

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

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

Teză de doctor în științe farmaceutice

Conducător științific:

UNCU LIVIA,
doctor în științe farmaceutice,
conferențiar universitar

Consultant științific:

PRISACARI VIOREL,
doctor habilitat în științe medicale,
profesor universitar, Om Emerit
membru corespondent al AȘM

Autor:

DONICI ELENA

CHIȘINĂU, 2020

© Donici Elena, 2020

CUPRINS

ADNOTARE.....	6
АННОТАЦИЯ.....	7
ANNOTATION.....	8
LISTA TABELELOR.....	9
LISTA FIGURILOR.....	11
LISTA ABREVIERILOR.....	14
INTRODUCERE.....	15
1. PARTICULARITĂȚILE UTILIZĂRII MEDICAMENTELOR COMBinate ÎN TERAPIA UNOR MALADII DERMATOLOGICE.....	23
1.1. Principiile tratamentului medicamentos topic al unor maladii dermatologice infectate.....	23
1.2. Argumentarea combinării izohidrafuralului cu alte substanțe medicamentoase în unguente topice.....	28
1.3. Compatibilitatea farmacologică a substanțelor medicamentoase.....	33
1.4. Metode aplicate la preformularea, formularea-optimizarea și analiza unguentelor combinate.....	37
1.5. Sinteza capitolului 1.....	45
2. STUDIUL PIEȚII, PREFORMULAREA, FORMULAREA-OPTIMIZAREA ȘI TEHNOLOGIA UNGUENTELOR COMBinate.....	47
2.1. Medicamente dermatologice combinate pe piața farmaceutică din Republica Moldova.....	47
2.2. Materiale și metode de cercetare.....	50
2.3. Studiul compatibilității fizico-chimice dintre substanțe active, substanțe active cu excipienți și excipienți.....	54
2.3.1. Analiza Calorimetrică cu Scanare Diferențială.....	54
2.3.2. Analiza Spectroscopică FTIR.....	59
2.4. Formularea-optimizarea și elaborarea tehnologiei de preparare a unguentelor combinate.....	64
2.4.1. Unguentul combinat cu conținut de izohidrafural și metiluracil.....	64
2.4.2. Unguentul combinat cu conținut de izohidrafural, metiluracil și benzocaină.....	68
2.4.3. Unguentul combinat cu conținut de izohidrafural și fluocinolon acetonid.....	72
2.5. Sinteza capitolului 2.....	76
3. ELABORAREA METODELOR DE ANALIZĂ ALE UNGUENTELOR COMBinate.....	78
3.1. Materiale și metode de cercetare.....	78
3.2. Analiza calitativă a unguentelor combinate prin metode chimice.....	80
3.3. Analiza unguentelor combinate prin metoda spectrofotometrică UV-VIS.....	81
3.3.1. Analiza calitativă: identificare și puritate.....	81
3.3.2. Analiza cantitativă.....	82
3.4. Analiza unguentelor combinate prin metoda HPLC.....	95
3.4.1. Analiza calitativă: identificare și puritate.....	95
3.4.2. Analiza cantitativă.....	96
3.5. Sinteza capitolului 3.....	110
4. STANDARDIZAREA ȘI EVALUAREA ACȚIUNILOR ANTIBACTERIENE, DERMATO-RESORBTIVE ȘI LOCAL-IRITANTE PENTRU UNGUENTELE COMBinate.....	111
4.1. Materiale și metode de cercetare.....	111
4.2. Standardizarea unguentelor combinate.....	114
4.3. Cercetarea stabilității și determinarea termenilor de valabilitate.....	119

4.4. Evaluarea activității antibacteriene <i>in vitro</i> a unguentelor combinate.....	123
4.5. Evaluarea acțiunilor dermato-resorbitive și local-iritante ale unguentelor combinate.....	124
4.6. Sinteza capitolului 4.....	126
CONCLUZII GENERALE ȘI RECOMANDĂRI.....	128
BIBLIOGRAFIE.....	130
ANEXE.....	145
Anexa 1. Avizul Comitetului de Etică a Cercetării USMF “Nicolae Testemițanu”.....	146
Anexa 2. Tabelul A 2. Lista medicamentelor combinate, dermatologice autorizate în Republica Moldova la 27.12.2017.....	147
Anexa 3. Tabelul A 3. Rezultatele termooanalitice DSC ale substanțelor medicamentoase și excipienților individuali precum și în amestecuri binare.....	149
Anexa 4. Caracteristicile spectrelor FTIR.....	150
Anexa 5. Determinarea parametrilor reologici pentru formulările unguentului combinat cu conținut de izohidrafural și metiluracil.....	155
Anexa 6. Activitatea osmotică a formulărilor unguentului combinat cu conținut de izohidrafural și metiluracil.....	162
Anexa 7. Optimizarea formulărilor unguentului combinat cu conținut de izohidrafural și metiluracil cu ajutorul Modde 13 software (Sartorius Stedim Data Analytics AB, Umea, Sweden).....	163
Anexa 8. Determinarea parametrilor reologici pentru formulările unguentului combinat cu conținut de izohidrafural, metiluracil și benzocaină.....	166
Anexa 9. Activitatea osmotică a formulărilor unguentului combinat cu conținut de izohidrafural, metiluracil și benzocaină.....	173
Anexa 10. Optimizarea unguentului combinat cu conținut de izohidrafural, metiluracil și benzocaină cu ajutorul Design Expert software (versiunea 8.0.7).....	174
Anexa 11. Determinarea parametrilor reologici pentru formulările unguentului combinat cu conținut de izohidrafural și fluocinolon acetamid.....	176
Anexa 12. Cinetica de cedare in vitro a izohidrafuralului și fluocinolonului acetamid din formulările experimentale.....	183
Anexa 13. Optimizarea unguentului combinat cu conținut de izohidrafural și fluocinolon acetamid cu ajutorul Design Expert software (versiunea 8.0.7).....	187
Anexa 14. Analiza calității unguentelor combinate prin metoda spectrofotometrică UV-VIS.....	189
Anexa 15. Analiza calității unguentelor combinate prin metoda HPLC.....	201
Anexa 16. Cercetarea stabilității și determinarea termenelor de valabilitate pentru unguentele combinate.....	219
Anexa 17. Proiectul Regulamentului Tehnologic de Producere a unguentului combinat cu conținut de izohidrafural și metiluracil.....	222
Anexa 18. Proiectul Regulamentului Tehnologic de Producere a unguentului combinat cu conținut de izohidrafural, metiluracil și benzocaină.....	231
Anexa 19. Proiectul Regulamentului Tehnologic de Producere a unguentului combinat cu conținut de izohidrafural și fluocinolon acetamid.....	240
Anexa 20. Proiect de Monografie farmaceutică a unguentului combinat cu conținut de izohidrafural și metiluracil.....	249
Anexa 21. Proiect de Monografie farmaceutică a unguentului combinat cu conținut de izohidrafural, metiluracil și benzocaină.....	255
Anexa 22. Proiect de Monografie farmaceutică a unguentului combinat cu conținut de izohidrafural și fluocinolon acetamid.....	260
Anexa 23. Diplomă de gradul II.....	266

Anexa 24. Diplomă de gradul III.....	267
Anexa 25. Actul nr. 1 din 20.02.2019 de implementare a inovației „Medicamentul combinat nou: Unguent Izofural M pentru tratamentul plăgilor infectate”.....	268
Anexa 26. Actul nr. 2 din 20.02.2019 de implementare a inovației „Medicamentul combinat nou: Unguent Izofural MB pentru tratamentul arsurilor infectate”.....	269
Anexa 27. Actul nr. 3 din 20.02.2019 de implementare a inovației „Medicamentul combinat nou: Unguent Izofural F pentru tratamentul unor afecțiuni dermatologice infectate de origine inflamatorie”.....	270
Anexa 28. Certificat de inovator nr. 5677 din 20.02.2019 „Medicamentul combinat nou: Unguent Izofural M pentru tratamentul plăgilor infectate”.....	271
Anexa 29. Certificat de inovator nr. 5678 din 20.02.2019 „Medicamentul combinat nou: Unguent Izofural MB pentru tratamentul arsurilor infectate”.....	272
Anexa 30. Certificat de inovator nr. 5679 din 20.02.2019 „Medicamentul combinat nou: Unguent Izofural F pentru tratamentul unor afecțiuni dermatologice infectate de origine inflamatorie”.....	273
Anexa 31. Actul nr. 1 din 29.05.2019 de implementare a inovației „Medicamentul combinat nou: Unguent Izofural M pentru tratamentul plăgilor infectate”.....	274
Anexa 32. Actul nr. 2 din 29.05.2019 de implementare a inovației „Medicamentul combinat nou: Unguent Izofural MB pentru tratamentul arsurilor infectate”.....	275
Anexa 33. Actul nr. 3 din 29.05.2019 de implementare a inovației „Medicamentul combinat nou: Unguent Izofural F pentru tratamentul unor afecțiuni dermatologice infectate de origine inflamatorie”.....	276
DECLARAȚIA PRIVIND ASUMAREA RĂSPUNDERII.....	277
CV-ul AUTORULUI.....	278

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 acetonid, 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 Farmacopeice 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 Farmacopeice 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 acetonid. 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 бензокаинная 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-resorbative 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-resorbative 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-resorbative 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 nitrofuran 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.

LISTA TABELELOR

Tabelul 1.1. Compoziția formelor farmaceutice ale izohidrafuralului.....	34
Tabelul 1.2. Activitatea antibacteriană a formelor farmaceutice ale izohidrafuralului.....	34
Tabelul 1.3. Caracteristica farmacologică comparativă a unor anestezice locale utilizate pentru anestezia de suprafață.....	36
Tabelul 1.4. Caracteristica farmacologică comparativă a unor dermatocorticosteroizi.....	36
Tabelul 1.5. Caracteristicile modelelor reologice.....	40
Tabelul 1.6. Caracteristicile metodelor spectrofotometrice UV-VIS și fotocolorimetrice de analiză ale izohidrafuralului.....	42
Tabelul 1.7. Condițiile metodei CSS de analiză a fluocinolonului acetonid ca substanță pură și în forme farmaceutice.....	44
Tabelul 1.8. Condițiile metodei HPLC de analiză a fluocinolonului acetonid.....	45
Tabelul 2.1. Medicamentele dermatologice combinate autohtone înregistrate în Republica Moldova la 27.12.2017.....	48
Tabelul 2.2. Valorile variabilelor independente utilizate în optimizarea formulării unguentului combinat cu conținut de izohidrafural și metiluracil.....	64
Tabelul 2.3. Rezultatele experimentale ale variabilelor dependente.....	65
Tabelul 2.4. Rezultatele teoretice și experimentale ale formulării optime a unguentului combinat cu conținut de izohidrafural și metiluracil.....	67
Tabelul 2.5. Valorile variabilelor independente utilizate în optimizarea formulării unguentului combinat cu conținut de izohidrafural, metiluracil și benzocaină...	68
Tabelul 2.6. Rezultatele experimentale ale variabilelor dependente.....	69
Tabelul 2.7. Valorile variabilelor independente.....	72
Tabelul 2.8. Design-ul factorial 3^2 și rezultatele experimentale.....	73
Tabelul 3.1. Rezultatele determinării exactității metodei spectrofotometrice UV-VIS de dozare a substanțelor active din unguentul combinat.....	85
Tabelul 3.2. Robustețea metodelor spectrofotometrice UV-VIS de dozare a izohidrafuralului și metiluracilului din unguentul combinat.....	86
Tabelul 3.3. Rezultatele determinării exactității metodei spectrofotometrice UV-VIS de dozare a izohidrafuralului din unguentul combinat cu conținut de izohidrafural, metiluracil și benzocaină.....	89
Tabelul 3.4. Robustețea metodei spectrofotometrice UV-VIS de dozare a izohidrafuralului din unguentul combinat cu conținut de izohidrafural, metiluracil și benzocaină	90
Tabelul 3.5. Rezultatele determinării exactității metodei spectrofotometrice UV-VIS de dozare a substanțelor active din unguentul combinat cu conținut de izohidrafural și fluocinolon acetonid.....	93
Tabelul 3.6. Robustețea metodei spectrofotometrice UV-VIS de dozare a izohidrafuralului și fluocinolonului acetonid din unguent.....	94

Tabelul 3.7. Rezultatele determinării exactității metodei HPLC de dozare a izohidrafuralului din unguentul combinat cu conținut de izohidrafural și metiluracil.....	99
Tabelul 3.8. Rezultatele determinării robusteții metodei HPLC de dozare a izohidrafuralului și a metiluracilului din unguentul combinat.....	100
Tabelul 3.9. Rezultatele determinării exactității metodei HPLC de dozare a substanțelor active din unguentul combinat cu conținut de izohidrafural, metiluracil și benzocaină.....	104
Tabelul 3.10. Rezultatele determinării robusteții metodei HPLC de dozare a substanțelor active din unguentul combinat cu conținut de izohidrafural, metiluracil și benzocaină.....	105
Tabelul 3.11. Rezultatele determinării exactității metodei HPLC de dozare a substanțelor active din unguentul combinat cu conținut de izohidrafural și fluocinolon acetamid.....	108
Tabelul 3.12. Rezultatele determinării robusteții metodei HPLC de dozare a izohidrafuralului și a fluocinolonului acetamid din unguentul combinat.....	110
Tabelul 4.1. Modul de aplicare a unguentelor combinate.....	114
Tabelul 4.2. Valorile pH-ului unguentelor combinate.....	115
Tabelul 4.3. Evaluarea statistică a rezultatelor dozării substanțelor active din unguentul combinat cu conținut de izohidrafural și metiluracil.....	118
Tabelul 4.4. Evaluarea statistică a rezultatelor dozării substanțelor active din unguentul combinat cu conținut de izohidrafural metiluracil și benzocaină.....	118
Tabelul 4.5. Evaluarea statistică a rezultatelor dozării substanțelor active din unguentul combinat cu conținut de izohidrafural și fluocinolon acetamid.....	118
Tabelul 4.6. Valorile pH-ului la cercetarea stabilității unguentelor combinate.....	119
Tabelul 4.7. Valorile vâscozității la cercetarea stabilității unguentelor combinate.....	120
Tabelul 4.8. Activitatea antibacteriană a unguentelor combinate ale izohidrafuralului și a unguentului Izofural.....	124
Tabelul 4.9. Evaluarea activităților local-iritante și dermato-resorbtive ale unguentului combinat cu izohidrafural și metiluracil.....	124
Tabelul 4.10. Evaluarea activităților local-iritante și dermato-resorbtive ale unguentului combinat cu izohidrafural, metiluracil și benzocaină.....	125
Tabelul 4.11. Evaluarea activităților local-iritante și dermato-resorbtive ale unguentului combinat cu izohidrafural și fluocinolon acetamid.....	126

LISTA FIGURILOR

Fig. 1.1. Structura chimică a izohidrafuralului.....	29
Fig. 1.2. Structura chimică a metiluracilului.....	30
Fig. 1.3. Structura chimică a benzocainei.....	31
Fig. 1.4. Structura chimică a fluocinolonului acetonid.....	32
Fig. 2.1. Ponderea medicamentelor combinate de uz dermatologic autohtone și din import înregistrate în Republica Moldova la 27.12.2017.....	47
Fig. 2.2. Țările importatoare de medicamente dermatologice combinate în Republica Moldova la 27.12.2017.....	49
Fig. 2.3. Repartizarea medicamentelor dermatologice combinate după forme farmaceutice.....	49
Fig. 2.4. Repartizarea medicamentelor dermatologice combinate după conținut.....	50
Fig. 2.5. Termogramele DSC ale MTU, IHF, MTU/IHF 1:1 (m/m) (a), BNZ, IHF, IHF/BNZ 1:1 (m/m) (b), BNZ, MTU, BNZ/MTU 1:1 (m/m) (c) și FLAc, IHF, FLAc/IHF 1:1 (m/m) (d).....	54
Fig. 2.6. Termogramele DSC ale PEG 400, IHF, PEG 400/IHF 1:1 (m/m) (a), MTU, PEG 400, MTU/PEG 400 1:1 (m/m) (b) și PEG 400, BNZ, BNZ/PEG 400 1:1 (m/m) (c).....	55
Fig. 2.7. Termogramele DSC ale IHF, PEG 1500, IHF/PEG 1500 1:1 (m/m) (a), MTU, PEG 1500, MTU/PEG 1500 1:1 (m/m) (b) și BNZ, PEG 1500, BNZ/PEG 1500 1:1 (m/m) (c).....	56
Fig. 2.8. Termogramele DSC obținute pentru propilenglicol, IHF, propilenglicol/IHF 1:1 (m/m) (a), alcool cetostearilic, IHF, alcool cetostearilic/IHF 1:1 (m/m) (b), FLAc, propilenglicol, FLAc/propilenglicol 1:1 (m/m) (c) și FLAc, alcool cetostearilic, FLAc/alcool cetostearilic 1:1 (m/m) (d).....	57
Fig. 2.9. Termogramele DSC ale propilenglicolului, alcoolului cetostearilic și amestecului binar de propilenglicol/alcool cetostearilic 1:1 (m/m).....	58
Fig. 2.10. Spectrele FTIR ale MTU, IHF, MTU/IHF 1:1 (m/m) (a), BNZ, IHF, IHF/BNZ 1:1 (m/m) (b), BNZ, MTU, BNZ/MTU 1:1 (m/m) (c) și FLAc, IHF, FLAc/IHF 1:1 (m/m) (d).....	59
Fig. 2.11. Spectrele FTIR ale IHF, PEG 400, PEG 400/IHF 1:1 (m/m) (a), MTU, PEG 400, MTU/PEG 400 1:1 (m/m) (b) și BNZ, PEG 400, BNZ/PEG 400 1:1 (m/m) (c).....	60
Fig. 2.12. Spectrele FTIR ale IHF, PEG 1500, PEG 1500/IHF 1:1 (m/m) (a), MTU, PEG 400, MTU/PEG 1500 1:1 (m/m) (b) și BNZ, PEG 1500, BNZ/PEG 1500 1:1 (m/m) (c).....	61
Fig. 2.13. Spectrele FTIR obținute pentru IHF, propilenglicol, propilenglicol/IHF 1:1 (m/m) (a), FLAc, propilenglicol, FLAc/propilenglicol 1:1 (m/m) (b), IHF, alcool cetostearilic, alcool cetostearilic/IHF 1:1 (m/m) (c) și FLAc, alcool cetostearilic, FLAc/alcool cetostearilic 1:1 (m/m) (d).....	62

