentelor și cercetare farmaceutică, precum și în cadrul perfecționării cursanților-farmacisti la ciclurile: Actualități în tehnologia farmaceutică și Actualități în controlul calității medicamentelor.
4. Drept direcții viitoare de cercetare se recomandă continuarea studiilor preclinice pentru medicamentele combinate elaborate, în teză fiind determinate acțiunile dermato-resorbitive și local-iritante ale unguentelor.

BIBLIOGRAFIE

1. HAY, R.J. et al. The global burden of skin disease in 2010: an analysis of the prevalence and impact of skin conditions. In: *Journal of Investigative Dermatology*. 2014, vol. 134, pp. 1527-1534. ISSN 0022202X.
2. PRISACARI, V. Supravegherea epidemiologică și controlul maladiilor infecțioase. În: *Akados*. 2013, vol. 29, nr. 2, pp. 80-87. ISSN 1857-0461.
3. PRISACARI, V. și a. Substanțe antibacteriene și antifungice noi din material primă locală. În: *Akados*. 2010, vol. 17, nr. 2, pp. 66-75. ISSN 1857-0461.
4. PRISACARI, V., CIAICA, T., TAPCOV, V., SAMUSI, N. *Izonicotinoilhidrazonă a aldehidei 5-nitro-2-furanice*. Brevet de invenție 196 B 1, A 61 K 31/345; C 07 D 307/70, C 07 D 307/71, C 07 D 307/74, C 07 D 307/76. Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie “Nicolae Testemițanu”. Nr. depozit 94-0214. Data depozit 22.07.1994. Publicat 31.05.1995. In: BOPI 1995, nr. 5, pp. 14.
5. PRISACARI, V. și a. Izohidrafural – remediu nou antibacterian. Comunicare II. Studiul toxicității, proprietăților dermato-resorbitive, iritante și acțiunii terapeutice. În: *Anale științifice ale Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”*. 2003, pp. 243-247. ISSN 1857-1719.

6. UNCU, L. și a. Tehnologia, analiza și standardizarea soluției Izofural 0,05%. În: *Anale științifice ale Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Probleme medico-biologice și farmaceutice*. 2008, vol. 1, pp. 270-279. ISSN 1857-1719.
7. LIM, H.W. et al. The burden skin disease in the United States. In: *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2017, vol. 76, nr. 5, pp. 958-972. ISSN 0190-9622.
8. PATEL, A.J. Development and validation of stability indicating HPTLC method for simultaneous estimation of fluocinolone acetonide and miconazole nitrate in ointment. In: *Austin Chromatography*. 2014, vol.1, nr. 5, pp. 1023-1032. ISSN 2379-7975.
9. ȘARAMET, G. Combinațiile fixe de substanțe active, provocări ale industriei farmaceutice. În: *Univers Farmaceutic*. 2015, vol.1, nr. 3, pp. 20-21.
10. WERTHEIMER, A.I. The economics of polypharmacology: fixed dose combinations and drug cocktails. In: *Current Medicinal Chemistry*. 2013, vol. 20, p. 1635-1638. ISSN 1875-533X (online) 0929-8673 (print).
11. KUMAR, V. Antimicrobial potential of hydrazone scaffold. In: *International Journal of Academic Research and Development*. 2018, vol. 3, nr. 2, pp. 9-12. ISSN 2455-4197.
12. **BOBROV, E.** și a. Preparate antibacteriene combinate pe piața farmaceutică a Republicii Moldova. În: *Anale științifice ale Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Probleme medico-biologice și farmaceutice*. 2013, vol. 1, pp. 353-357. ISSN 1857-1719.
13. **DONICI, E.**, UNCU, L., UNCU, A., VÎSLOUH, O. Combined ointments used in the treatment of infected wounds. In: *Archives of the Balkan Medical Union*. 2013, vol. 48, nr. 3, pp. 104-105. ISSN 2558-815X (online), 1584-9244 (print).
14. SAVKARE, A.D., WAKHARE, R.K. Review of the fixed dose combination drugs and their incompatibilities. In: *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 2017, vol. 8, nr. 7, pp. 2798-2807. ISSN 23205148.
15. CHADHA, R., BHANDARI, S. Drug–excipient compatibility screening – Role of thermoanalytical and spectroscopic techniques. In: *J Pharm Biomed Anal*. 2014, vol. 87, pp. 82-97. ISSN 0731-7085 (print), 1873-264X (electronic).
16. LEUCUȚĂ, S.E., TOMUȚĂ, I. *Planuri experimentale și optimizarea formulării medicamentelor*. Cluj Napoca: Risoprint, 2011. ISBN 978-973-53-0630-4.
17. **BOBROV, E.** și a. Elaborarea metodelor de identificare pentru unguentul combinat cu izohidrafural și metiluracil. În: *Revista farmaceutică a Moldovei*, 2011, nr. 1-4, pp. 13-15. ISSN 1812-5077.
18. **БОБРОВ, Е.** и др. Разработка метода количественного определения для анализа комбинированной мази, содержащей Изогидрафурал и Метилурацил. В: *Тези*