Fig. 2.14. Spectrele FTIR ale propilenglicolului, alcoolului cetostearilic și amestecului binar de propilenglicol/alcool cetostearilic 1:1 (m/m).....	63
Fig. 2.15. Suprafețele de răspuns ale factorilor de formulare și vâscozității determinate la $22\pm0,1^{\circ}\text{C}$ (a) și la $37\pm0,1^{\circ}\text{C}$ (b).....	66
Fig. 2.16. Suprafețele de răspuns ale factorilor de formulare și indicelui de consistență determinate la $22\pm0,1^{\circ}\text{C}$ (a) și la $37\pm0,1^{\circ}\text{C}$ (b).....	66
Fig. 2.17. Suprafața de răspuns a factorilor de formulare și activității osmotice.....	67
Fig. 2.18. Influența factorilor de formulare asupra indicelui de consistență determinat la temperaturile de $22\pm0,1^{\circ}\text{C}$ (a) și $37\pm0,1^{\circ}\text{C}$ (b).....	70
Fig. 2.19. Influența factorilor de formulare asupra vâscozității la cea mai mică viteză de forfecare la temperaturile de $22\pm0,1^{\circ}\text{C}$ (a) și $37\pm0,1^{\circ}\text{C}$ (b).....	71
Fig. 2.20. Influența factorilor de formulare asupra activității osmotice.....	71
Fig. 2.21. Influența factorilor de formulare asupra indicelui de consistență la $22\pm0,1^{\circ}\text{C}$ (a) și la $37\pm0,1^{\circ}\text{C}$ (b).....	74
Fig. 2.22. Influența factorilor de formulare asupra vâscozității la cea mai mică viteză de forfecare la $22\pm0,1^{\circ}\text{C}$ (a) și la $37\pm0,1^{\circ}\text{C}$ (b).....	75
Fig. 2.23. Influența factorilor de formulare asupra cedării in vitro a izohidrafuralului (a) și fluocinolonului acetonid (b).....	76
Fig. 3.1. Curbele de etalonare ale soluțiilor standard de izohidrafural (a) și metiluracil (b).....	83
Fig. 3.2. Curbele de etalonare ale soluțiilor standard de izohidrafural.....	87
Fig. 3.3. Curbele de etalonare ale soluțiilor standard de izohidrafural (a) și fluocinolon acetonid (b).....	91
Fig. 3.4. Curbele de etalonare ale soluțiilor standard de izohidrafural (a) și metiluracil (b).....	97
Fig. 3.5. Curbele de etalonare ale soluțiilor standard de izohidrafural (a), metiluracil (b) și benzocaină (c).....	101
Fig. 3.6. Curbele de etalonare ale soluțiilor standard de izohidrafural (a) și fluocinolon acetonid (b).....	106
Fig. 4.1. Reogramele tensiunii de forfecare în funcție de viteza de forfecare pentru unguentele combinate IHF+MTU la $22\pm0,1^{\circ}\text{C}$ (a) și $37\pm0,1^{\circ}\text{C}$ (b), IHF+MTU+BNZ la $22\pm0,1^{\circ}\text{C}$ (c) și $37\pm0,1^{\circ}\text{C}$ (d), IHF+FLAc la $22\pm0,1^{\circ}\text{C}$ (e) și $37\pm0,1^{\circ}\text{C}$ (f).....	115
Fig. 4.2. Reogramele vâscozității în funcție de viteza de forfecare pentru unguentele combinate IHF+MTU la $22\pm0,1^{\circ}\text{C}$ (a) și $37\pm0,1^{\circ}\text{C}$ (b), IHF+MTU+BNZ la $22\pm0,1^{\circ}\text{C}$ (c) și $37\pm0,1^{\circ}\text{C}$ (d), IHF+FLAc la $22\pm0,1^{\circ}\text{C}$ (e) și $37\pm0,1^{\circ}\text{C}$ (f).....	116
Fig. 4.3. Reogramele de tixotropie ale unguentului combinat IHF+MTU seria 1 la $22\pm0,1^{\circ}\text{C}$ (a) și $37\pm0,1^{\circ}\text{C}$ (b), seria 2 la $22\pm0,1^{\circ}\text{C}$ (c) și $37\pm0,1^{\circ}\text{C}$ (d), seria 3 la $22\pm0,1^{\circ}\text{C}$ (e) și $37\pm0,1^{\circ}\text{C}$ (f).....	116
Fig. 4.4. Reogramele de tixotropie ale unguentului combinat IHF+MTU+BNZ seria 1 la $22\pm0,1^{\circ}\text{C}$ (a) și $37\pm0,1^{\circ}\text{C}$ (b), seria 2 la $22\pm0,1^{\circ}\text{C}$ (c) și $37\pm0,1^{\circ}\text{C}$ (d), seria 3 la $22\pm0,1^{\circ}\text{C}$ (e) și $37\pm0,1^{\circ}\text{C}$ (f).....	117

Fig. 4.5. Reogramele de tixotropie ale unguentului combinat IHF+FLAc seria 1 la $22\pm 0,1^{\circ}\text{C}$ (a) și $37\pm 0,1^{\circ}\text{C}$ (b), seria 2 la $22\pm 0,1^{\circ}\text{C}$ (c) și $37\pm 0,1^{\circ}\text{C}$ (d), seria 3 la $22\pm 0,1^{\circ}\text{C}$ (e) și $37\pm 0,1^{\circ}\text{C}$ (f).....	117
Fig. 4.6. Cromatogramele HPLC obținute la 0 (a), 9 (b), 24 (c) și 30 (d) luni de la depozitarea unguentului combinat cu conținut de izohidrafural și metiluracil (seria 01)	121
Fig. 4.7. Cromatogramele HPLC obținute la 0 (a), 9 (b), 24 (c) și 30 (d) luni de depozitare a unguentului combinat cu conținut de izohidrafural, metiluracil și benzocaină (seria 01)	121
Fig. 4.8. Cromatogramele HPLC obținute la 0 (a), 9 (b), 24 (c) și 30 (d) luni de depozitare a unguentului combinat cu conținut de izohidrafural și fluocinolon acetamid (seria 01)	122

LISTA ABREVIERILOR

ATC	– Sistemul de clasificare Anatomic, Terapeutic, Chimic
BNZ	– Benzocaină
CEEPUS	– Central European Exchange Program for University Studies (Programul de schimb central european pentru studii universitare)
CMB	– Concentrația Minimă Bactericidă
CMI	– Concentrația Minimă de Inhibiție
CSS	– Cromatografia pe strat subțire
CȘM	– Centrul Științific al Medicamentului
DCI	– Denumire Comună Internațională
DSC	– Calorimetria cu Scanare Diferențială
ed.	– Ediție
F	– Formulare
Fig.	– Figura
FTIR	– Infraroșu cu transformare Fourier
FLAc	– Fluocinolon acetonid
HPLC	– High-performance liquid chromatography (Cromatografia Lichidă de Înaltă Performanță)
ICH	– International Conference of Harmonization (Conferința Internațională de Armonizare)
IHF	– Izohidrafural
IR	– Infraroșu
LCCM	– Laboratorul de control al calității medicamentelor
Mld	– Miliarde
MTU	– Metiluracil
nr.	– Număr
OMS	– Organizația Mondială a Sănătății
PEG	– Polietilenglicol
PT	– Proces tehnologic
RM	– Republica Moldova
RMN	– Rezonanță Magnetică Nucleară
SUA	– Statele Unite ale Americii
u.a.	– Unități arbitrare
UMF „Iuliu Hațieganu”	– Universitatea de Medicină și Farmacie „Iuliu Hațieganu”
USM	– Universitatea de Stat din Moldova
USMF „Nicolae Testemițanu”	– Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”
UV-VIS	– Ultraviolet-vizibil

INTRODUCERE

Actualitatea și importanța temei

Elaborarea medicamentelor combinate cu conținut de substanțe medicamentoase antibacteriene noi, pentru tratamentul maladiilor dermatologice infectate cu germeni bacterieni reprezintă una dintre direcțiile prioritare de cercetare-dezvoltare din domeniul sănătății și biomedicinii ale RM, dar și ale științei mondiale.

Terapia maladiilor dermatologice asociate cu infecții bacteriene rămâne a fi o problemă de stringentă actualitate atât în țara noastră, cât și la nivel mondial, cel puțin din următoarele considerente:

- incidența înaltă a infecțiilor bacteriene. Conform datelor OMS, în fiecare an, în lume circa 2 mld de oameni suferă de maladii infecțioase. Totodată, bolilor infecțioase le revin aproximativ 25% din cazurile letale [1]. În RM circa 55-60% din patologia umană țin de boli infecțioase [2];
- potențialul înalt al microorganismelor de a dezvolta rezistență la antibiotice [2];
- accesibilitatea redusă a substanțelor medicamentoase 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 USMF „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].

Pentru „Soluție Izofural 0,05%” au fost efectuate cercetările bacteriologice, farmacologice, farmaceutice și elaborate Monografia farmaceutică și Regulamentul tehnologic de producere. Au fost efectuate cu succes testările clinice, fiind înregistrat ca preparat antibacterian nou: Certificat de înregistrare al produsului medicamentos nr.748 din 5 octombrie 2011 [6].

De asemenea, pentru medicamentul „Unguent Izofural 0,1%” au fost efectuate cercetările bacteriologice, farmacologice, farmaceutice și clinice, fiind înregistrat ca preparat antibacterian nou: Certificat de înregistrare în Nomenclatorul de Stat al Medicamentelor nr. 17604 din 27.04.2012 [7].

Însă, tratamentul plăgilor și arsurilor infectate necesită administrarea medicamentelor combinate cu acțiune antimicrobiană, regenerantă, antiinflamatoare și analgezică pentru a reduce durata tratamentului și a accelera procesul de regenerare. Astfel, medicamentele combinate contemporane facilitează farmacoterapia și extinde posibilitățile de tratament [8, 9]. Metodele contemporane de tratament ale plăgilor și arsurilor infectate includ diverse combinații medicamentoase, care ar asigura tratarea răni în toate fazele sale. În faza exudativă este necesar administrarea preparatelor antiinflamatoare, antimicrobiene și anestezice locale, care ar reduce inflamația, durerea și ar asigura distrugerea microbilor. În fazele de proliferare și de epitelizare sunt necesare preparate cu acțiune regenerantă, care stimulează formarea țesutului nou. Astfel, administrarea unor medicamente combinate facilitează cu mult tratamentul plăgilor și arsurilor infectate [8, 9]. De asemenea, o problemă a terapiei plăgilor și arsurilor infectate este achiziționarea rezistenței agenților patogeni față de antibiotice, folosite des în tratament [10, 11]. Nu în ultimul rând, problema terapiei plăgilor și arsurilor infectate este legată de faptul că, majoritatea medicamentelor necesare tratamentului în RM sunt din import, fapt ce limitează accesibilitatea utilizării lor în medicină [2, 3]. Problemele enumerate ar putea fi soluționate prin elaborarea de noi medicamente combinate, fără conținut de antibiotice, care ar asigura tratamentul plăgilor și arsurilor infectate în toate fazele [3].

Terapia maladiilor cutanate de natură inflamatoare, precum psoriazisul și dermatitele infectate cu germeni bacterieni necesită utilizarea medicamentelor combinate, care ar reduce inflamația, pruritul și infecția.

În dependență de gradul de severitate, dermatitele pot deregla mai mult sau mai puțin funcțiile pielii [12, 13, 14, 15]. Tratamentul topic include utilizarea medicamentelor emoliente, care pe lângă faptul că vor înmuia papulele uscate, vor menține și o hidratare optimă [12, 13, 14, 15]. De asemenea se recomandă utilizarea corticoterapiei dermatologice pentru reducerea inflamației și pruritului, care pot duce la formarea rănilor și ulterior la infectarea acestora în special cu germeni bacterieni [12, 13, 14, 15]. Astfel, devine oportun administrarea medicamentelor antibacteriene în locul antibioticelor, care au devenit mai puțin eficiente din cauza rezistenței agenților patogeni [12, 13, 14, 15].

Psoriazisul este o maladie cutanată inflamatoare cronică. Tratamentul psoriazisului este orientat spre resorbția erupțiilor cutanate și prelungirea perioadei de latență, care poate fi efectuat

atât local, cât și sistemic [16, 17]. Actualmente, se administrează medicamente pentru uz extern cu conținut de glucocorticosteroizi pentru a reduce inflamația și a stopa pruritul [16, 17]. Deși psoriazisul prezintă un risc mai mic de infectare local, în cazurile în care a avut loc, *Staphylococcus aureus* a fost principalul microorganism izolat [16, 17, 18]. În prezent, pentru tratarea acestei infecții se recomandă utilizarea produselor farmaceutice antibacteriene, față de majoritatea antibioticelor topice, fiind instalată rezistența [16, 17, 18].

Izohidrafuralul, metiluracilul, benzocaina și fluocinolonul acetonid au fost selectate în calitate de substanțe active la formularea unguentelor combinate pentru tratamentul plăgilor, arsurilor, psoriazisului și dermatitelor infectate cu germeni bacterieni.

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 acetonid;
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-resorbitive 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 acetonid.

Ipoteza de cercetare

Asocierea agentului antibacterian izohidrafural cu o substanță medicamentoasă regenerantă și cicatrizantă, dar și cu un anestezic local va contribui la optimizarea tratamentului plăgilor și arsurilor infectate. Combinarea activității antibacteriene a IHF și acțiunilor antiinflamatoare, antialergică și antipruritică a FLAc va permite tratarea mai eficientă a dermatitelor și psoriazisului infectate.

Unguentul combinat IHF+MTU ar avea următoarele avantaje:

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

Unguentul combinat IHF+MTU+BNZ ar prezenta toate avantajele menționate mai sus, la care se alătură și înlăturarea durerii pacientului, datorită BNZ, care posedă efect anestezic local pronunțat.

Unguentul combinat IHF+FLAc ar prezenta avantajele: activitate antibacteriană pronunțată datorită IHF și acțiuni antiinflamatoare, antialergică, antipruritică datorate FLAc.

Toate cele trei unguente combinate elaborate vor face mai comodă terapia, deoarece pacientul va utiliza doar un singur medicament pe parcursul perioadei de tratament.

Reflectarea esenței conținutului tezei în publicații

Conținutul tezei se reflectă în 23 publicații științifice, dintre care 15 au fost prezentate la forumuri științifice.

Sinteza metodologiei de cercetare

Au fost utilizate substanțele medicamentoase și cele auxiliare acceptate conform specificațiilor de calitate prevăzute de Farmacopeea Europeană ed. 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: DSC și spectroscopia IR. Au fost analizate termogramele și spectrele IR obținute.

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: HPLC, spectrofotometria UV-VIS. Rezultatele obținute au fost prelucrate prin metode statistice, conform prevederilor Farmacopeii Europene, metodele fiind validate în

conformitate cu ghidurile ICH. Metoda HPLC a permis analiza concomitentă a substanțelor active din unguent.

Termenul de valabilitate al unguentelor combinate a fost stabilit prin metoda de studiu a stabilității în timp real, care a permis determinarea cu exactitate a acestui parametru important.

Activitatea antibacteriană a unguentelor combinate a fost efectuată prin metoda diluărilor 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 culturile de microorganisme care pot cauza cel mai des 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 USMF “Nicolae Testemițanu” în baza avizului pozitiv al Comitetului de Etică a Cercetării USMF „Nicolae Testemițanu” (Anexa 1).

Datele experimentale obținute au fost analizate din punct de vedere teoretic, critic și aplicativ și sunt prezentate în teză sub formă de tabele, poze și figuri.

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. În premieră s-au efectuat cercetări privind activitatea antibacteriană și realizate studii preclinice pentru evaluarea acțiunilor local-iritante și dermato-resorbitive.

Implementarea rezultatelor științifice

Au fost elaborate proiectele Regulamentelor Tehnologice de producere (Anexele 17, 18, 19) și proiectele Monografiilor Farmacopeice (Anexele 20, 21, 22) pentru cele trei forme farmaceutice: unguentul combinat cu conținut de izohidrafural și metiluracil, unguentul combinat cu conținut de izohidrafural, metiluracil și benzocaină și unguentul combinat cu conținut de izohidrafural și fluocinolon acetamid. Acestea au fost implementate în secția Forme magistrale a Centrului Farmaceutic Universitar „Vasile Procopișin” al USMF „Nicolae Testemițanu” (Anexele 25, 26, 27) și în cadrul Departamentului Managementul Calității a S.A. Farmaco (Anexele 31, 32, 33).

Problema științifică abordată, cu privire la insuficiența mijloacelor terapeutice în cazul unor maladii dermatologice infectate cu germeni bacterieni, datorată în primul rând numărului mic de medicamente combinate, autohtone, fără conținut de antibiotice, a fost soluționată prin:

1. elaborarea compoziției și tehnologiei de fabricație a trei unguente combinate: Unguentul combinat cu conținut de izohidrafural și metiluracil, Unguentul combinat cu conținut de izohidrafural, metiluracil și benzocaină cu posibilitatea utilizării în plăgile și arsurile infectate și Unguentul combinat cu conținut de izohidrafural și fluocinolon acetonid destinat tratamentului psoriazisului și dermatitelor infectate;
2. elaborarea metodelor de analiză a calității unguentelor combinate;
3. standardizarea unguentelor combinate;
4. determinarea termenului de valabilitate al fiecărui unguent combinat;
5. evaluarea activității antibacteriene și inițierea studiilor preclinice prin determinarea acțiunilor local-iritante și dermato-resorbitive pentru unguentele combinate.

Rezultatele cercetărilor au fost expuse la 15 forumuri științifice, 2 dintre care au fost apreciate cu diplomă:

- **Diplomă de gradul II** pentru comunicarea orală: „Разработка метода количественного определения для анализа комбинированной мази, содержащей Изогидрафурал и Метилурацил” susținut în cadrul Conferinței Științifice Internaționale: „Сучасні теоретичні та практичні аспекти клінічної медицини”, 19-20 aprilie 2012, Odesa, Ucraina (Anexa 23).
- **Diplomă de gradul III** pentru posterul: „Utilizarea formelor farmaceutice combinate în tratamentul arsurilor infectate” susținut în cadrul Conferinței Naționale de Farmacie clinică, Ediția a II-a „Provocări ale farmacoterapiei contemporane”, 15-17 iunie, 2017, București, România (Anexa 24).