додовідей, Сучасні теоретичні та практичні аспекти клінічної медицини, Одеський Медуніверситет, 2012, с. 96.

19. **DONICI, E.** Elaborarea și validarea metodei spectrofotometrice în ultraviolet și vizibil de dozare a fluocinolonului acetonid dintr-un unguent combinat: studiu experimental. În: *Moldovan Journal of Health Sciences. Revista de Științe ale Sănătății din Moldova*. 2017, vol. 13, nr.3, pp. 53-58. ISSN 2345-146.
20. ICH Harmonised tripartite guideline Q2(R1). *Validation of Analytical Procedure: Methodology*. In: *International Conference on Harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use*, 2005, [citat 12.02.2017]. Disponibil: http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q2_R1/Step4/Q2_R1_Guideline.pdf.
21. European Pharmacopoeia, the 9th edition, vol. 1, 2017.
22. Farmacopeea Română, ediția a X-a, Supliment 2009, Ed. medicală, 2009.
23. ICH Harmonised Tripartite Guideline Q1A(R2): *Stability Testing of New Drug Substances and Products* 2003.
24. ICH Harmonised Tripartite Guideline Topic Q1C: *Stability Testing For New Dosage Forms*, 2003.

Notă: Referințele la resursele de informare sunt prezentate în succesiune numerică, conform ordinii citărilor în text.

LISTA PUBLICAȚIILOR AUTORULUI LA TEMA TEZEI

1. Articole în reviste științifice

- 1.1. DONICI, E. Elaborarea metodei spectrofotometrice UV-VIS de determinare cantitativă a izohidrafuralului, metiluracilului și benzocainei din unguentul combinat. În: *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe Medicale*. Chișinău, 2016, 1(50), pp. 245-248. ISSN 1857-0011.
- 1.2. DONICI, E. Elaborarea și validarea metodei spectrofotometrice în ultraviolet și vizibil de dozare a fluocinolonului acetonid dintr-un unguent combinat: studiu experimental. În: *Journal of Health Sciences. Revista de Științe ale Sănătății din Moldova*. 2017, 13(3), pp. 53-58. ISSN 2345-1467.
- 1.3. BOBROV, E. ș.a. Preparate antibacteriene combinate pe piața farmaceutică a Republicii Moldova. În: *Anale științifice ale Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”*. *Materialele conferinței anuale „Zilele Universității”*. Ediția a XIV-a, volumul 1. Chișinău, 2013, pp. 353-357. ISSN 1857-1719.