În urma cercetărilor efectuate, au fost obținute 3 Certificate de inovator:

- Certificat de inovator nr. 5677 din 20.02.2019 „Medicamentul combinat nou: Unguent Izofural M pentru tratamentul plăgilor infectate” (Anexa 28);
- Certificat de inovator nr. 5678 din 20.02.2019 „Medicamentul combinat nou: Unguent Izofural MB pentru tratamentul arsurilor infectate” (Anexa 29);
- Certificat de inovator nr. 5679 din 20.02.2019 „Medicamentul combinat nou: Unguent Izofural F pentru tratamentul unor afecțiuni dermatologice infectate de origine inflamatoare” (Anexa 30).

Sumarul capitolelor tezei

1. Particularitățile utilizării medicamentelor combinate în terapia unor maladii dermatologice

Se prezintă surse bibliografice referitor la principiile tratamentului medicamentos local al plăgilor, psoriazisului și dermatitelor infectate cu germeni bacterieni. De asemenea se aduce caracteristica generală a izohidrafuralului și se argumentează necesitatea asocierii cu alte substanțe medicamentoase. Sunt descrise proprietățile fizico-chimice și farmacologice ale izohidrafuralului, metiluracilului, benzocainei și fluocinolonului acetonid în vederea combinării în forme farmaceutice. Se argumentează selectarea formei farmaceutice ca obiect de studiu în cercetările ulterioare. Este redată aplicarea metodelor DSC și spectroscopia IR în studiul compatibilității fizico-chimice a substanțelor medicamentoase și excipienților. Sunt expuse metodele de determinare a activității osmotice și a proprietăților reologice pentru unguente. Sunt prezentate sursele bibliografice în care sunt expuse metodele de analiză ale izohidrafuralului, metiluracilului, benzocainei și fluocinolonului acetonid.

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

Este prezentată evaluarea sortimentului de medicamente dermatologice combinate pe piața farmaceutică a RM în perioada 2012-2017. Sunt prezentate studiile de compatibilitate fizico-chimică dintre substanțe medicamentoase, excipienți și substanțe medicamentoase cu excipienți. Sunt expuse și descrise termogramele DSC și spectrele IR ale acestora.

Sunt reprezentate etapele determinării compoziției optimale a unguentelor combinate prin designul factorial deplin 3^2 prelucrat în programele computerizate: *Modde 13 software (Sartorius Stedim Data Analytics AB, Umea, Sweden)* și *Design Expert software (versiunea 8.0.7)*. Pentru a demonstra caracterul nenewtonian și pseudoplastic pentru toate formulările sunt prezentate: reogramele tensiunii de forfecare în funcție de viteza de forfecare la temperaturile: $22\pm 0,1^{\circ}\text{C}$ și $37\pm 0,1^{\circ}\text{C}$ și valorile indicelui de consistență la cele două temperaturi, calculate după modelul reologic Ostwald-de Waele. Pentru a verifica consistența formulărilor, a fost determinată vâscozitatea la diferite viteze de forfecare la ambele temperaturi. Sunt redată rezultatele parametrilor reologici: valorile indicelui de consistență și vâscozității la cea mai mică viteză de forfecare la temperaturile de $22\pm 0,1^{\circ}\text{C}$ și $37\pm 0,1^{\circ}\text{C}$, valorile activității osmotice și procentul cedării izohidrafuralului și fluocinolonului acetonid. Sunt redată compozițiile finale ale celor trei unguente combinate și etapele tehnologice de producere.

3. Elaborarea metodelor de analiză ale unguentelor combinate

Este prezentată analiza calitativă a unguentelor combinate elaborate prin reacții chimice. Este expusă elaborarea metodelor spectrofotometrice UV-VIS și HPLC de analiză a unguentelor combinate. Sunt redate validările metodelor de dozare ale substanțelor active din unguentele elaborate după următorii parametri: linearitate, limită de detecție, limită de cuantificare, selectivitate, exactitate, precizie și robustețe. Sunt expuse tehnicile de lucru și formulele de calcul utilizate la fiecare etapă.

Pentru analiza calitativă a unguentelor combinate cu conținut de izohidrafural și metiluracil sunt descrise: 7 metode spectrofotometrice UV-VIS și 3 metode HPLC. Pentru determinările cantitative sunt prezentate etapele de elaborare și validare pentru 5 metode spectrofotometrice UV-VIS și 3 metode HPLC.

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

Este prezentată standardizarea unguentelor combinate după parametrii de standardizare: descriere, omogenitate, pH, proprietăți reologice, dozare, stabilitate și sterilizare. Sunt expuse tehnicile de lucru. Este redată determinarea termenilor de valabilitate prin metoda în timp real pentru fiecare din cele trei unguente combinate, în conformitate cu prevederile ghidurilor ICH. Sunt expuse rezultatele obținute pentru 3 serii ale unguentelor combinate pentru parametri: descriere, omogenitate, pH, vâscozitate, identificare, puritate și dozare la 0, 3, 6, 9, 12, 18, 24 și 30 luni.

Este expusă activitatea antimicrobiană a unguentelor combinate, efectuată prin metoda diluărilor în serie în mediu nutritiv lichid: bulion peptonat din carne 2%, la pH-ul 7,0. Culturile investigate de microorganisme au fost: *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). Sunt expuse modalitatea și rezultatele determinării acțiunilor dermato-resorbitive și local-iritante la șobolani albi pentru unguentele combinate.

Expunerea concluziilor generale

Concluziile generale sunt în număr de 7 și reflectă în totalitate conținutul tezei și rezultatele obținute, fiind în concordanță cu scopul și obiectivele propuse.

Referințele bibliografice

Sursele bibliografice sunt actuale, majoritatea fiind din ultimii 5 ani, în număr de 155.

1. PARTICULARITĂȚILE UTILIZĂRII MEDICAMENTELOR COMBinate ÎN TERAPIA UNOR MALADII DERMATOLOGICE

1.1. Principiile tratamentului medicamentos topic al unor maladii dermatologice infectate

Bolile de piele sunt unele dintre cele mai răspândite maladii, care afectează anual milioane de oameni la nivel mondial [1, 19]. Un studiu efectuat în SUA arată că, pe parcursul anului 2013, 85 milioane de pacienți au primit consultație medicală pentru cel puțin 1 maladie cutanată [18]. 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, 19, 20]. În ultimii ani plăgile, arsurile, psoriazisul și dermatitele rămân a fi unele dintre cele mai frecvente boli de piele [1, 19].

Plaga (rana cutanată) este o maladie dermatologică, care se caracterizează prin pierderea continuității epitelului la acțiunea diferitor factori cu întreruperea funcției principale a pielii – cea de protecție a organismului [21, 22].

Deși plaga este aparent o afecțiune, care se manifestă local, induce de asemenea și modificări generale în organism, care se instalează imediat după apariția ei [21, 22]. Printre cele mai importante modificări generale se enumeră creșterea temperaturii corporale, accelerarea metabolismului bazal, inhibarea sintezei proteinelor etc. [22]. De regulă, după câteva zile modificările generale ale organismului se atenuează și încep modificările la nivel local prin regenerarea plăgilor, care are loc în trei faze: de inflamare, de proliferație și de epitelizare [23, 21, 22]. Există însă și o altă clasificare de evoluție a plăgii, care se desfășoară în patru etape. Este cunoscută sub denumirea de BYRP, fiind o abreviere de la inițialele cuvintelor englezești: Black – negru, ceea ce indică etapa de necroză, Yellow – galben, care arată prezența fibrinei, Red – roșu, ce semnifică țesutul de granulație și Pink – roz, care semnalează epitelizarea plăgii [23]. La suprapunerea acestor clasificări se poate deduce că, B și Y reprezintă faza de inflamare, iar R și P coincid etapelor de proliferație și de epitelizare [23].

Un tratament de succes al plăgilor va lua în considerare toate fazele de evoluție ale răni și de asemenea va preveni apariția complicațiilor, una dintre cele mai frecvente fiind infectarea [9, 23]. Deși, ar fi de așteptat ca plăgile operatorii să fie mai puțin predispuse infectării decât cele accidentale, incidența acestora este destul de mare, în special în țările în curs de dezvoltare [23]. Potrivit datelor statistice, care au inclus 220 publicații în perioada 1995-2008, incidența prin infecții de plăgi operatorii a fost de 5,6 cazuri la 100 intervenții chirurgicale în țările în curs de dezvoltare [23]. Datele statistice mai recente, potrivit OMS, arată că, pe parcursul anului 2016, rata acestora la nivel global a fost între 2,5% și 41,9%, fiind mai mare în țările în curs de dezvoltare [24, 25]. Situația în RM este la fel de problematică. Potrivit unui studiu, pe parcursul

anului 2017 incidența infecțiilor plăgilor operatorii a fost de 1,5 cazuri la 1000 intervenții chirurgicale, fiind pe locul doi, după infecțiile la lăuze [26].

Prezența țesuturilor devitalizate și a corpurilor străine formează condiții prielnice pentru dezvoltarea agenților patogeni [22]. De asemenea infectarea are loc în special atunci când nu a fost implementat tratamentul profilactic [10]. Profilaxia infecției plăgii se recomandă imediat după apariția răni, deși nu este interzisă nici în faza de regenerare, pentru a preveni infecțiile secundare [9]. Un rol important în prevenirea infecțiilor plăgilor în faza incipientă îl are utilizarea antisepticelor. Însă, practica medicală din ultimii ani arată că, administrarea acestora trebuie făcută cu precauție, deoarece ar putea induce complicații în faza de regenerare [9, 23]. Astfel, nu se recomandă utilizarea soluțiilor alcoolice, care ar putea provoca arsuri ale plăgii [9]. Se va utiliza cu precauție soluția de peroxid de hidrogen, deoarece oxigenul eliberat ar putea deteriora epitelizarea [9]. Nu se recomandă administrarea soluției de permanganat de potasiu, care ar putea provoca necroza epidermului [9].

În tratamentul plăgilor deja infectate cu germeni bacterieni se recomandă utilizarea antibioticelor din diverse clase, atât local, cât și sistemic în dependență de severitatea infectării [11, 23]. Însă, în practica medicală, tot mai des se recurge la administrarea locală a antibioticelor cu scop profilactic, mărind astfel riscul de instalare a rezistenței agenților bacterieni la aceste antibiotice [11]. Astfel, un studiu arată că, unguentul oftalmic de Cloramfenicol 10 mg/g, deși are indicația de a fi administrat în conjunctivite bacteriene, este utilizat pe larg în profilaxia infecțiilor intervențiilor chirurgicale plastice [11, 27]. Mai mult decât atât, acest studiu a demonstrat faptul că, aplicarea unei singure doze de unguent oftalmic de Cloramfenicol 10 mg/g cu scop profilactic în infectarea rănilor suturate, nu reduce semnificativ riscul de contaminare din punct de vedere clinic [27]. Tot mai des, cercetătorii din întreaga lume îndeamnă spre reorientarea atenției asupra substanțelor medicamentoase antibacteriene, care în ultimul timp au fost ignorate, atât în profilaxia, cât și în tratamentul plăgilor infectate cu agenți bacterieni [11, 27, 28, 29, 30, 31, 32].

În faza incipientă de regenerare a plăgilor, tratamentul medicamentos este îndreptat spre eliminarea exudatului prin administrarea medicamentelor cu efect osmotic. În ultimii ani, terapia plăgilor utilizează tot mai des unguente pe bază hidrofilă, de exemplu polietilenglicol, care pe lângă faptul că înlătură exudatul, posedă și o slabă activitate antibacteriană [33, 34]. Atunci când începe a se forma țesutul granulos, se necesită utilizarea medicamentelor cicatrizante [22].

Un tratament mai eficient al plăgilor infectate ar fi realizat prin utilizarea medicamentelor combinate, care ar asorta substanțe medicamentoase cu diferită activitate terapeutică:

antibacteriană, osmotică și stimulative a formării țesutului granulos și epitelial. Aceasta ar reduce semnificativ durata tratamentului și ar preveni apariția complicațiilor.

Un alt grup al bolilor dermatologice, care prezintă un risc major de infectare bacteriană îl reprezintă arsurile. Anual sute de mii de persoane din întreaga lume suferă de arsuri induse de diverși factori (termici, chimici, curent electric etc.) [1, 8, 10].

În dependență de adâncimea afectării, arsurile se clasifică în cele de gradul I, II, III A, III B și IV. Arsurile de gradele I – III A de regulă sunt cele de suprafață, iar cele de gradele III B și IV sunt de adâncime, fiind afectate toate straturile pielii [35].

Mai multe studii indică faptul că, din cauza degradării tegumentului, dar și a imunosupresiei, arsurile se infectează foarte ușor. Hemoragia și țesuturile devitalizate contribuie la apariția și răspândirea infecției destul de rapid. De asemenea, mai multe cercetări indică faptul că, la pacienții arși au fost depistate concentrații mici ale limfocitelor *T helper* și creșterea de limfocite *T supresor*. Aceasta indică o scădere a imunității organismului și o dificultate în a face față infecțiilor [2].

Principalii agenți cauzali sunt microorganismele genurilor *Streptococcus*, *Staphylococcus* și *Pseudomonas aeruginosa*, care potrivit celor mai recente studii, au creat rezistență la multiple antibiotice [2,11].

Tratamentul medicamentos în cazul arsurilor infectate 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 [19, 21].

În cazul arsurilor, în care nervii nu au fost afectați, pacienții se confruntă cu o durere severă. Astfel, pentru a înlătura durerea se recurge la utilizarea anesteziei locale, care sunt prezente în diverse forme farmaceutice topice: gel, unguent, soluție etc.

O altă etapă în terapia arsurilor este vindecarea plăgilor formate. Astfel, se pot utiliza substanțe regenerante și cicatrizante. În acest caz se urmărește scopul de a trata rana cât mai rapid, prevenind astfel și formarea cicatricilor.

Un rol important la tratarea arsurilor cu medicamente topice îl are excipientul. Astfel, mai multe studii indică avantajele utilizării amestecurilor de polietilenglicoli cu masa moleculară mică și mare. Pe lângă faptul că, sunt de natură hidrofilă și vor fi mai ușor aplicate și înlăturate, posedă și activitate osmotică. În acest mod, exudatul format în arsuri va fi absorbit și se va exclude riscul infectării [33, 34].

Excipientul din polietilenglicol servește și ca promotor pentru antibiotice sau antibacteriene, măbind penetrația acestora prin zonele infectate și inflamate [33, 34].

O altă clasă a bolilor dermatologice cu o frecvență înaltă la nivel mondial și care prezintă un risc major de infectare sunt cele de natură inflamatoare: psoriazisul și dermatitele [1, 36].

Psoriazisul este o maladie cutanată inflamatorie cronică, care afectează cel puțin 100 milioane de persoane de toate vârstele la nivel mondial [36]. La data de 24 mai 2014, la cea de a 67-a Adunare Mondială a Sănătății, în cadrul OMS, psoriazisul a fost recunoscut drept o problemă de sănătate globală [36]. Această afecțiune a devenit temă de discuție mondială deoarece, pe lângă incidența înaltă de 1-3% din populația globului, se alătură și faptul că nu poate fi tratată definitiv, persistând pe tot parcursul vieții [16, 17]. De asemenea se pot induce complicații severe precum afectarea unghiilor la circa 30% din cazuri, creșterea riscului bolilor cardiovasculare, apariția artritei psoriazice în 11-30% din cazuri [16, 17]. Deși nu este o boală contagioasă, manifestarea prin leziuni eritemato-papuloase acoperite de scuame, în special la nivelul membrelor și pe pielea scalpului induc pacientului un disconfort psihic și emoțional [16, 17, 36]. Acești pacienți suferă adesea de depresie, se integrează mai greu în societate [17], iar artrita psoriazică a devenit cauza dizabilității cu pierderea capacității de muncă [37].

Tratamentul psoriazisului este orientat spre resorbția erupțiilor cutanate și prelungirea perioadei de latență [16], care poate fi efectuat atât local, cât și sistemic [17, 38, 39]. De regulă, terapia locală este destul de eficientă în formele ușoare și moderate [39].

Una dintre cele mai vechi metode în medicația psoriazisului este utilizarea vaselinei cu rol de emolient [39]. Actualmente se administrează medicamente pentru uz extern cu conținut de glucocorticosteroizi pentru a reduce inflamația și a stopa pruritul [16, 17, 37, 38, 39]. De la primele încercări de utilizare locală a corticosteroizilor în dermatologie până în prezent au fost și continuă să se obțină o serie de substanțe medicamentoase noi cu activitate terapeutică mai mare și toxicitate mai redusă [39, 40, 41]. Potrivit unei clasificări a SUA există 7 clase de glucocorticosteroizi topici după potență, iar în Germania și Anglia se rezumă la 4 [39, 40, 41]. În terapia psoriazisului se utilizează dermatocorticosteroizi din toate grupele. Astfel, la sugari, copii și vârstnici, dar și la adulți în regiunile feței și gâtului sunt utilizați cei cu o potență mai mică. De obicei tratamentul psoriazisului la adulți se începe cu glucocorticosteroizi topici de o potență intermediară, cei de o potență înaltă și foarte înaltă fiind utilizați în stările severe, când apar leziunile cutanate [40, 41]. Această schemă de tratament a fost implementată pentru a reduce riscul reacțiilor adverse atât la nivel local, cât și sistemic [39, 40, 41].

Indiferent de gradul de evoluție a psoriazisului, există un risc major al infecțiilor bacteriene, micotice și virale [40, 41]. Pentru tratarea acestora, dar și eliminarea inflamației au fost concepute medicamentele combinate. De exemplu, cele mai renumite asocieri ale

betametazonului dipropionat sunt cele cu acid salicilic (antiseptic), gentamicină (antibiotic) și clotrimazol (antifungic) [40].

În practica medicală sunt utilizați și analogii vitaminei D₃, fiind mai eficienți în combinație cu glucocorticoizii topici. În ultimii ani, tot mai multe cercetări clinice indică faptul că, asocierea calcipotriolului cu dipropionat de betametazon în același unguent prezintă rezultate mult mai favorabile decât monoterapia [37, 42].

Deși psoriazisul prezintă un risc mai mic de infectare local decât plăgile sau dermatitele [43], în cazurile în care a avut loc, *Staphylococcus aureus* a fost principalul microorganism izolat [44, 45]. În prezent, pentru tratarea acestei infecții se recomandă produse farmaceutice cu conținut de antibacteriene, față de majoritatea antibioticelor topice fiind instalată rezistența [44, 45].

Dermatitele sunt maladii cutanate de natură inflamatoare care, în dependență de gradul de severitate, pot deregla funcțiile pielii [46]. În lexiconul medical există pluralul acestei afecțiuni, datorită multiplelor forme sub care se poate manifesta. Astfel, cele mai frecvente tipuri cunoscute în practica medicală sunt dermatitele atopică, seboreică, de contact și neurodermatita [46, 47]. Deși nu sunt contagioase, pot induce pacientului un disconfort psiho-emoțional cauzat în primul rând de prezența erupțiilor cutanate în părțile vizibile ale corpului precum scalp, față și gât, fiind asociate cu prurit [12, 47].

Potrivit celor mai recente date statistice, dermatita atopică se află în topul dermatitelor cu o prevalență la nivel mondial de 2-5% la adulți și peste 20% la copii [13, 14]. Un studiu efectuat în perioada iulie – septembrie 2014, în 15 regiuni ale Chinei, se atenționează faptul că dermatita atopică a fost una dintre cele mai frecvente tipuri de dermatită asociată cu infecții bacteriene [46]. Acest fapt, dar și complexitatea maladiei în sine face ca terapia pacienților să fie dificilă. Astfel, în dependență de severitatea afecțiunii, tratamentul local se recomandă în formele ușoare și moderate, iar în cazurile severe se recurge la tratamentul sistemic [46].

Tratamentul topic include utilizarea produselor farmaceutice emoliente, care pe lângă faptul că vor înmuia papulele uscate, vor menține și o hidratare optimă [12, 14]. De asemenea se recomandă utilizarea corticoterapiei dermatologice pentru reducerea inflamației și pruritului [12, 14]. Actualmente, se utilizează diverse creme și unguente cu conținut de glucocorticosteroizi topici, care au la bază excipienți cu efect emolient [12, 14]. Însă, riscul efectelor adverse sistemice ale dermatocorticosteroizilor a indus înlocuirea acestora cu inhibitorii topici ai calcineurinei [12]. Din această clasă se cunosc medicamentele: unguent de tacrolimus cu concentrațiile 0,03% și 0,1% și cremă de pimecrolimus 1% [15, 48, 49]. În anul 2006 Administrația pentru Alimente și Medicamente din SUA a făcut o avertizare cu privire la

utilizarea acestora din motiv că ar putea induce maladii cutanate canceroase [48, 49], însă, mai multe metaanalize realizate din anul 2006 și până în prezent vin cu concluziile că, această prevenire nu poate fi justificată, deoarece a avut la bază doar argumente teoretice [48, 49]. Mai mult decât atât, cercetările clinice recente recomandă atât utilizarea inhibitorilor topici ai calcineurinei în zonele feței și gâtului, precum și a glucocorticoizilor topici în celelalte părți ale corpului [48, 49]. Totuși, cu precauție se utilizează dermatocorticoizii cu potență înaltă, în special la copii [48, 49].

În cazul infecțiilor cutanate ale pacienților cu dermatită atopică, colonizarea cu *Staphylococcus aureus* a fost cel mai frecvent semnalată [12]. Principala clasă de medicamente utilizate în acest scop o constituie antisepticele, în special soluțiile de clorhexidină și triclosan [12]. Un rol important îl are și administrarea preparatelor antibacteriene. Tot mai multe studii demonstrează instalarea rezistenței față de o serie de antibiotice topice, acestea fiind mai des utilizate în cazul unei infecții secundare [12].

1.2. Argumentarea combinării izohidrafuralului cu alte substanțe medicamentoase în unguente topice

Combinarea mai multor substanțe active într-un singur medicament a prezentat un interes în practica medicală [50, 51]. 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. [50]. Însă, principalul avantaj al terapiei combinate este mărirea compliancei tratamentului datorită comodității administrării de către pacient [51].

Deși a existat o perioadă în care medicamentele combinate au fost neglijate, astăzi nu poate exista medicina fără de complexe de vitamine și minerale, de asocierile unor antibiotice, antihipertensive și diuretice, contraceptivele orale etc. [51]. Potrivit unei metaanalize recente, cercetătorii sunt de părerea că, următorii 30 de ani vor fi “era de aur” a medicamentelor combinate orale [51].

Actualmente, se remarcă și o creștere a interesului față de terapia combinată locală în dermatologie [52]. Astfel, există deja multiple asocieri ale antibioticelor de uz extern, glucocorticoizilor topici, cicatrizantelor, anestezicelor locale etc. [40, 52]. Totuși, cea mai mare provocare a combinațiilor de medicamente dermatologice rămâne a fi tratamentul simultan al infecțiilor bacteriene rezistente la antibiotice și maladii cutanate [8, 9, 30, 52].

În ultimul timp, se atestă orientarea atenției către substanțele medicamentoase antibacteriene topice, precum derivații de nitrofuran, care au fost ignorați din cauza toxicității mărite [30, 53]. De asemenea cercetătorii din întreaga lume s-au axat pe modernizarea structurii

chimice a preparatelor antibacteriene existente pentru a obține noi molecule mai puțin toxice [30, 53]. O situație similară a prezentat obținerea izohidrafuralului.

Izohidrafuralul este un compus chimic organic, care a fost sintetizat în cadrul USM (Țapcov Victor, doctor în chimie, conferențiar universitar) [3, 5, 54, 55].

Denumirea chimică a izohidrafuralului este *izonicotinoilhidrazona aldehidei 5-nitro-2-furanice* [2, 3, 5, 52, 54, 52, 56] (Fig. 1.1).

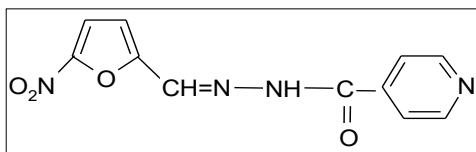


Fig. 1.1. Structura chimică a izohidrafuralului [54]

Ulterior, izohidrafuralul a fost investigat în mai multe centre științifice ale USMF „Nicolae Testemițanu”. În Laboratorul de infecții intraspitalicești a fost studiată activitatea antibacteriană și toxicitatea compusului sintetizat comparativ cu nitrofuralul [3, 5, 54, 55]. Astfel, izohidrafuralul posedă proprietăți antibacteriene semnificative împotriva bacteriilor atât aerobe, cât și anaerobe, de 2 până la 7 ori mai mari decât nitrofuralul [3, 5, 54, 55]. Activitate bactericidă în concentrații cuprinse între 1,25 - 5,0 μg/ml asupra tuturor tulpinilor genului *Staphylococcus* care au fost investigate, face ca acest remediu să fie unul de o adevărată valoare [3, 5, 54, 55]. De asemenea, izhidrafuralul este mai puțin toxic (LD₅₀ = 990 mg/kg) decât nitrofuralul (LD₅₀ = 166,7 mg/kg) [3, 5, 54, 55]. Un alt avantaj major este eficiența acestuia la aplicarea topică [3, 5, 54, 55].

Fiind un compus autohton, devine destul de accesibil ca substanță activă pentru producerea medicamentelor. Astfel, acest principiu activ a fost deja inclus în mai multe forme farmaceutice: „Soluție Izofural 0,05%” și „Unguent Izofural 0,1%” [2, 6, 7, 52]. Ambele medicamente sunt destinate pentru uz extern. Toate studiile farmaceutice au fost efectuate în cadrul CȘM al USMF „Nicolae Testemițanu”, fiind elaborate Monografiile farmaceutice temporare și Regulamentele tehnologice de producere [2, 6, 7, 52]. Cercetările bacteriologice și farmacologice efectuate au demonstrat eficacitatea acestora. Ambele produse farmaceutice au fost înregistrate în Nomenclatorul de Stat al Medicamentelor al RM ca produse medicamentoase („Soluție Izofural 0,05%”, certificat de înregistrare nr.748 din 05.10.2011 și „Unguent Izofural 0,1%”, certificat de înregistrare nr. 17604 din 27.04.2012) [2, 52].

Astfel, izohidrafuralul s-a dovedit a avea un spectru larg de activitate antibacteriană, inclusiv asupra germenilor rezistenți la antibiotice. Aceasta ar contribui la tratarea eficientă, dar și prevenirea infecțiilor bolilor cutanate.

Asocierea izohidrafuralului cu substanțe medicamentoase cicatrizante ar contribui la optimizarea tratamentului plăgilor infectate. În acest scop a fost selectat metiluracilul, care este un compus organic, derivat de pirimidină. DCI: 6-methyluracilum, denumirea IUPAC: *6-methyl-1H-pyrimidine-2,4-dione* (Fig. 1.2) [57].

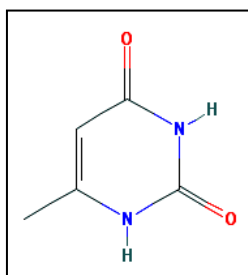


Fig. 1.2. Structura chimică a metiluracilului [57]

În practica medicală metiluracilul se administrează intern și extern, respectiv se află sub formă de comprimate 500 mg, unguent 10% și supozitoare 500 mg [58, 59]. Există deja și combinații ale metiluracilului cu substanțe medicamentoase din diverse grupe farmacologice, care s-au dovedit a fi destul de eficiente [9, 31, 60].

O analiză a asortimentului pieții farmaceutice din RM cu unguente combinate pentru tratamentul plăgilor infectate, indică faptul că în anul 2013, existau combinații ale metiluracilului, majoritatea fiind cu cloramfenicol [60, 61]. Datele acestui studiu sunt prezentate în Capitolul 2. De asemenea un studiu realizat în regiunea Novgorod, Rusia, privind asortimentul medicamentelor pentru terapia rănilor cutanate, arată că, în 48% din cazuri medicii au prescris unguentul Levomecol (combinația metiluracilului și cloramfenicol), indiferent de stadiul de evoluție a plăgii [62]. De asemenea mai multe studii confirmă synergismul care apare la combinarea metiluracilului cu unele antibiotice. Astfel, un grup de cercetători prezintă acest fenomen, dar și argumentarea elaborării unui unguent cu conținut de azitromicină 0,1% și metiluracil 5,0% [63]. Datorită avantajelor pe care le posedă metiluracilul: toxicității reduse, multiplelor efecte terapeutice și a posibilității de a forma combinații stabile și compatibile cu diverși compuși chimici, a fost posibilă asocierea acestuia și cu fitopreparate. Un studiu recent a avut drept scop combinarea metiluracilului cu extract de gălbenele [64].

Nu trebuie ignorată însă 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. În acest scop a fost selectată benzocaina, care este un derivat al acidului para-aminobenzoic, administrat la nivel local. DCI: benzocaine, denumirea IUPAC: *4-aminobenzoic acid ethyl ester* (Fig. 1.3) [65].

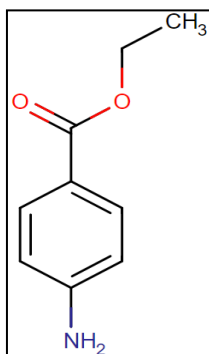


Fig. 1.3. Structura chimică a benzocainei [65]

Astfel, combinarea izohidrafuralului, metiluracilului și benzocainei într-o formă farmaceutică topică ar contribui la mărirea complianței tratamentului plăgilor sau arsurilor infectate. Dacă în monoterapie se necesită administrarea mai multor medicamente, care vor avea efecte diferite în dependență de faza de evoluție a plăgii, în terapia combinată se va utiliza un singur medicament în toate etapele. Acesta ar reduce și durata tratamentului.

În prezent, tot mai multe studii atenționează asupra riscului înalt de infectare bacteriană a dermatitelor și psoriazisului [38, 39, 43, 45, 46]. Recent, un grup de cercetători au demonstrat faptul că, *Staphylococcus aureus* poate coloniza în egală măsură atât pacienții afectați cu dermatită atopică care prezintă leziuni cutanate, cât și cei cu pielea integră [66]. Astfel, conceptul privind tratamentul antiinfecțios doar în cazul lezării în dermatită atopică nu mai poate fi considerat actual [66]. Utilizarea combinațiilor medicamentoase antibacteriene cu glucocorticoizi topici ar contribui la reducerea infecțiilor bacteriene, dar și la ameliorarea simptomelor dermatitelor sau psoriazisului [67].

Deși există o serie de medicamente combinate pentru uz extern, acestea nu mai fac față infecțiilor bacteriene din cauza rezistenței la antibiotice [67]. Combinarea izohidrafuralului și fluocinolonului acetonid în același unguent ar contribui la un tratament mai eficient al infecțiilor bacteriene în dermatite și psoriazis. De asemenea ar prezenta și un aport în prevenirea infecțiilor secundare.

Fluocinolonul acetonid este un glucocorticosteroid de primă linie în terapia dermatitelor și psoriazisului [18, 41].

DCI: Fluocinolone acetonide, denumirea IUPAC: *19-difluoro-11-hydroxy-8-(2-hydroxyacetyl)-6,6,9,13-tetramethyl-5,7-dioxapentacyclo[10.8.0.0²,⁹.0⁴,⁸.0¹³,¹⁸]icosa-14,17-dien-16-one*, formula chimică fiind prezentată în Figura 1.4 [68].

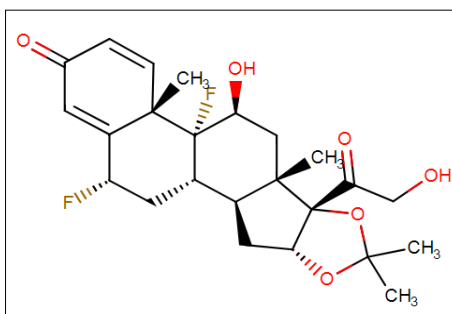


Fig. 1.4. Structura chimică a fluocinolonului acetonid [68]

Datorită efectelor sale antiinflamatoare, antialergice și antipruritice este frecvent utilizat topic [18, 41]. Deși fluocinolonul acetonid este de o generație nouă, nu pot fi excluse reacțiile adverse locale sau cele generale specifice tuturor glucocorticosteroizilor topici [18, 41]. Pentru prevenirea acestora în practica medicală au fost elaborate scheme de tratament, în care se monitorizează strict durata utilizării acestora [18, 40, 41]. În prezent, un rol important în reducerea apariției efectelor adverse îi revine asocierilor cu alte substanțe active [40]. Există deja forme farmaceutice combinate topice ale fluocinolonului acetonid cu antibioticul neomicină. Recent a fost elaborată o combinație a fluocinolonului acetonid cu antifungicul nitrat de miconazol [18]. Astfel, asocierea fluocinolonului acetonid cu izohidrafural va aduce un aport major în terapia dermatitelor și psoriazisului infectate cu germeni bacterieni, în special cu *Staphylococcus aureus*.

În prezent, tot mai multe cercetări indică faptul că unguentul este cea mai convenabilă forma farmaceutică în tratamentul local al diferitor maladii dermatologice, inclusiv în dermatite și psoriazis [69]. Pe lângă faptul că sunt eliminate efectele sistemice, unguentele se mențin pe o durată mai lungă de timp la locul aplicării. De asemenea prezintă o stabilitate mai înaltă comparativ cu soluțiile, gelurile sau cremele topice [69].

În cazul dermatitelor și psoriazisului pielea devine foarte uscată, cu erupții tipice, însoțite de inflamație și prurit. De obicei pacienții, sub influența mâncărimii, elimină crustele, formând leziuni, care ușor se infectează [12, 15, 39]. Astfel, folosirea unguentelor pe bază emolientă ar reduce aceste aspecte negative. În acest scop, la elaborarea unguentului combinat cu conținut de izohidrafural 0,1% și fluocinolon acetonid 0,025%, a fost selectată vaselina. Este totodată și unul dintre cei mai importanți excipienți naturali, ce poate fi aplicat pe pielea sensibilă, precum în dermatite și psoriazis [33, 34, 70]. Însă, ambele substanțe active sunt insolubile atât în vaselină, cât și în apă, ceea ce impune încorporarea după tipul suspensie. Având în vedere faptul că fluocinolonul acetonid se află în unguent în cantități foarte mici, introducerea sub formă de suspensie ar duce la o încorporare neuniformă în baza de unguent. Prin urmare, a fost selectat

propilenglicolul pentru dizolvarea acestuia. Deoarece propilenglicolul este un excipient de natură hidrofilă, iar vaselina posedă caracter hidrofob, a fost ales alcoolul cetostearilic ca agent de emulsionare, fiind de asemenea și un bun emolient [33]. Un avantaj al bazelor de unguent emulsive este și faptul că, acestea sunt preferate de către pacienți și personalul de îngrijire pentru comoditatea aplicării și înlăturării.

În ultimul timp, un interes în terapia plăgilor infectate îl prezintă unguentele pe bază hidrofilă [32]. În special sunt utilizate aliajele de PEG-uri cu masă moleculară mică și mare. Acestea au capacitatea de a ceda mai rapid substanțele active, nu dereglează termoreglarea și funcțiile glandelor sebacee, sunt mai ușor îndepărtate de pe piele și posedă o ușoară acțiune antibacteriană [32]. Însă, avantajul cel mai mare îl constituie activitatea osmotică pronunțată, importantă în eliminarea exudatului format în prima fază a plăgilor [32, 71, 72, 73]. De asemenea, baza de unguent de natură hidrofilă este preferată de către pacienți, datorită posibilității de aplicare în zonele cu pilozitate, dar și îndepărtarea mai ușoară prin spălare cu apă. Astfel, elaborarea unor unguente combinate cu conținut de izohidrafural, metiluracil și benzocaină, având ca bază amestecul hidrofil de PEG 400 și PEG 1500, va duce la mărirea complianței tratamentului plăgilor și arsurilor infectate.

1.3. Compatibilitatea farmacologică a substanțelor medicamentoase

Izohidrafuralul prezintă o activitate antibacteriană pronunțată, datorită prezenței grupei nitro în poziția 5 a ciclului furanic, care după reducerea în grupa aminică de către flavoproteinele microbiene, produce modificări la nivelul ADN-ului celulei bacteriene [3, 32, 54]. De asemenea, un rol important îl are și gruparea azometinică din poziția 2 a furanului, care a contribuit la o toxicitate mult mai redusă [30, 32]. Un studiu experimental efectuat pe 160 șobolani a permis calcularea dozei toxice a substanței medicamentoase – izohidrafural, care este $LD_{50} = 990 \text{ mg/kg}$ în comparație cu cea a furacilinei, $LD_{50} = 166,7 \text{ mg/kg}$ [3, 4, 5].

Avantajul principal al acestei substanțe active este activitatea antibacteriană înaltă față de germenii bacterieni rezistenți la majoritatea antibioticelor. Compusul manifestă o activitate înaltă atât bacteriostatică ($1,16\text{-}9,35 \text{ } \mu\text{g/ml}$), cât și bactericidă ($1,25\text{-}5,0 \text{ } \mu\text{g/ml}$) față de toate tulpinile cercetate din genul *Streptococcus* și *Staphylococcus* [3, 4]. Datele experimentale obținute demonstrează că activitatea bactericidă este de 2-7 ori mai înaltă față de analogul structural – furacilina [3, 4, 5]. Cu atât mai mult, activitatea antibacteriană a substanței medicamentoase, izohidrafural, s-a dovedit a fi și destul de stabilă în timp, menținându-se după 12 luni de cercetare [3, 4, 5].