- 1.4. UNCU, L. ș.a. Studiul stabilității și determinarea termenului de valabilitate a unguentului „Izofural”. În: *Anale științifice ale Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”*. Materialele conferinței anuale „Zilele Universității”. Ediția a XIII-a, volumul 1. Chișinău, 2012, pp. 254-259. ISSN 1857-1719.
- 1.5. UNCU, L., BOBROV, E., UNCU, A., TIHON, I. Studiul disponibilității farmaceutice a unguentului combinat cu Izohidrafural și Metiluracil. În: *Anale științifice ale Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”*. Materialele conferinței anuale „Zilele Universității”. Ediția a XIII-a, volumul 1. Chișinău, 2012, pp. 259-262. ISSN 1857-1719.
- 1.6. CIOBANU, N. ș.a. Elaborarea formulei unguentului combinat cu izohidrafural și metiluracil și a metodelor de extracție a principiilor active din forma farmaceutică. În: *Anale științifice ale Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”*. Materialele conferinței anuale „Zilele Universității”. Ediția a XI-a, volumul 1. Chișinău, 2010, pp. 420-423. ISSN 1857-1719.
- 1.7. UNCU, L.ș.a. Studiul compatibilității izohidrafuralului și metiluracilului în aceeași formă farmaceutică. În: *Anale științifice ale Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”*. Materialele conferinței anuale „Zilele Universității”. Ediția a XI-a, volumul 1. Chișinău, 2010, pp. 423-427. ISSN 1857-1719.
- 1.8. BOBROV, E. ș.a. Elaborarea metodelor de identificare pentru unguentul combinat cu izohidrafural și metiluracil. În: *Revista Farmaceutică a Moldovei*. 2011, nr. 1-4, pp. 13-15. ISSN 1812-5077.

2. Teze în culegeri științifice

2.1. în lucrările conferințelor științifice internaționale (peste hotare)

- 2.1.1. DONICI, E. ș.a. Utilizarea formelor farmaceutice combinate în tratamentul arsurilor infectate. În: *Volum de rezumate. Conferința Națională de Farmacie Clinică “Provocări ale farmacoterapiei contemporane”*. Ediția a II-a, București, România, 2017, pp. 185-188. ISBN 978-973-0-24609-4.
- 2.1.2. DONICI, E. ș.a. Elaborarea tehnologiei de preparare a unui unguent nou, combinat cu conținut de izohidrafural, metiluracil și fluocinolon acetamid. În: *Volum de rezumate al Congresului Național de Farmacie din România, Farmacia – centru al interdisciplinarității științelor vieții*. Ediția a XVI-a. București, România, 2016, p. 270. ISSN 2537-2823.
- 2.1.3. BOBROV-DONICI, E., UNCU, L. The study of physical and chemical compatibility of Izohidrafural, Methyluracil and Benzocaine by HPLC method. In: *Book of Abstracts of*

the 14th International Symposium and Summer School on Bioanalysis. Smolenice, Bratislava, 2014, p. 60. ISBN 978-80-971179-3-1.

2.1.4. DONICI, E. Studiul compatibilității fizico-chimice a izohidrafuralului, metiluracilului și fluocinolonului acetamid prin metoda HPLC. În: *Volum de rezumate al Congresului Național de Farmacie din România cu participare internațională, Viziune și inovație în practica farmaceutică Orizont 2020*. Ediția a XV-a. Iași, România, 2014, p. 313. ISBN 978-606-544-252-8.

2.1.5. БОБРОВ, Е. и др. Разработка метода количественного определения для анализа комбинированной мази, содержащей Изогидрафурал и Метилурацил. В: *Тези доповідей, Сучасні теоретичні та практичні аспекти клінічної медицини. Одеський Медуніверситет*. 2012, с. 96. ISBN 978-966-443-053-8.

2.2. în lucrările conferințelor științifice naționale cu participare internațională

2.2.1. DONICI, E. The evaluation of some techniques of thermal analysis at the preformulation stage of combined drugs. In: *Abstract Book. The 7th International Medical Congress for Students and Young Doctors MedEspera*. Chisinau, 2018, p. 277. ISBN 978-9975-3028-3-8.

2.2.2. DONICI, E., MORARU, O. Cercetarea stabilității în timp real a unguentului combinat cu conținut de izohidrafural, metiluracil și benzocaină. În: *Materialele primului congres al Asociației Studenților Farmaciști din Republica Moldova consacrat anului Nicolae Testemițanu. Revista Farmaceutică a Moldovei*. 2017, nr. 1-2, p. 36. ISSN 1812-5077.

2.2.3. DONICI, E., PLESACOVA, E. Evaluarea cineticii de cedare in vitro a fluocinolonului acetamid din unguente combinate. În: *Materialele primului congres al Asociației Studenților Farmaciști din Republica Moldova consacrat anului Nicolae Testemițanu. Revista Farmaceutică a Moldovei*. 2017, 1-2, p. 39. ISSN 1812-5077.