Deoarece izohidrafuralul a fost deja inclus în câteva forme farmaceutice, la selectarea dozei pentru formularea unguentelor combinate s-a ținut cont de cercetările activității antibacteriene ale acestor medicamente (Tabelul 1.1 și Tabelul 1.2) [3, 4, 5, 6].

Tabelul 1.1. Compoziția formelor farmaceutice ale izohidrafuralului [5, 6]

Componentele	Soluție Izofural	Unguent Izofural nr.1	Unguent Izofural nr.2	Unguent Izofural nr.3	Unguent Izofural nr.4
Izohidrafural	0,05 g	0,1 g	0,1 g	0,1 g	0,1 g
PEG 400	60 ml	18,3 g	–	–	–
Propilenglicol	20 ml	–	12,0 g	–	–
Alcool cetostearilic	–	31,2 g	25,0 g	25,0 g	17,0 g
Glicerol	–	27,5 g	–	–	15,0 g
Laurilsulfat de sodiu	–	9,12 g	1,0 g	–	–
Tween 80	–	–	–	10,0 g	7,0 g
Ulei de vaselină	–	–	–	20,0 g	–
Vaselină	–	–	25,0 g	45,0 g	25,0 g
Apă purificată	până la 100 ml	13,7 ml	37,0 ml	35,0 ml	36,0 g

Tabelul 1.2. Activitatea antibacteriană a formelor farmaceutice ale izohidrafuralului [3, 4, 5, 6]

Medicament	Concentrația $\mu\text{g/ml}$, <u>CMI</u> CMB							
	Tulpinile de microorganisme							
	<i>Staphylococcus</i>			<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumonia</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
	<i>Wood</i>	<i>Smith</i>	<i>209-P</i>					
Soluție Izofural	<u>3,90</u> 7,80	<u>3,90</u> 3,90	<u>3,90</u> 3,90	<u>15,6</u> 250,0	<u>31,25</u> 62,50	<u>31,25</u> 62,50	<u>31,25</u> 31,25	<u>7,8</u> 15,6
Unguent Izofural nr. 1	<u>0,97</u> 0,97	<u>0,49</u> 0,49	<u>0,97</u> 0,97	<u>7,8</u> 62,5	<u>3,90</u> 3,90	<u>>62,50</u> >62,50	<u>31,25</u> 31,25	<u>7,8</u> 7,8
Unguent Izofural nr. 2	<u>1,95</u> 3,90	<u>1,95</u> 3,90	<u>1,95</u> 1,95	<u>7,8</u> 62,5	<u>7,80</u> 7,80	<u>62,50</u> 62,50	<u>31,25</u> 31,25	<u>15,6</u> 15,6
Unguent Izofural nr. 3	<u>1,95</u> 3,90	<u>1,95</u> 1,95	<u>1,95</u> 3,90	<u>15,6</u> >62,5	<u>31,25</u> 31,25	<u>31,25</u> 62,50	<u>31,25</u> 31,25	<u>7,8</u> 7,8
Unguent Izofural nr. 4	<u>3,90</u> 3,90	<u>3,90</u> 3,90	<u>7,80</u> 15,60	<u>3,9</u> >62,5	<u>31,25</u> 62,50	<u>31,25</u> 62,50	<u>31,25</u> 31,25	<u>7,8</u> 15,6

Rezultatele cercetărilor denotă faptul că, atât cele patru unguente, cât și soluția de Izofural posedă activitate antibacteriană bacteriostatică și bactericidă, care depinde de doza izohidrafuralului, dar și de excipienți. Unguentul Izofural nr. 1 a prezentat cea mai mare

activitate antimicrobiană. Astfel, pentru elaborarea unguentelor combinate a fost selectată doza izohidrafuralului de 0,1%.

Metiluracilul posedă diferite efecte terapeutice, cu o influență asupra mai multor procese vitale [74]. Fiind un analog al timinei, stimulează sinteza acizilor nucleici, care activează leucopoieza și procesele de regenerare ale țesuturilor [58, 64]. De asemenea manifestă acțiune antiinflamatoare [58, 64], necesară în prima fază de evoluție a plăgii.

Metiluracilul nu prezintă interacțiuni cu alte substanțe medicamentoase, fiind adesea asociat la nivel local cu diverși compuși cu acțiune antibacteriană, de cele mai dese ori cu nitrofuralul [58, 64].

Mai multe cercetări au demonstrat faptul că, metiluracilul are o toxicitate foarte mică, fiind tolerat de diferite animale la administrarea per orală a 1,0 g la 1 kg masă corporală. Acțiunea teratogenă este instalată la doze mai mari de 10 ori față de cea terapeutică a metiluracilului [58, 64, 74, 75, 76]. De asemenea, la aplicarea locală, metiluracilul nu provoacă iritații și nu se absoarbe în circulația sistemică [58, 64, 74, 75, 76].

Pentru aplicarea topică, este cunoscut unguentul cu metiluracil 10% pe bază lipofilă, de lanolină-vaselină, care deja nu mai corespunde cerințelor biofarmaceutice. Mai multe studii prezintă influența bazei de unguent asupra metiluracilului. Astfel, baza lipofilă contribuie la o aplicare dificilă pe rană, la o absorbție foarte lentă, la formarea exudatului, ce reduce contactul metiluracilului cu pielea afectată [58, 64, 74, 75, 76]. De asemenea, doza metiluracilului în baza lipofilă este foarte mare, ceea ce prezintă și un risc mai ridicat de instalare a reacțiilor adverse [58, 64, 74, 75, 76].

Potrivit unui studiu, formele farmaceutice elaborate cu un conținut de metiluracil de 2% în baza hidrofilă de enterosgel au contribuit la micșorarea termenului de regenerare a rănilor provocate la șoareci de la 1,5 până la 2,2 ori [75]. O altă cercetare științifică aduce rezultate pozitive privind regenerarea rănilor la șoareci la utilizarea unui unguent nou elaborat combinat ce conține 4% metiluracil într-o bază de unguent hidrofilă, de polietilenglicol [75, 76].

La selectarea dozei de metiluracil în unguentele combinate, am ținut cont de aceste studii, dar și de arsenalul de unguente comerciale ce conțin metiluracil în baza de polietilenglicol. De exemplu, unguentele Levomecol de la diverse companii farmaceutice conțin metiluracil în doza de 4% și PEG ca bază de unguent.

Benzocaina reprezintă esterul acidului para-aminobenzoic cu alcoolul etilic. Dintre toate anestezicele locale, posedă cea mai lungă acțiune terapeutică și cea mai joasă toxicitate la aplicarea topică (Tabelul 1.3) [35].

Tabelul 1.3. Caracteristica farmacologică comparativă a unor anestezice locale utilizate pentru anestezia de suprafață [35]

Denumirea anesteziei locale	Coeficientul de partiție lipide/apă logP	Constanta de aciditate (pKa)	Debutul acțiunii	Durata acțiunii	Toxicitatea
Benzocaină	2,20	2,78	Lent	lungă	medie
Clorhidrat de lidocaină	1,81	7,75	Rapid	medie	medie
Tetracaină	2,79	8,50	Rapid	scurtă	mare
Cincocaină	2,89	7,50	Rapid	lungă	mare

Mecanismul de acțiune constă în blocarea canalelor de sodiu din membranele fibrelor nervoase. Spre deosebire de celelalte anestezice locale, care se prezintă sub formă de săruri, benzocaina nu este influențată de pH-ul tisular, care scade în inflamație și provoacă reducerea formelor neionizate și respectiv instalarea anesteziei [35]. De asemenea, pentru acțiunea anestezică locală este importantă liposolubilitatea substanței medicamentoase. Benzocaina este foarte liposolubilă, ceea ce va permite o absorbție mai bună și reținere mai mare la locul aplicării de către țesutul adipos (Tabelul 1.3) [35]. Absorbția sistemică a benzocainei este foarte mică [35].

Benzocaina intră în componența unguentelor pe bază lipofilă în concentrații cuprinse între 5% și 10%, iar în baze hidrofile între 0,1% și 2 % [35]. În cercetările ulterioare, la elaborarea unguentelor combinate, a fost selectată doza benzocainei de 1%, fiind luată în considerare utilizarea PEG-urilor în calitate de excipient, dar și faptul că, toxicitatea crește o dată cu mărirea dozei.

Fluocinolonul acetonid este exclusiv un dermatocorticosteroid. După structura chimică, face parte din clasa glucocorticosteroizilor halogenați și esterificați, prezentând o activitate terapeutică de lungă durată și o toxicitate redusă [18, 40, 41]. În comparație cu alți dermatocorticosteroizi, fluocinolonul acetonid posedă o acțiune antiinflamatoare foarte mare, în timp ce activitatea mineralocorticoidă este redusă la minim (Tabelul 1.4).

Tabelul 1.4. Caracteristica farmacologică comparativă a unor dermatocorticosteroizi [35]

Denumirea glucocorticoidului	Concentrația, %	Activitatea antiinflamatorie	Activitatea mineralocorticoidă
Hidrocortizon	2,500	1	1
Prednizolon	0,500	5	0,3
Fluocortolon	0,250	5	0
Triamcinolon	0,100	5	0
Betametazon	0,100	35	0
Dexametazon	0,100	30	0
Fluocinolon acetonid	0,025	40	0

Fluocinolonul acetonid nu prezintă interacțiuni farmacologice cu antiseptice, antibiotice, antimicotice, antibacteriene etc., fiind prezent în combinații cu acestea [18, 40, 41].

Însă, la utilizarea topică a fluocinolonului acetonid poate avea loc absorbția sistemică, care depinde de concentrația acestuia, forma farmaceutică, suprafața și locul aplicării. Potrivit clasificării SUA, care evidențiază 7 clase de corticosteroizi topici, gelul de fluocinolon acetonid 0,025% se află în clasa 5, cu potență intermediară, crema de fluocinolon acetonid 0,025% – în clasa 4, cu potență intermediară, iar unguentul de fluocinolon acetonid 0,025% – în clasa 3, cu potență mare [40].

La elaborarea unguentului combinat, s-a ținut cont de acest fapt pentru a fi evitate efectele adverse sistemice, dar și cele locale. Astfel, a fost selectată doza de 0,025% și o bază de unguent emulsivă.

1.4. Metode aplicate la preformularea, formularea-optimizarea și analiza unguentelor combinate

- *Cercetarea compatibilității fizico-chimice a substanțelor medicamentoase și excipienților*

Cercetarea compatibilității fizico-chimice între substanțe medicamentoase este esențială pentru elaborarea medicamentelor combinate. Principiile active asociate, fiind de natură chimică diferită, ar putea interacționa între ele, obținându-se produși chimici lipsiți de activitate terapeutică sau toxici [77, 78, 79].

O etapă importantă la preformularea medicamentelor combinate este și studiul compatibilității fizico-chimice între substanțe medicamentoase și excipienți, dar și între excipienți între ei. Excipienții trebuie să fie inerti din punct de vedere farmacologic, dar și din punct de vedere fizico-chimic. Aceștia ar putea intra în reacții chimice, afectând stabilitatea și respectiv eficacitatea medicamentului [77, 78].

Studierea compatibilității fizico-chimice a substanțelor medicamentoase și excipienților ar permite ca într-un timp foarte scurt să se determine posibilele interacțiuni [78, 79, 80, 81, 82, 83, 84]. Cele mai întrebuițate metode folosite în acest scop sunt DSC și spectroscopia FTIR.

Metoda DSC constă în măsurarea energiei calorice apărute în urma unei variații de temperatură pentru o substanță chimică [85, 86, 87, 88, 89]. Fiind o tehnică termică, este capabilă să înregistreze modificările de natură fizică, dar și cele chimice ce se petrec cu probele de analizat [85, 86, 87, 88, 89]. Astfel, se măsoară fluxul de căldură dintre proba de analizat și cea de referință, care trebuie să fie identic. Interpretarea rezultatelor se face cu ajutorul diagramele DSC, prin care se pot evalua: temperatura de început a procesului de topire,

temperatura minimului vârfului endoterm, temperatura începutului descompunerii exoterme, precum și temperatura maximului vârfului exoterm [85, 86, 87, 88, 89].

Deoarece determinările se fac la temperaturi foarte înalte, la care medicamentul nu este expus în condiții reale, sunt necesare și alte metode, bazate pe principii de lucru la temperatura camerei [85, 86, 87, 88, 89].

Cel mai des, de rând cu DSC se aplică spectroscopia IR, care confirmă rezultatele prin detectarea atomilor și grupelor funcționale implicate în reacții chimice [90, 91]. Pentru studiul compatibilității fizico-chimice a substanțelor medicamentoase și excipienților, se interpretează spectrele IR. Prezența acelorași benzi de absorbție caracteristice grupărilor funcționale atât în spectrul fiecărei substanțe pure, cât și în spectrul amestecului denotă o lipsă a interacțiunilor chimice [85, 86, 87, 88, 89].

Picurile utile pentru identificarea grupărilor funcționale sunt situate în regiunea de lungime de undă infraroșu, în care pozițiile maximelor sunt puțin afectate de scheletul de carbon al moleculei. Identificarea grupărilor funcționale într-o moleculă este suficientă pentru a identifica prezența individuală a acesteia, cât și la aflarea în amestecuri cu alte substanțe chimice [90, 91].

- ***Determinarea activității osmotice a unguentelor pe bază de PEG***

În ultimul timp, tot mai multe cercetări prezintă concluzia că, aliajele de PEG sunt folosite atât în calitate de excipient, dar și pentru acțiunea osmotică [33, 71, 72, 73]. Astfel, devine indispensabilă determinarea cantităților optime de PEG-uri cu masă moleculară mare și mică. Mai multe studii prezintă influența concentrațiilor PEG-urilor asupra gradului de osmoză [71, 72, 73, 92], dar și avantajele acestora față de alte medicamente sau excipienți precum soluția de clorură de sodiu 10%, propilenglicol etc. [72].

Pentru a elabora un unguent combinat, eficient în toate fazele de evoluție a plăgilor infectate, trebuie selectate cantitățile optime de PEG-uri. Astfel, un grad de osmoză prea mare ar elimina cu ușurință exudatul format la început, însă ar putea avea un impact negativ asupra regenerării plăgii [72]. În literatura de specialitate este cunoscută metoda de osmoză (după Krowczynski), în care este utilizat un dispozitiv de dializă, care constă dintr-un tub de sticlă cu diametrul de 30 mm și o membrană de celofan atașată la un capăt. Pe partea interioară, pe celofan se plasează aproximativ 0,1 g de unguent. Dispozitivul de dializă împreună cu cantitatea de unguent se cântărește cu o exactitate de 0,00001 g și se plasează într-un vas cu apă purificată, la $35 \pm 1,0^\circ\text{C}$. După fiecare oră, tubul de dializă care conține proba de unguent este cântărit cu

exactitatea 0,00001 g. Experimentul se finisează după 6 ore. Valoarea activității osmotice este evaluată gravimetric și exprimată ca procent din masa inițială a unguentului [71, 73, 92].

- ***Determinarea proprietăților reologice ale unguentelor***

Determinarea proprietăților reologice ale unguentelor se face atât la etapa de preformulare, pentru selectarea adecvată a compoziției unguentului, cât și la evaluarea calității. Astfel, un unguent trebuie să fie suficient de consistent și cu o plasticitate optimă pentru a fi eliminat din tub și aplicat local [93, 94, 95, 96].

Unguentele sunt corpuri plastice, nenewtoniene, vâscozitatea modificându-se în dependență de temperatură și forțele de forfecare. De asemenea, unguentele nu curg la forțe de forfecare mici, dar suferă deformări elastice, reversibile [93, 94, 95, 96].

Proprietățile reologice ale unguentelor, depind primordial de factori interni, fiind influențate în special de natura excipienților, dar și a substanțelor medicamentoase. Totodată, acestea depind și de etapele de fabricare. De exemplu, un timp mai lung de omogenizare va duce la mărirea consistenței unguentelor-emulsii, din motivul creșterii numărului de particule emulsionate [93, 94, 95, 96].

Temperatura este principalul factor extern care contribuie la modificarea proprietăților reologice. La temperaturi înalte, rezistența și vâscozitatea unguentelor scad considerabil, iar la temperaturi joase cresc.

Astfel, în procesele de omogenizare și ambalare a unguentelor, dar și la determinarea factorilor optimali pentru păstrare și transportare, trebuie luați în considerare factorii interni și externi [93, 94, 95, 96].

Pentru testarea proprietăților reologice ale unguentelor, se utilizează pe scară largă vâscozimetre, care permit măsurarea tensiunii de forfecare și vâscozității în dependență de forțele de forfecare aplicate. De asemenea, determinările se pot efectua la diferite temperaturi [93, 94, 95, 96].

Consistența unguentelor este redată prin determinarea vâscozității la viteza minimă de forfecare. De obicei, unguentele pe bază hidrofilă ating valori ale vâscozității de până la 95 Pa·s, iar cele lipofile – până la 110 Pa·s. Astfel, cu cât unguentul va prezenta o vâscozitate mai mare, cu atât va fi mai consistent [93, 94, 95, 96, 97, 98].

Comportarea nenewtoniană a unguentelor este demonstrată dacă, se obține reograma în care tensiunea de forfecare crește o dată cu mărirea vitezei de forfecare [93, 94, 95, 96].

De asemenea, se aplică pe larg modelele reologice, care determină consistența și plasticitatea unguentelor: Ostwald (legea puterii), Bingham, Casson, Herschel-Bulkley și Cross (Tabelul 1.5) [93, 94, 95, 96, 97, 98].

Modelele reologice au la bază ecuații matematice, prin care se determină cele mai importante caracteristici reologice ale unguentelor: indicele de consistență, tensiunea minimă de curgere și indicele de curgere (Tabelul 1.5) [93, 94, 95, 96, 97, 98].