2.2.4. GHEORGHIȘ, T., DONICI, E. The development of the technology of preparation of a new, original, combined ointment containing izohydrfural, methyluracil and benzocaine. In: *Abstract Book. The 6th International Medical Congress for Students and Young Doctors MedEspera*. Chisinau, 2016, pp. 339-340. ISBN 978-9975-3028-3-8.

2.2.5. DONICI, E., GORODEȚCHI, E. The IR spectrophotometry applications in the study of physical and chemical compatibility of some active substances. In: *Abstract Book. The 5th International Medical Congress for Students and Young Doctors MedEspera*. Chisinau, 2014, p. 245. ISBN 978-9975-3028-3-8.

2.2.6.DONICI, E., UNCU, L., UNCU, A., VÎSLOUH, O. Combined ointments used in the treatment of infected wounds. In: *Archives of the Balkan Medical Union. The Official Journal of the Balkan Medical Union*. New series Volume 48, Number 3 – supplement. Chișinău, 2013, pp.104-105. ISSN 0041-6940.

2.1.6.BOBROV, E. et al. Pharmaceutical bioavailability of combined ointments with izohidrafural and methyluracil. In: *Abstract book. The 4th International Medical Congress for Students and Young Doctors MedEspera*. Chisinau, 2012, pp. 250-251. ISBN 978-9975-3028-3-8.

2.2.7.BOBROV, E., VÎSLOUH, O., SUVORCHINA, O. Elaboration of principle extractive method from skin ointment containing izohidrafural and methyluracil. In: *Abstract book. The 3rd International Medical Congress for Students and Young Doctors MedEspera*. Chisinau, 2010, pp. 103-104. ISBN 978-9975-3028-3-8.

2.3. în lucrările conferințelor științifice naționale

2.3.1.DONICI, E., GORODEȚCHI, E. Determinarea compatibilității substanțelor medicamentoase în combinații terapeutice prin spectroscopie IR. În: *Conferința științifică anuală a colaboratorilor și studenților. Culegere de rezumate științifice ale IP Universitatea de Stat de Medicina și Farmacie "Nicolae Testemitanu" din Republica Moldova*. Chișinău: CEP "Medicina", 2014, p. 27. ISBN 978-9975-118-61-3.

2.3.2.DONICI, E. Studiul compatibilității izohidrafuralului în combinații prin metoda HPLC. În: *Conferința științifică anuală a colaboratorilor și studenților. Culegere de rezumate științifice ale IP Universitatea de Stat de Medicina și Farmacie "Nicolae Testemitanu" din Republica Moldova*. Chișinău: CEP "Medicina", 2014, p. 28. ISBN 978-9975-118-61-3.

ADNOTARE

Donici Elena „Elaborarea, analiza și standardizarea formelor farmaceutice combinate cu conținut de Izohidrafural”, teză de doctor în științe farmaceutice, Chișinău, 2020.

Structura tezei: introducere, patru capitole, concluzii generale și recomandări, bibliografie (155 de titluri), 33 anexe, 129 pagini de text de bază (până la bibliografie), 41 figuri, 39 tabele. Rezultatele obținute au fost publicate în 23 lucrări științifice și prezentate la 15 forumuri științifice.

Cuvinte cheie: izohidrafural, metiluracil, benzocaină, fluocinolon acetamid, unguent combinat, activitate antibacteriană, optimizare, tehnologie, calitate, standardizare.

Scopul studiului: elaborarea, analiza, standardizarea, determinarea activității antibacteriene, acțiunilor local-iritante și dermato-resorbitive ale unguentelor combinate ale izohidrafuralului cu substanțe medicamentoase regenerante, anestezice locale și dermatocorticosteroizi.

Obiectivele studiului: evaluarea medicamentelor dermatologice combinate pe piața farmaceutică a Republicii Moldova în perioada 2012-2017; studii de preformulare, formulare-optimizare și elaborarea tehnologiei de producere a unguentelor combinate; elaborarea și validarea metodelor de analiză; standardizarea și studiul stabilității unguentelor combinate; evaluarea activității antibacteriene și acțiunilor dermato-resorbitive și local-iritante pentru unguentele combinate; elaborarea proiectelor Monografiilor Farmaceutice și Regulamentelor Tehnologice de Producere pentru unguentele combinate.