Tabelul 1.5. Caracteristicile modelelor reologice [93, 94, 95, 96, 97, 98]

Modelul reologic	Ecuația matematică	Parametri reologici
Ostwald (Legea puterii)	$\tau = K \cdot \dot{\gamma}^n$	τ – tensiunea de forfecare, Pa; K – indice de consistență, Pa·s ⁿ ; $\dot{\gamma}$ - viteza de forfecare, s ⁻¹ ; n – indice de curgere.
Bingham	$\tau = \tau_0 + \eta \cdot \dot{\gamma}$	τ – tensiunea de forfecare, Pa; τ_0 – tensiunea minimă de curgere, Pa; η – vâscozitatea plastică, Pa·s; $\dot{\gamma}$ - viteza de forfecare, s ⁻¹ .
Casson	$\tau^{0,5} = \tau_0^{0,5} + \eta^{0,5} \cdot \dot{\gamma}^{0,5}$	τ – tensiunea de forfecare, Pa; τ_0 – tensiunea minimă de curgere, Pa; η – vâscozitatea plastică, Pa·s; $\dot{\gamma}$ - viteza de forfecare, s ⁻¹ .
Herschel-Bulkley	$\tau = \tau_0 + K \cdot \dot{\gamma}^n$	τ – tensiunea de forfecare, Pa; τ_0 – tensiunea minimă de curgere, Pa; K – indice de consistență, Pa·s ⁿ ; $\dot{\gamma}$ - viteza de forfecare, s ⁻¹ ; n – indice de curgere.
Cross	$\frac{\eta - \eta_{\infty}}{\eta_0 - \eta_{\infty}} = \frac{1}{(1 + (\lambda \dot{\gamma})^m)}$	η – vâscozitatea la fiecare viteză de forfecare, Pa·s; η_0 – vâscozitatea la cea mai mică viteză de forfecare, Pa·s; η_{∞} – vâscozitatea la cea mai mare viteză de forfecare, Pa·s; $\dot{\gamma}$ – viteza de forfecare, s ⁻¹ ; λ – parametru temporal; m – indice de forfecare.

Indicele de consistență determină consistența unguentelor și reprezintă valoarea vâscozității la viteza de forfecare egală cu 1 s⁻¹ [93, 94, 95, 96, 97, 98].

Tensiunea minimă de curgere reprezintă cea mai mică viteză de forfecare care provoacă deformarea unguentului. Cu cât valoarea tensiunii minime de curgere va fi mai mare, cu atât unguentul va fi mai consistent, fiind mai greu ambalat și aplicat pe piele [93, 94, 95, 96, 97, 98].

Indicele de curgere indică plasticitatea. Astfel, pentru unguente, valoarea acestuia trebuie să fie mai mică decât 1, demonstrând comportarea pseudoplastică și de subțiere prin forfecare [93, 94, 95, 96, 97, 98].

- ***Eliberarea topică a substanțelor active din unguente***

Cedarea substanțelor active din forme farmaceutice topice poate fi cercetată prin metode *in vivo*, *in vitro* și *ex vivo* [99, 100, 101]. Cele mai avantajoase metode de determinare a eliberării principiilor active din unguente sunt cele *in vitro*. Deosebirea cea mai semnificativă este că, în comparație cu metodele *in vivo* și *ex vivo*, în cazul metodelor *in vitro* se folosesc membrane artificiale de difuzie: nylon, celuloză, celofan etc. Însă, membranele artificiale, după structură sunt foarte apropiate de pielea umană [99, 100, 101]. Potrivit Farmacopeei SUA, există 2 metode de testare a cedării *in vitro* a substanțelor active din unguente: celula de difuzie verticală (Franz Cell) și celula de imersie (Enhancer) [102]. În ambele cazuri, principiul se bazează pe montarea a două compartimente: donor și acceptor cu membrana de difuzie între ele. În compartimentul donor este plasată proba de unguent, iar în cel acceptor va avea loc difuzia substanțelor active [102]. La intervale egale de timp stabilite se prelevează probe din compartimentul acceptor pentru a determina cu exactitate concentrația de principiu activ cedat [102].

Se știe că, creșterea difuziei se poate obține cu ajutorul promotorilor chimici. Astfel, aceste metode permit de a determina cu ușurință influența promotorilor chimici asupra difuziei [99, 100, 101].

Literatura de specialitate indică mai multe studii, în care cedarea dermatocorticosteroizilor a fost mărită cu ajutorul propilenglicolului [33, 34]. Astfel, propilenglicolul servește ca agent de creștere a solubilității fluocinolonului acetonid la încorporarea în baza de unguent, dar în același timp, o cantitate prea mare ar putea duce la o absorbție mai mică [33, 34]. Pentru a determina cantitatea optimă a promotorului, la etapa de preformulare a unguentului combinat cu conținut de izohidrafural și fluocinolon acetonid a fost utilizată metoda cedării *in vitro* cu celula de imersie [99, 100, 101].

- ***Metode de analiză ale substanțelor active: izohidrafural, metiluracil, benzocaină și fluocinolon acetonid***

În cadrul Laboratorului de analiză, standardizare și control al medicamentului din cadrul CȘM al USMF „Nicolae Testemițanu” au fost elaborate o serie de metode de analiză pentru izohidrafural, atât chimice, cât și fizico-chimice [103].

Astfel, identificarea poate fi efectuată prin reacțiile chimice specifice derivaților 5-nitrofuranului. În textul unei teze de doctorat sunt prezentate reacțiile chimice de identificare elaborate pentru substanța pură de izohidrafural, dar și din unguentul monocomponent [54]. Un grup de cercetători a prezentat identificarea izohidrafuralului din soluția pentru uz extern prin reacțiile chimice elaborate cu reactivii: soluția de hidroxid de sodiu 0,1 mol/l, dimetilformamidă,

nitroprusiat de sodiu, soluția alcalină de tetraiodomercurat (II) de potasiu (reactivul Nessler) și vanadat de amoniu [6, 7].

Însă, cele mai apreciate metode de identificare elaborate rămân a fi cele fizico-chimice. Un grup de cercetători a prezentat analiza substanței pure de izohidrafural prin metoda de rezonanță magnetică nucleară, fiind confirmată și formula de structură [104].

Au fost elaborate și metodele spectroscopice de identificare și determinare a purității: spectroscopia IR, fotocolorimetria în baza reacției chimice cu soluția de hidroxid de sodiu 0,1 mol/l și spectrofotometria UV-VIS (Tabelul 1.6) [6, 7, 54].

Tabelul 1.6. Caracteristicile metodelor spectrofotometrice UV-VIS și fotocolorimetrice de analiză ale izohidrafuralului [6, 7, 54]

Solventul	Concentrația izohidrafuralului, $\mu\text{g/ml}$	Lungimea de undă maximă, nm
Apă purificată	20	360
Etanol	20	364
Metanol	20	350
Hidroxid de sodiu 0,1 mol/l	20	410
Dimetilformamidă	20	373

Pentru determinarea cantitativă au fost elaborate atât metode titrimetrice, cât și fizico-chimice de analiză. Fiind un prototip al nitrofuralului, a fost dezvoltată metoda iodometrică de dozare. Metoda se bazează pe oxidarea izohidrafuralului la adăugarea în exces a soluției de iod 0,01 mol/l în mediul bazic. Restul de iod se titrează cu tiosulfat de sodiu 0,1 mol/l în prezența amidonului ca indicator [6, 54].

De asemenea a fost elaborată metoda fotocolorimetrică de dozare a izohidrafuralului în baza reacției chimice cu soluția de hidroxid de sodiu 0,1 mol/l. Principiul metodei constă în absorbția luminii de către compusul colorat format în urma reacției la lungimea de undă maximă de 410 ± 2 nm [6, 54].

În monografiile existente ale metiluracilului ca substanță medicamentoasă pură sunt descrise mai multe metode de analiză [105, 106]. Astfel, pentru identificarea metiluracilului ca substanță medicamentoasă, în Farmacopeile Rusă ed. XII și Belorusă ed. II este prezentată reacție chimică cu apa de brom [105, 106]. Principalele metode de identificare ale metiluracilului descrise în cele două Farmacopei sunt fizico-chimice: spectroscopia IR și spectrofotometria UV-VIS [105, 106].

Determinarea impurităților înrudite chimic ale metiluracilului este descrisă în ambele Farmacopei prin metoda cromatografiei pe strat subțire [105, 106].

Analiza cantitativă a metiluracilului este prezentată în Farmacopeile Rusă ed. XII și Belorusă ed. II prin metoda volumetrică de analiză: neutralizarea în mediu anhidru [105, 106]. Metiluracilul, fiind un derivat al pirimidinei, deține proprietăți slab acide, care pot fi intensificate prin dizolvarea în solvenți protofili, precum dimetilformamida. Se va titra cu soluție de hidroxid de sodiu 0,1 mol/l în solvenți organici (amestec de metanol și benzen) în prezența soluției de albastru de timol 0,1% în dimetilformamidă ca indicator [105, 106].

În literatura de specialitate sunt rediate atât metode chimice, cât și fizico-chimice de analiză ale substanței medicamentoase – benzocaină. Astfel, pentru identificarea acesteia, Farmacopeea Română ed. X propune reacțiile chimice de formarea azocolorantului și iodoformului. De asemenea sunt descrise și metodele fizico-chimice: spectroscopia IR și spectrofotometria UV-VIS [107].

Farmacopeea Română ed. X prevede și determinarea impurităților specifice: cocaina și procaina prin reacția chimică cu reagentul tetraiodmercurat (II) de potasiu [107].

Analiza cantitativă a benzocainei este prezentată în Farmacopeea Română ed. X prin metoda nitritometrică cu indicatori interni [107].

În literatura de specialitate sunt descrise o serie de metode de analiză pentru fluocinolon acetamid, atât ca substanță medicamentoasă, cât și în componența formelor farmaceutice monocomponente: cremă, unguent și soluție topică, dar și într-o formă farmaceutică combinată: cremă cu conținut de sulfat de neomicină și fluocinolon acetamid [110, 111, 112, 113, 114].

Metodele fizico-chimice de analiză ale fluocinolonului acetamid prevalează în majoritatea Farmacopeilor. Astfel, metoda spectroscopică IR este recomandată pentru identificarea fluocinolonului acetamid în monografiile Farmacopeilor Europeană ed. 9, SUA ed. 32, Belorusă ed. II și Japoneză ed. XVII [105, 106, 107, 108, 109, 110].

În Farmacopeea Japoneză ed. XVII, pe lângă metoda spectroscopică IR, sunt prezentate și metodele chimice de identificare a fluocinolonului acetamid ca substanță medicamentoasă. Astfel, este recomandată reacția cu acidul sulfuric concentrat, specifică ciclului steroidic și reacția cu reactivul Fehling (soluția apoasă de sulfat de cupru și soluția apoasă de tartrat dublu de sodiu și potasiu). De asemenea este propusă și metoda de combustie în balonul cu oxigen, care pune în evidență fluorul legat covalent în molecula fluocinolonului acetamid [109]. Potrivit Farmacopeei SUA ed. 32, identificarea fluocinolonului acetamid din cremă, unguent și soluție cutanată se face după extracție, prin metoda CSS [111, 112, 113]. Această metodă se recomandă de asemenea, pentru identificarea fluocinolonului acetamid din crema combinată cu conținut

suplimentar de sulfat de neomicină [114]. În Farmacopeea Japoneză ed. XVII este propusă metoda CSS pentru depistarea impurităților înrudite chimic (Tabelul 1.7) [109].

Tabelul 1.7. Condițiile metodei CSS de analiză a fluocinolonului acetonid ca substanță pură și în forme farmaceutice [105, 106, 107, 108, 109, 110, 111]

Fluocinolon acetonid	Faza staționară	Faza mobilă	Detecția	Sursa bibliografică
Identificare				
Substanță	silicagel	amestec de nitrometan, diclormetan și metanol (50:50:1)	lumina UV	Farmacopeea SUA ed. 32
Cremă	silicagel	amestec de cloroform și dietilamină (2:1)	lumina UV	
Unguent	silicagel	amestec de cloroform și dietilamină (2:1)	lumina UV	
Soluție cutanată	silicagel	amestec de cloroform și dietilamină (2:1)	lumina UV	
Unguent combinat (fluocinolon acetonid și sulfat de neomicină)	silicagel	amestec de cloroform și dietilamină (2:1)	lumina UV	
Puritate				
Substanță	silicagel	amestec de cloroform și metanol (97:3)	lumina UV	Farmacopeea Japoneză ed. XVII

Farmacopeea Europeană ed. 9 recomandă metoda spectrofotometrică UV-VIS pentru dozarea fluocinolonului acetonid în substanță medicamentoasă [108]. Metoda se bazează pe absorbția luminii de către soluția etanolică de fluocinolon acetonid la lungimea de undă maximă de 238 nm [108].

Metoda HPLC este recomandată de către Farmacopeile Europeană ed. 9 și Belorusă ed. II pentru determinarea impurităților înrudite chimic ale fluocinolonului acetonid [106, 108]. Condițiile de cromatografiere sunt similare în ambele Farmacopei:

- faza staționară: coloana cromatografică impregnată cu octadecilsilil silicagel (4,6x250 mm), cu dimensiunea particulelor de 5μm;
- faza mobilă: amestec de acetonitril și apă purificată în raportul 1:1;
- detecția: 238 nm.

Metoda HPLC este de asemenea propusă în Farmacopeile Japoneză ed. XVII și SUA ed. 32 pentru dozarea fluocinolonului acetonid sub formă de substanță medicamentoasă, precum și din forme farmaceutice (Tabelul 1.8) [106, 109, 111, 112, 113, 114].

Tabelul 1.8. Condițiile metodei HPLC de analiză a fluocinolonului acetonid [106, 109, 111, 112, 113, 114]

Fluocinolon acetonid	Faza staționară	Faza mobilă	Standard intern	Detecția	Sursa bibliografică
Substanță	coloana cromatografică impregnată cu octadecilsilil silicagel (4,6x250 mm), dimensiunea particulelor de 5μm	amestec de acetonitril și apă (1:1)	propilbenzoat în acetonitril 1%	254 nm	Farmacopeea Japoneză ed. XVII
Substanță	coloana cromatografică impregnată cu octadecilsilil silicagel (4,5 mm x10 cm)	amestec de apă, acetonitril, și tetrahidrofuran (77:13:10)	–	254 nm	Farmacopeea SUA ed. 32
Cremă	coloana cromatografică impregnată cu octadecilsilil silicagel (4,5 mm x10 cm)	amestec de apă și acetonitril (5:3)	noretindron în acetonitril	254 nm	Farmacopeea SUA ed. 32
Unguent	coloana cromatografică impregnată cu octadecilsilil silicagel (4,5 mm x10 cm)	amestec de apă și acetonitril (1:1)	noretindron în metanol	254 nm	Farmacopeea SUA ed. 32
Soluție cutanată	coloana cromatografică impregnată cu octadecilsilil silicagel (4,5 mm x10 cm)	amestec de apă și acetonitril (3:2)	noretindron în acetonitril	254 nm	Farmacopeea SUA ed. 32

1.5. Sinteza capitolului 1

Studiul bibliografic realizat arată că, în ultimii ani cea mai înaltă prevalență la nivel mondial dintre bolile dermatologice s-a înregistrat în cazul plăgilor, psoriazisului și dermatitelor. Deși sunt afecțiuni cutanate, care de regulă se manifestă local, induc și schimbări generale la nivelul organismului. Din această cauză, tratamentul acestor boli trebuie privit în ansamblu. Aceste afecțiuni prezintă și un risc major de infectare cu agenți bacterieni, în special cu tulpinile genului *Staphylococcus*. Instalarea rezistenței bacteriilor la antibiotice complică și mai mult tratamentul. Din acest motiv, în prezent se atestă o creștere a atenției asupra substanțelor antibacteriene topice, precum derivații nitrofuranului, izohidrafuralul fiind unul dintre acestea. De-a lungul anilor a fost studiat în mai multe laboratoare științifice ale USMF „Nicolae Testemițanu”. Toate cercetările efectuate au demonstrat acțiunea lui antibacteriană înaltă, toxicitatea joasă, dar și accesibilitatea sporită. Deoarece izohidrafuralul a fost deja inclus în câteva forme farmaceutice, la selectarea dozei pentru formularea unguentelor combinate s-a ținut cont de cercetările anterioare ale activității antibacteriene ale acestor medicamente în comparație. Astfel, cea mai mare activitate antimicrobiană a prezentat-o unguentul Izofural, care conține doza de 0,1 %, fiind selectată această doză pentru elaborarea unguentelor combinate.

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 chiar mai multe devine mult mai comodă pentru pacient. De asemenea, se reduce și durata tratamentului, efectele terapeutice fiind atinse mult mai repede.

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 și benzocaina 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%.

Analiza mai multor surse bibliografice de specialitate indică faptul că, benzocaina manifestă cea mai lungă durată a acțiunii anestezice locale și o toxicitate redusă. Este asociată cu diverse substanțe medicamentoase în mai multe forme farmaceutice semisolide. Benzocaina, spre deosebire de celelalte anestezice locale, care se prezintă sub formă de săruri, nu este influențată de pH-ul tisular, care scade în infecție, ceea ce diminuează absorbția.

Pe excipienți hidrofilii, doza recomandată este între 0,1 și 2%, în cercetările ulterioare fiind selectată cea de 1%.

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.

La elaborarea medicamentelor multicomponente față de cele monocomponente se necesită studii suplimentare, de compatibilitate fizico-chimică. În acest scop, în literatura de specialitate se aplică metodele DSC și spectroscopia IR.

O analiză bibliografică indică faptul că pentru controlul calității izohidrafuralului, metiluracilului, benzocainei și fluocinolonului acetonid atât în calitate de substanțe pure, cât și din forme farmaceutice, există o serie de metode chimice și fizico-chimice.

Astfel, elaborarea medicamentelor combinate va contribui la mărirea complianței tratamentului plăgilor, psoriazisului și dermatitelor.

2. STUDIUL PIETII, PREFORMULAREA, FORMULAREA- OPTIMIZAREA ȘI TEHNOLOGIA UNGUENTELOR COMBinate

2.1. Medicamente dermatologice combinate pe piața farmaceutică din Republica Moldova

Produsele farmaceutice combinate au devenit în prezent destul de atractive, fiind tot mai des folosite în diverse ramuri ale medicinei, inclusiv în dermatologie [60, 61, 115]. Pentru a vedea care este situația în RM, s-a efectuat un studiu privind sortimentul de medicamente combinate utilizate în tratamentul local al afecțiunilor dermatologice în perioada 2012–2017 [60]. Au fost luate în calcul doar formele farmaceutice dermatologice cutanate, fiind excluse cele gingivale, orale, vaginale, rectale și oftalmice.

Drept obiect de cercetare a servit Nomenclatorul de Stat al Medicamentelor din RM, care a fost accesat în perioada 2012-2017.