Noutatea și originalitatea științifică: pentru prima dată au fost elaborate unguente combinate noi pentru tratamentul diferitor afecțiuni dermatologice infectate cu germeni bacterieni; au fost elaborate și validate metodele de analiză și standardizare pentru unguentele combinate; s-au efectuat cercetări privind activitatea antibacteriană și acțiunile local-iritante și dermato-resorbitive.

Problema științifică soluționată: elaborarea unguentelor combinate noi cu conținut de substanțe medicamentoase cu acțiuni terapeutice diferite: antibacteriană, antiinflamatoare, anestezică locală și regenerantă. Deși aceste medicamente nu conțin antibiotice, prezintă o activitate antibacteriană mai înaltă față de bacterii, datorate izohidrafuralului, care este un derivat nou al nitrofuranului de producție autohtonă cu o toxicitate mai joasă.

Semnificația teoretică: generalizarea etapelor și metodelor utilizate în cercetările de preformulare, formulare-optimizare, control al calității, standardizare și aprecierea stabilității unguentelor combinate elaborate.

Valoarea aplicativă: rezultatele obținute contribuie la mărirea complianței tratamentului unor afecțiuni dermatologice infectate cu germeni bacterieni prin utilizarea unguentelor combinate.

Implementarea rezultatelor științifice: au fost elaborate proiectele Monografiilor Farmaceutice și proiectele Regulamentelor Tehnologice de producere pentru cele trei forme farmaceutice: unguent combinat cu conținut de izohidrafural și metiluracil, unguent combinat cu conținut de izohidrafural, metiluracil și benzocaină și unguent combinat cu conținut de izohidrafural și fluocinolon acetamid. Rezultatele au fost implementate în secția Forme magistrale a Centrului Farmaceutic Universitar „Vasile Procopișin” al USMF „Nicolae Testemițanu” și în cadrul Departamentului Managementul Calității a S.A. Farmaco.

АННОТАЦИЯ

Дониц Елена "Разработка, анализ и стандартизация комбинированных лекарственных форм, содержащих изогидрофурал", диссертация на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук, Кишинев, 2020.

Структура диссертации: введение, четыре главы, общие выводы и рекомендации, библиография (155 источников), 33 приложения, 129 страниц основного текста (до библиографии), 41 рисунков, 39 таблиц. Результаты были опубликованы в 23 научных работах и представлены на 15 научных форумах.

Ключевые слова: изогидрафурал, метилурацил, бензокаин, флуоцинолон ацетонид, комбинированная мазь, антибактериальная активность, оптимизация, технология, качество, стандартизация.

Цель исследования: разработка, анализ, стандартизация, определение антибактериальной активности, местно-раздражающего и дерматорезорбтивного действия комбинированных мазей изогидрофурала с регенеративными, местными анестетиками и дерматокортикостероидами лекарственными веществами.

Задачи исследования: вычисление комбинированных дерматологических препаратов на фармацевтическом рынке Республики Молдова в период 2012-2017 гг.; предварительные исследования, формулирование-оптимизирование и разработка технологии производства комбинированных мазей; разработка и валидация методов анализа; стандартизация и исследование стабильности комбинированных мазей; определение антибактериальной активности и кожно-резорбтивного и местно-раздражающего действия комбинированных мазей; разработка проектов Фармакопейных статей и Технологических Регламентов Производства комбинированных мазей.

Научная новизна и оригинальность: впервые были разработаны новые комбинированные мази для лечения различных дерматологических заболеваний инфицированные бактериями; разработаны и валидированы методы анализа и стандартизации комбинированных мазей; проведены исследования антибактериальной активности и местного раздражающего и дермато-резорбтивного действия.

Научная проблема, решаемая в исследовании: разработка новых комбинированных мазей, содержащих лекарственные вещества различного терапевтического действия: антибактериальное, противовоспалительное, местное обезболивающее и регенерирующее. Даже если эти препараты не содержат антибиотиков, они проявляют более высокую антибактериальную активность, благодаря изогидрафуралу, новый производный нитрофурана местного производства с более низкой токсичностью.

Теоретическая значимость: обобщение этапов и методов используемых в предварительных исследованиях, формулировании-оптимизации, контроля качества, стандартизации и оценка стабильности разработанных комбинированных мазей.

Практическая значимость: полученные результаты могут способствовать повышению лечения некоторых дерматологических заболеваний инфицированные бактериями с использованием комбинированных мазей.

Внедрение научных результатов: были разработаны проекты Фармакопейных статей и проекты Технологических Регламентов Производства трех фармацевтических форм: изогидрафуральная и метилурациловая мазь, изогидрафуральная, метилурациловая и бензокайная мазь и изогидрафуральная и флуоцинолон ацетонидная мазь. Результаты были внедрены в отделе Магистральных форм Университетского Фармацевтического Центра "Василе Прокопишин", ГУМФ "Николае Тестемицану" и в Отделе Управления Качеством А. О. Фармако.

ANNOTATION

Donici Elena "Elaboration, analysis and standardization of combined pharmaceutical forms containing isohydrofural", PhD thesis in pharmaceutical sciences, Chisinau, 2020.

Thesis structure: introduction, four chapters, general conclusions and recommendations, references (155 titles), 33 annexes, 129 basic text pages (up to references), 41 figures, 39 tables. The obtained results were published in 23 scientific papers and presented in 15 scientific forums.

Keywords: isohydrofural, methyluracil, benzocaine, fluocinolone acetonide, combined ointment, antibacterial activity, optimization, technology, quality, standardization.

Aim of the study: elaboration, analysis, standardization, determination of antibacterial activity, local-irritant and dermato-resorbtive actions of the combined ointments of isohydrofural with regenerative, local anesthetics and dermatocorticosteroids drug substances.

Study objectives: evaluation of combined dermatological drugs on the pharmaceutical market of the Republic of Moldova in the period 2012-2017; studies of pre-formulation, formulation-optimization and elaboration of technology of production of combined ointments; development and validation of analysis methods; standardization and study of the stability of combined ointments; evaluation of antibacterial activity and dermato-resorbtive and local-irritant actions of combined ointments; elaboration of the projects of Pharmacopoeial Monographs and the projects of Technological Regulations of the combined ointments.

Scientific novelty and originality: for the first time, new combined ointments were developed for the treatment of different dermatological diseases infected with bacterial germs; the methods of analysis and standardization of combined ointments were developed and validated; the research of antibacterial activity and dermato-resorbtive and local-irritant actions were performed.

The scientific solved problem: the development of new combined ointments, containing drug substances with different therapeutic actions: antibacterial, anti-inflammatory, local anesthetic and regenerative. Although these drugs do not contain antibiotics, they have a higher antibacterial activity due to isohydrofural, which is a novel derivative of nitrofurantoin from local production with a lower toxicity.

Theoretical significance: the generalization of stages and methods used in pre-formulation, formulation-optimization, quality control, standardization and real-time stability of combined ointments.

Applicative value: the obtained results contribute to the increase of compliance of the treatment of dermatological diseases infected with bacterial germs by using combined ointments.

Implementation of the scientific results: the projects of Pharmacopoeial Monographs and the projects of Technological Regulations of production of three dosage forms were elaborated: isohydrofural and methyluracil combined ointment, isohydrofural, methyluracil and benzocaine combined ointment and isohydrofural and fluocinolone acetonide combined ointment. The results were implemented at the Department of Dosage Forms of the University Pharmaceutical Center "Vasile Procopisin" of State University of Medicine and Pharmacy "Nicolae Testemitanu" and at the Department of Quality Management of JSC Pharmaco.

DONICI ELENA

**ELABORAREA, ANALIZA ȘI STANDARDIZAREA
FORMELOR FARMACEUTICE COMBinate
CU CONȚINUT DE IZOHIDRAFURAL**

316.01. FARMACIE

Rezumatul tezei de doctor în științe farmaceutice

Aprobat spre tipar: 10.01.2020

Formatul hârtiei 60x84 1/16

Hârtie ofset. Tipar ofset.

Tiraj 50 ex.

Coli de tipar.: 1,01

Comanda nr. 4

Editura Pontos
Str. 31 August 1989, nr. 98, MD-2004, Chișinău,
e_mail: editura.pontos@gmail.com