Potrivit studiului realizat, pe parcursul perioadei de 5 ani au fost înregistrate în total 205 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 a înregistrărilor de medicamente combinate de la 7 denumiri în 2012 la 47 denumiri în 2017.

La capitolul aprovizionării pieții farmaceutice cu medicamente dermatologice combinate, majoritatea medicamentelor autorizate au fost din import, volumul producției locale fiind de aproximativ 3 ori mai mic (Fig. 2.1).

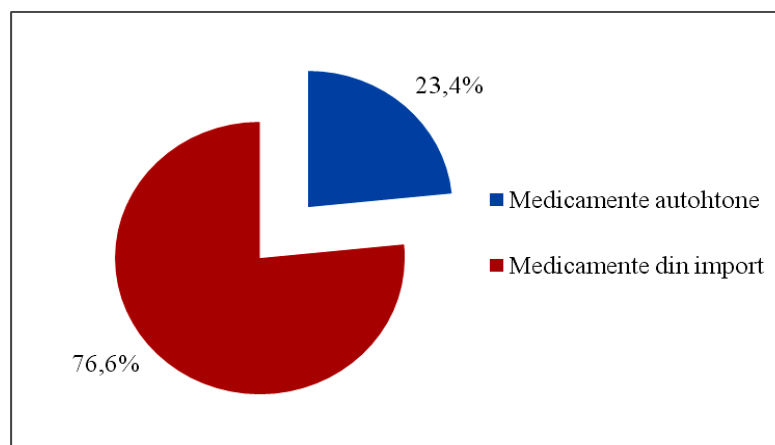


Fig. 2.1. Ponderea medicamentelor combinate de uz dermatologic autohtone și din import înregistrate în Republica Moldova la 27.12.2017

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	DCI	Forma farmaceutică	Data înregistrării	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

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 țări importatoare de medicamente combinate, de uz dermatologic în RM au fost: Rusia, Ucraina și România, împreună constituind jumătate din producția existentă pe piață (Fig. 2.5, Anexa 2). Pe următorul loc s-a plasat Austria și Polonia, urmate de Danemarca, Turcia și Elveția. Un număr mai mic de medicamente combinate de uz dermatologic a fost înregistrat din Bosnia și Herțegovina, Franța, Cehia, Germania și India (Fig. 2.2, Tabelul A 2).

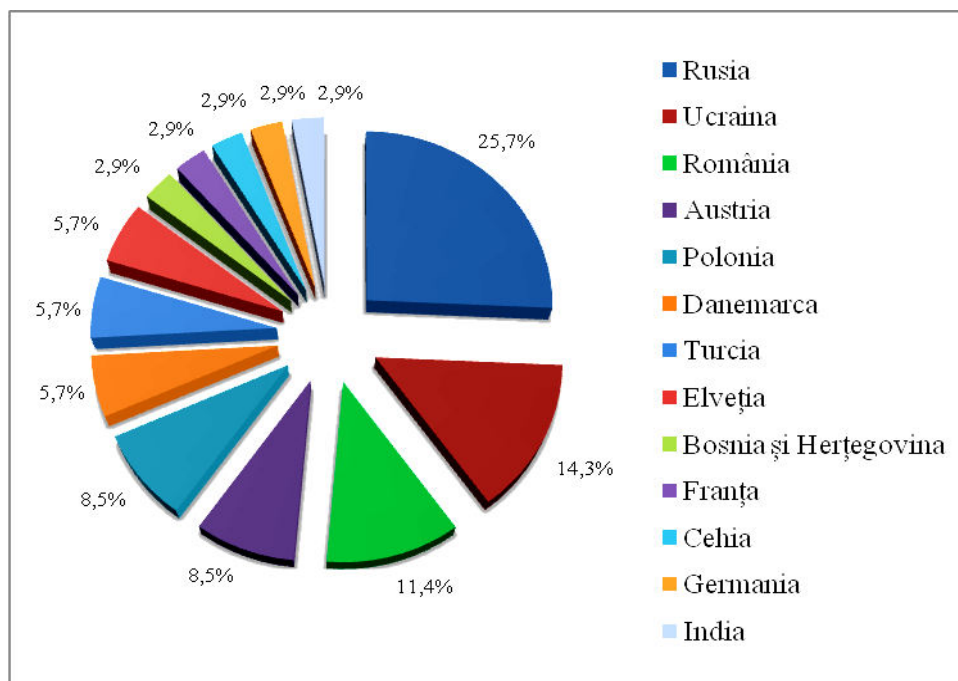


Fig. 2.2. Țările importatoare de medicamente dermatologice combinate în Republica Moldova la 27.12.2017

În perioada 2012–2017, în RM au fost înregistrate medicamente combinate de uz dermatologic 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 (Fig. 2.3).

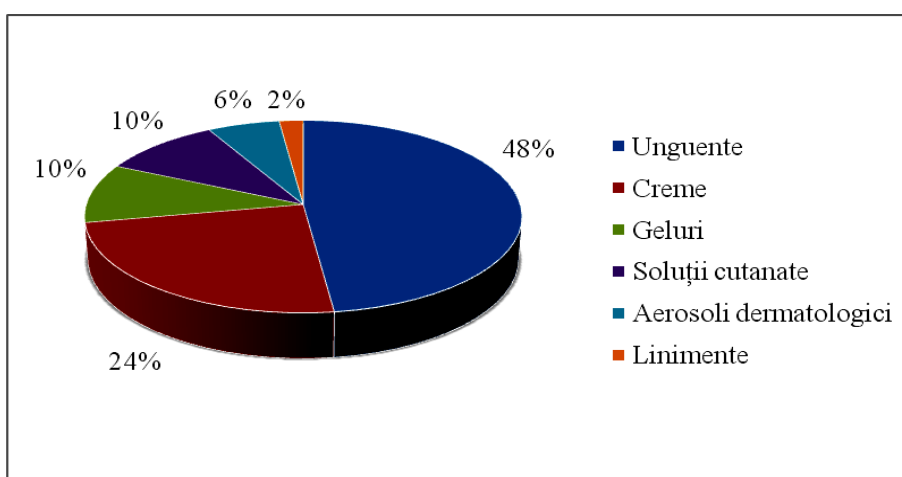


Fig. 2.3. Repartizarea medicamentelor dermatologice combinate după forme farmaceutice

A fost înregistrată doar o singură emulsie cutanată, însă este monocomponentă cu conținut de hidrocortizon ca substanță activă.

Medicamentele dermatologice combinate asociază substanțe active ale diferitor grupe farmacoterapeutice. Din arsenalul de medicamente dermatologice combinate autorizate în ultimii 5 ani în RM, majoritatea au prezentat asocieri dintre antibiotice și corticosteroizi cutanați – 9 denumiri, la care se alătură 7 denumiri, care conțin și antifungice, urmează combinațiile dintre antibiotice și regenerante – 5 denumiri, la care se adaugă încă 2 denumiri ce conțin suplimentar anestezice locale. Prezența antibioticelor în medicamentele dermatologice combinate nu se limitează doar la acestea, fiind autorizate și 2 denumiri ce conțin asocieri dintre antibiotice ale diferitor grupe farmacologice, dar și 1 denumire ce combină un antibiotic cu un anestezic local. Potrivit datelor obținute, 55% din medicamentele combinate de uz dermatologic, înregistrate în ultimii 5 ani au avut în compoziție antibiotice (Fig. 2.4).

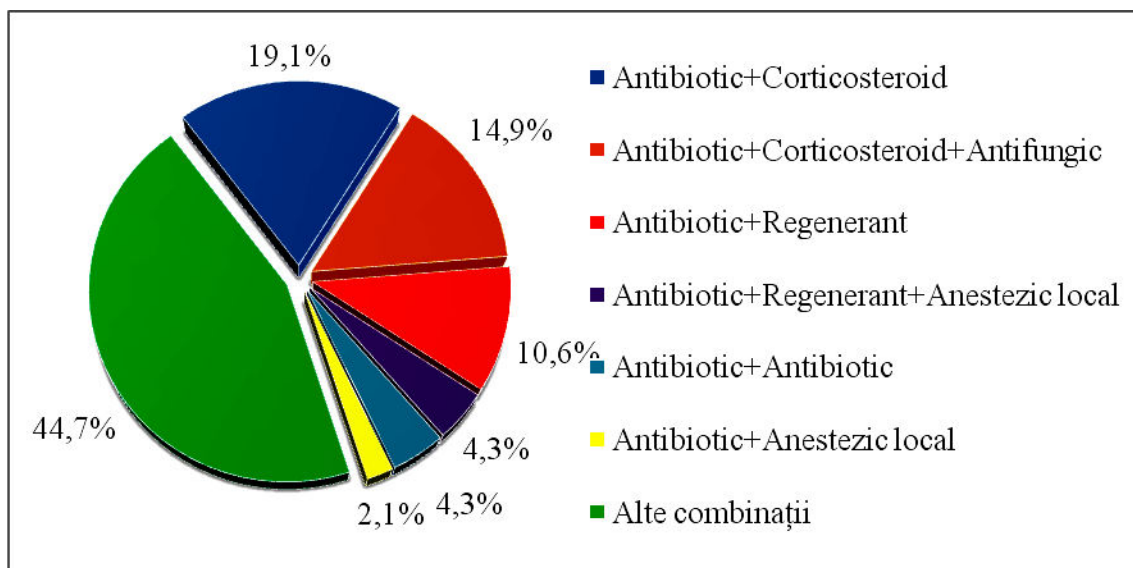


Fig. 2.4. Repartizarea medicamentelor dermatologice combinate după conținut

Substanțele medicamentoase, care sunt utilizate cel mai des în combinații medicamentoase topice au fost: cloramfenicolul, gentamicina, neomicina și oxitettraciclina. Deși au un spectru larg de acțiune, există riscul ca microorganismele să dezvolte rezistență la acestea. Soluționarea acestei probleme ar fi înlocuirea acestora cu substanțe medicamentoase antibacteriene.

2.2. Materiale și metode de cercetare

Substanțe medicamentoase și excipienți. În cercetările ulterioare s-au utilizat substanțele medicamentoase: izohidrafural (sintetizat la Catedra de chimie organică a Universității de Stat din Moldova, lot 00.01.112.10), metiluracil (Jiangsu International Economic-Technical Cooperation Corp., China), benzocaină (Sigma Aldrich, Saint Quentin Fallavier, France) și

fluocinolon acetonid (Sigma Aldrich, Saint Quentin Fallavier, France). În calitate de excipienți la elaborarea unguentelor au servit: PEG 400 (Fagron Group BV, Olanda), PEG 1500 (Fagron Group BV, Olanda), propilenglicol (Armila, Lituania), alcool cetostearilic (Armila, Lituania) și vaselină (Armila, Lituania).

Analiza DSC. Determinările DSC au avut loc la Catedra Analiza medicamentului a UMF “Iuliu Hațieganu”, Cluj-Napoca, România, în cadrul programului de mobilitate academică CEEPUS. Pentru înregistrarea termogramelor DSC, s-a utilizat sistemul Mettler Toledo 822, care este format din: balanță digitală Mettler Toledo (sensibilitate: 0,00001 g), ac perforator Mettler Toledo, presă Mettler Toledo, creuzete de aluminiu, mojar și pistil.

Probele au fost cântărite în creuzete de aluminiu de 40 μ l, cu capac găurit, închise la presă, masa probelor fiind cuprinsă între 1,4 și 4,3 mg, într-o atmosferă dinamică de azot, cu un debit de 80 ml/minut și o viteză de încălzire de 10°C/minut, în intervalul de temperatură 25-400°C, iar ca referință s-a folosit un creuzet gol din aluminiu, cu capac găurit. Termogramele DSC au fost stocate și prelucrate cu ajutorul software-ului STAR SW 12.10.

Analizele DSC s-au realizat pe probele substanțelor pure de izohidrafural, metiluracil, benzocaină și fluocinolon acetonid, pe excipienții individuali și pe amestecurile binare formate din substanțe medicamentoase, fiecare substanță medicamentoasă cu fiecare excipient în parte și pe amestecurile binare formate din excipienți în proporție de 1:1 (m/m). Amestecurile binare formate din substanță medicamentoasă/substanță medicamentoasă, substanță medicamentoasă/excipient și excipient/excipient s-au preparat prin cântărirea cantităților corespunzătoare de substanțe medicamentoase și excipienți și omogenizarea în mojar de agat timp de 20 minute.

Spectroscopia FTIR. Spectrele FTIR au fost înregistrate la spectrofotometrul în infraroșu cu transformare Fourier: SPECTRUM 100 (PERKIN ELMER, SUA) prin reflexie total atenuată în cadrul Institutului de chimie al Academiei de Științe din RM.

Amestecurile binare mecanice dintre substanțe medicamentoase și excipienți s-au preparat prin aceeași metodologie ca și în cazul metodei DSC. Spectrele FTIR ale substanțelor pure de izohidrafural, metiluracil și fluocinolon acetonid, precum și ale excipienților individuali au fost comparate cu cele obținute prin analiza amestecurilor mecanice binare 1:1 (m /m) pentru a identifica posibilele interacțiuni. Toate spectrele FTIR au fost înregistrate în intervalul 4000 și 400 cm^{-1} [90, 91].

Pentru a selecta concentrațiile de PEG-uri, care ar oferi un grad optimal de osmoză unguentelor combinate, a fost aplicată metoda de osmoză (după Krowczynski) [71, 72, 73]. Tehnica de lucru a fost preluată dintr-un studiu efectuat de către cercetătorii Nichitina N. și

Stepaniuc S. [71]. A fost utilizat un dispozitiv de dializă format dintr-un tub de sticlă cu diametrul 30 mm, la un capăt al căruia fiind atașată o membrană de celofan. Pe partea interioară a acestuia, pe celofan, a fost plasat circa 0,1 g unguent și s-a cântărit la balanța analitică. Apoi a fost introdus într-un vas cu apă purificată cu 2-3 mm deasupra, la temperatura 37°C. După fiecare oră, s-a îndepărtat tubul de dializă și s-a cântărit la balanța analitică. Experimentul a durat 6 ore. Valoarea activității osmotice a fost evaluată gravimetric și exprimată ca procent din masa inițială a unguentului [72].

Studiul reologic. Pentru testarea proprietăților reologice s-a utilizat vâscozimetrul rotațional MultiVisc Rheometer, Fungilab. Din setul de tije a fost selectată tija R7, de tip cilindric. Determinările s-au efectuat la toate 18 trepte de viteză de rotație a tije în ordine crescătoare, apoi în ordine inversă. La fiecare treaptă de viteză s-a citit vâscozitatea probelor și tensiunea de forfecare. Experimentele reologice au avut loc la două temperaturi: 22±0,1°C – temperatura de păstrare a unguentelor și la 37±0,1°C – temperatura de la locul aplicării.

Dependența tensiunii de forfecare față de viteza de forfecare a fost analizată folosind modelul reologic Ostwald-de Waele sau “legea puterii” [116]:

$$\tau = K \cdot \gamma^n, \quad (2.1)$$

în care:

τ – tensiunea de forfecare, Pa;

K – indice de consistență, Pa*sⁿ;

γ – viteză de forfecare, s⁻¹;

n – indice de curgere.

Eliberarea topică a principiilor active din unguente. Condițiile de efectuare a cineticii cedării au fost în conformitate cu cele descrise în Farmacopeea SUA ed. 32 prin metoda celulei de imersie (Immersion Cell, Semisolid Drug Products - Performance Tests USP Chapter <1724>) [102]. S-a folosit aparatul testului de dizolvare cu palete, însă vasul cu capacitatea de 500 ml a fost înlocuit cu cel cu capacitatea de 200 ml și respectiv s-au utilizat palete de dimensiuni mai mici amplasate la o distanță de 25 mm mai sus de probă. Viteza de rotație a paletelor: 50 rotații/minut. Mediul de dizolvare a servit apa purificată. A fost folosită membrana de celofan cu diametrul 4 cm, care preventiv a fost menținută în mediul de dializă timp de 12 ore. Temperatura de lucru a fost de 37±0,5°C. Experimentul a durat 6 ore, fiind preluate probe la intervale de câte 30 minute [99, 100]. Conținutul de fluocinolon acetamid și izohidrafural în probele colectate s-a determinat prin metoda spectrofotometrică UV-VIS, validată preventiv și este expusă în Capitolul 3.

Tehnica de lucru: 2,0 g unguent se plasează în celula de difuzie și se acoperă cu membrana de dializă. Vasul de dializă se umple cu apă purificată în volum de 200 ml. După conectarea aparatului, se aduce temperatura mediului de dizolvare până la $37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, în care se cufundă celula de difuziune. Se conectează paletele și la intervale de timp a câte 30 minute se prelevează probe.

Pregătirea probelor de izohidrafural. La intervale egale de timp se prevalează 8 ml dializat. Se transferă într-un vas cotelat cu capacitatea de 10 ml și se aduce la semn cu apă purificată. În vasul de dializă se restituie 8 ml apă purificată.

Pregătirea probelor de fluocinolon acetamid. La intervale egale de timp se prevalează 4 ml dializat. În vasul de dializă se restituie 4 ml apă purificată.

Se măsoară absorbanta soluțiilor la spectrofotometrul UV-VIS, în cuve cu grosimea 10 mm, la lungimea de undă 241 nm pentru fluocinolon acetamid și 363 nm pentru izohidrafural. În calitate de soluție de referință a servit apa purificată. Cantitatea de substanțe active s-a determinat conform dreptelor de etalonare, prezentate în Capitolul 3.

Cantitatea de substanță medicamentoasă cedată (mg) a fost calculată după formula [102]:

$$Q_t = \frac{X_t \cdot V \cdot F}{1000} \quad , \quad (2.2)$$

în care:

Q_t – conținutul cantitativ de substanță medicamentoasă cedată, mg;

X_t – conținutul cantitativ de substanță medicamentoasă cedată la anumite intervale de timp, determinat din dreapta de etalonare, $\mu\text{g/ml}$;

V – volumul mediului de dizolvare;

F – factor de diluție.

Procentul de substanțe medicamentoase cedate la anumite intervale de timp s-a calculat, folosind formula [102]:

$$C_t = \frac{Q_t}{Q_0} \cdot 100\% \quad , \quad (2.3)$$

în care:

C_t – conținutul cantitativ de substanță medicamentoasă cedată, %;

Q_t – conținutul cantitativ de substanță medicamentoasă cedată, mg;

Q_0 – conținutul cantitativ de substanță medicamentoasă în unguent, mg.

2.3. Studiul compatibilității fizico-chimice dintre substanțe active, substanțe active cu excipienți și excipienți

2.3.1. Analiza Calorimetrică cu Scanare Diferențială

La studierea compatibilității fizico-chimice dintre substanțe medicamentoase, au fost obținute termogramele DSC ale substanțelor individuale și ale amestecurilor binare ale acestora (Fig. 2.5).

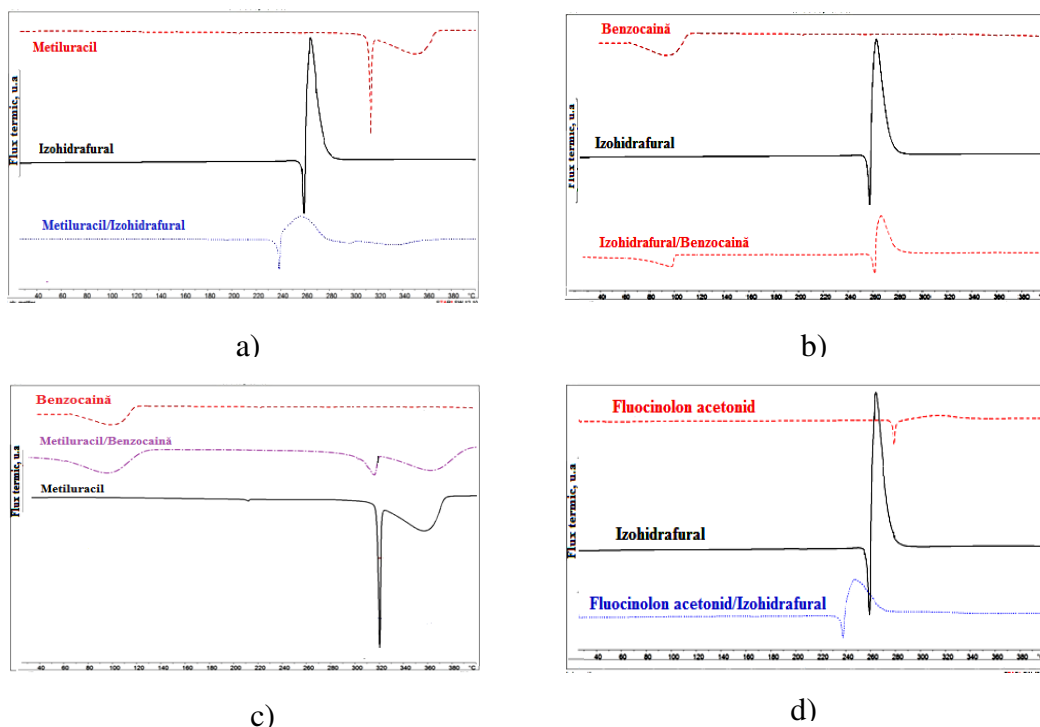


Fig. 2.5. Termogramele DSC ale MTU, IHF, MTU/IHF 1:1 (m/m) (a), BNZ, IHF, IHF/BNZ 1:1 (m/m) (b), BNZ, MTU, BNZ/MTU 1:1 (m/m) (c) și FLAc, IHF, FLAc/IHF 1:1 (m/m) (d)

Termograma DSC a amestecului binar din IHF și MTU prezintă un pic larg, mai puțin vizibil, posibil reprezentat de punctul de topire al MTU situat între 277,59°C și 300,25°C, cu un maxim la 294,66°C. Există însă și posibilitatea ca punctul de topire al MTU să se suprapună peste descompunerea IHF și să nu fie vizibil. Punctul de topire al IHF apare între 236,38°C și 239,98°C, cu un maxim 237,51°C și este urmat de descompunerea acestuia (Fig. 2.5 a, Tabelul A 3).

Pe termograma DSC a amestecului binar din IHF și BNZ sunt prezente picurile caracteristice ambelor substanțe medicamentoase, precum și pe termogramele substanțelor medicamentoase individuale. Astfel, punctul de topire al BNZ este situat între 88,14°C și 90,25°C, cu un maxim la 89,66°C, iar al IHF apare între 239,38°C și 240,08°C, cu un maxim 239,98°C și este urmat de descompunerea acestuia (Fig. 2.5 b, Tabelul A 3).

Termograma DSC a amestecului binar din MTU și BNZ prezintă un pic larg, reprezentat de punctul de topire al BNZ situat între 87,94°C și 90,05°C, cu un maxim la 89,96°C. Al doilea pic indică topirea MTU, situată între 291,66-320,02°C, cu un maxim la 319,78°C, fiind urmată de descompunerea substanței. Picuri asemănătoare sunt prezente și pe termogramele substanțelor medicamentoase pure (Fig. 2.5 c, Tabelul A 3).

Termograma DSC a amestecului binar din IHF și FLAc prezintă picul corespunzător topirii IHF cuprins între 255,78°C și 260,38°C, cu un maxim la 257,41°C. Însă, punctul de topire al FLAc nu poate fi văzut, deoarece este suprapus cu descompunerea termică a IHF (Fig. 2.5 d, Tabelul A 3).

La studierea compatibilității fizico-chimice dintre substanțe medicamentoase și excipientul PEG 400, au fost obținute termogramele DSC ale substanțelor individuale și ale amestecurilor binare ale acestora cu PEG 400 (Fig. 2.6).

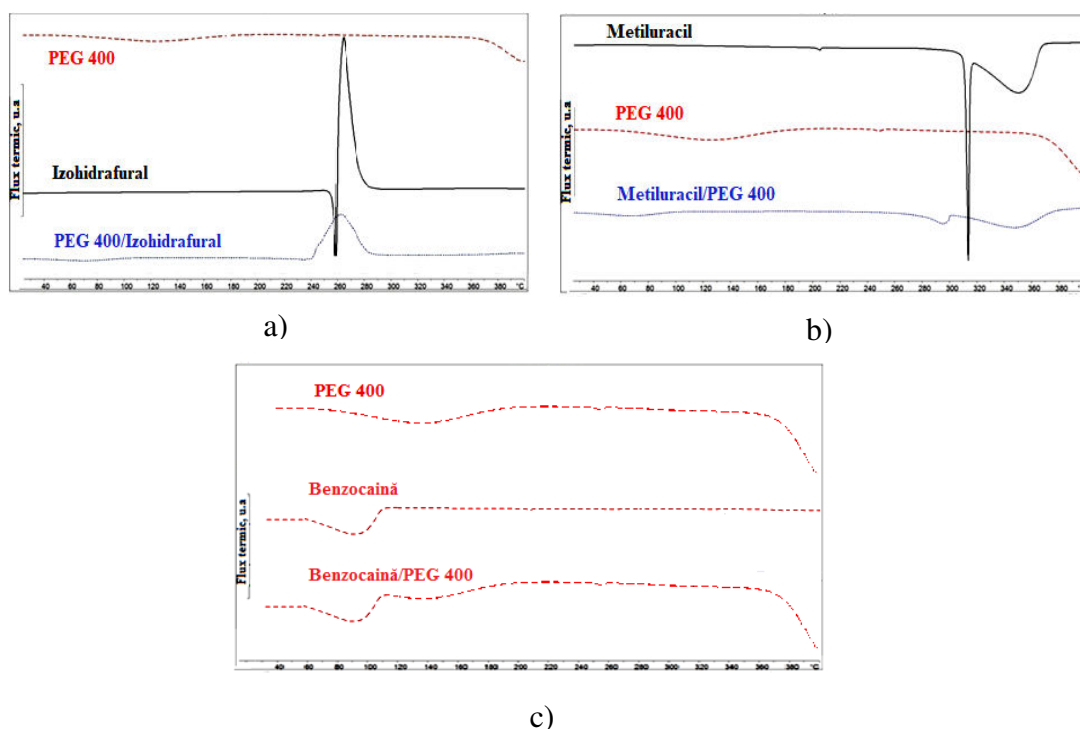


Fig. 2.6. Termogramele DSC ale PEG 400, IHF, PEG 400/IHF 1:1 (m/m) (a), MTU, PEG 400, MTU/PEG 400 1:1 (m/m) (b) și PEG 400, BNZ, BNZ/PEG 400 1:1 (m/m) (c)

În termograma DSC a amestecului binar din IHF și PEG 400, primul pic endoterm corespunde deshidratării PEG-ului 400, fiind situat între 35,05°C și 102,43°C, având un maxim la 72,94°C. Picul corespunzător punctului de topire al IHF apare între 228,06°C și 228,76°C, având un maxim la 228,43°C. Picuri similare sunt prezente și pe termogramele substanțelor pure (Fig. 2.6 a, Tabelul A 3).

În termograma DSC a amestecului binar din MTU și PEG 400, primul pic endoterm este corespunzător deshidratării PEG-ului 400, fiind situat între 29,78°C și 97,50°C, atingând un maxim la 68,61°C. Cel de-al doilea pic reprezintă punctul de topire al MTU. Față de termograma individuală a MTU, punctul de topire al acestuia este mai puțin evident și apare mai repede, fiind situat între 281,51°C și 300,07°C, având un maxim la 294,62°C (Fig. 2.6 b, Tabelul A 3).

Termograma DSC a amestecului binar din BNZ și PEG 400 prezintă un pic larg, reprezentat de punctul de topire al BNZ situat între 88,84°C și 90,85°C, cu un maxim la 90,56°C. Al doilea pic indică deshidratarea PEG-ului 400, fiind situat între 100,06°C și 180,23°C, având un maxim la 125,69°C, iar următorul pic corespunde punctului de aprindere a acestuia, fiind situat între 243,84°C și 250,28°C, cu un maxim la 247,23°C. Picuri similare sunt prezente și pe termogramele substanțelor pure (Fig. 2.6 c, Tabelul A 3).

La studierea compatibilității fizico-chimice dintre substanțe medicamentoase și excipientul PEG 1500, au fost analizate termogramele DSC ale substanțelor individuale și ale amestecurilor binare ale acestora cu PEG 1500. (Fig. 2.7).

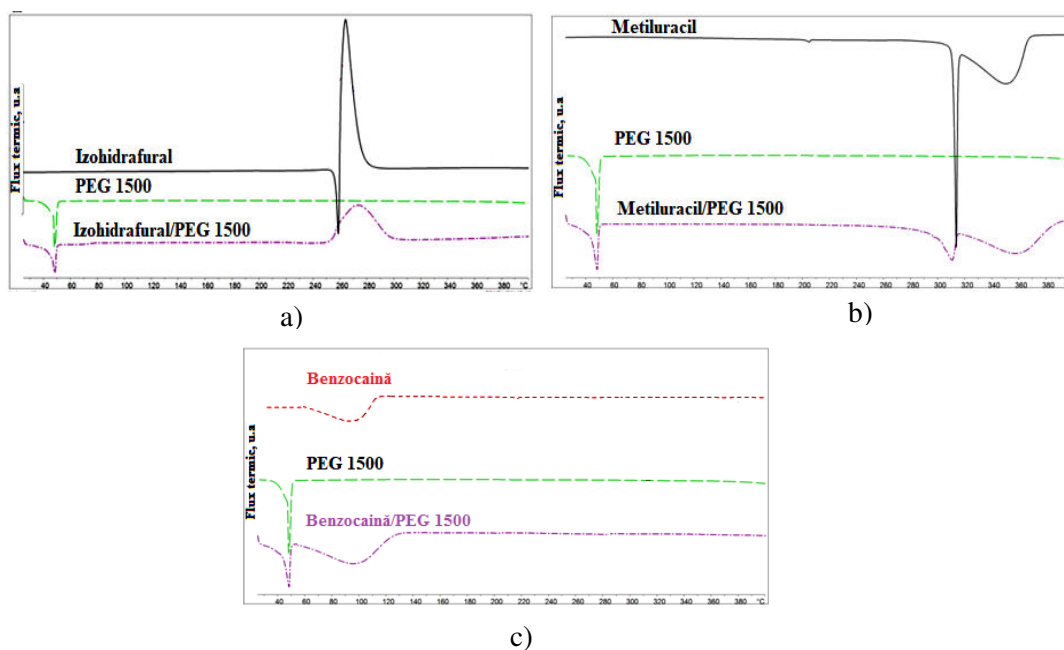


Fig. 2.7. Termogramele DSC ale IHF, PEG 1500, IHF/PEG 1500 1:1 (m/m) (a), MTU, PEG 1500, MTU/PEG 1500 1:1 (m/m) (b) și BNZ, PEG 1500, BNZ/PEG 1500 1:1 (m/m) (c)

În termograma DSC a amestecului binar din IHF și PEG 1500 1:1 (m/m), primul pic corespunde topirii excipientului, fiind situat între 45,14°C și 49,82°C, cu un maxim la 48,01°C. Al doilea pic indică descompunerea exotermică a IHF. Se atestă faptul că, topirea endotermică a substanței active dispare. Aceasta ar putea fi interpretată ca o interacțiune, dar și ca solubilizarea IHF în excipientul topit (Fig. 2.7 a, Tabelul A 3).

În termograma DSC a amestecului binar din MTU și PEG 1500 1:1 (m/m), primul pic corespunde topirii excipientului, fiind situat între 45,14-49,82, cu un maxim la 48,01°C. Al doilea pic indică topirea endotermică a MTU, situat între 281,53-300,02°C, cu un maxim la 294,78°C, fiind urmat de descompunerea substanței (Fig. 2.7 b, Tabelul A 3).

În termograma DSC a amestecului binar din BNZ și PEG 1500 1:1 (m/m), primul pic corespunde topirii PEG-ului 1500, fiind situat între 45,08-49,82, cu un maxim la 48,01°C. Al doilea pic indică punctul de topire al BNZ, fiind situat între 87,84°C și 98,85°C, cu un maxim la 91,56°C. (Fig. 2.7 c, Tabelul A 3).

La studiul compatibilității fizico-chimice dintre substanțe medicamentoase și excipienții propilenglicol și alcool cetostearilic, au fost obținute termogramele DSC ale substanțelor medicamentoase și excipienților individuali, dar și ale amestecurilor binare (Fig. 2.8).

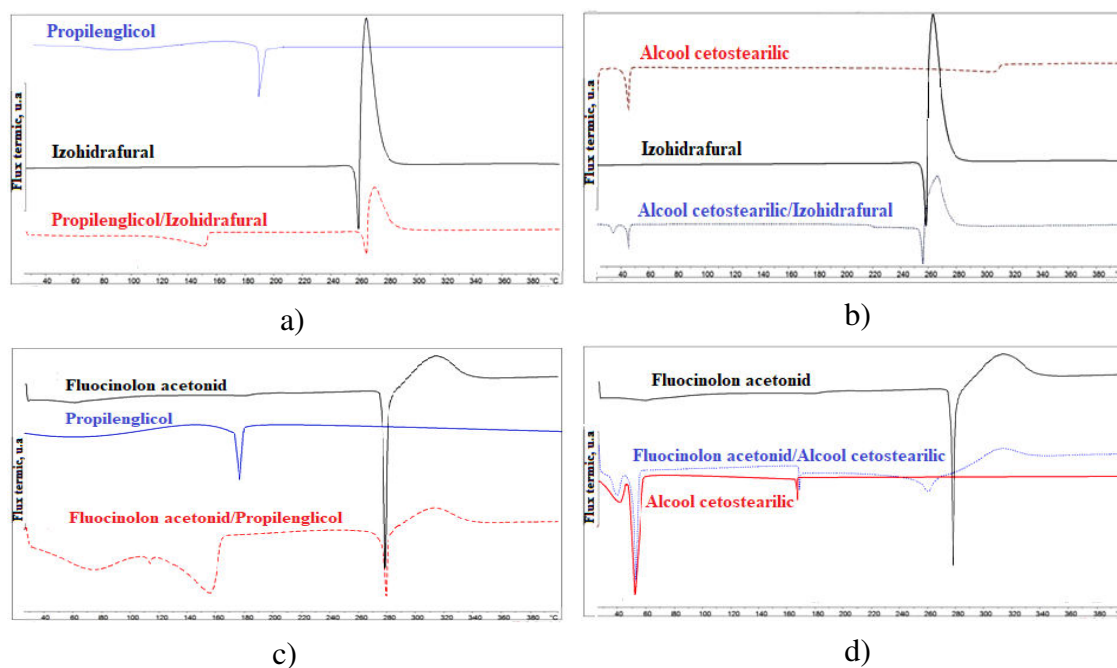


Fig. 2.8. Termogramele DSC obținute pentru propilenglicol, IHF, propilenglicol/IHF 1:1 (m/m) (a), alcool cetostearilic, IHF, alcool cetostearilic/IHF 1:1 (m/m) (b), FLAc, propilenglicol, FLAc/propilenglicol 1:1 (m/m) (c) și FLAc, alcool cetostearilic, FLAc/alcool cetostearilic 1:1 (m/m) (d)

Termograma DSC a amestecului binar dintre IHF și propilenglicol prezintă un prim pic corespunzător punctului de fierbere al propilenglicolului, situat între temperaturile 149,66°C și 153,73°C, atingând un maxim la temperatura de 150,37°C. Al doilea pic endoterm este reprezentat de punctul de topire al IHF, care se afla între 260,99°C și 263,87°C, cu un maxim atins la 261,75°C, fiind urmat de descompunerea acestuia (Fig. 2.8 a, Tabelul A 3).

Termograma DSC a amestecului binar dintre IHF și alcool cetostearilic prezintă un prim pic corespunzător deshidratării alcoolului cetostearilic situat între temperaturile 33,60°C și 39,55°C, cu un maxim atins la 36,24°C. Cel de-al doilea pic endoterm este corespunzător punctului de topire al alcoolului cetostearilic, situat între 45,66°C și 48,73°C, atingând un maxim la temperatura de 47,37°C. Al treilea pic endoterm este reprezentat de punctul de topire al IHF, care se afla între 254,23°C și 255,88°C, cu un maxim atins la 255,75°C, urmat fiind de descompunerea acestuia (Fig. 2.8 b, Tabelul A 3).

Termograma DSC a amestecului binar dintre FLAc și propilenglicol prezintă un prim pic care poate fi atribuit deshidratării FLAc, situat între temperaturile 114,60°C și 119,55°C, cu un maxim atins la 116,24°C. Cel de-al doilea pic endoterm este corespunzător punctului de fierbere al propilenglicolului, situat între 119,66°C și 161,73°C, atingând un maxim la temperatura de 157,37°C. Al treilea pic endoterm este reprezentat de punctul de topire al FLAc, care se afla între 276,74°C și 278,99°C, cu un maxim atins la 277,75°C, urmat fiind de descompunerea acestuia (Fig. 2.8 c, Tabelul A 3).

Termograma DSC a amestecului binar dintre FLAc și alcool cetostearilic prezintă un prim pic care poate fi atribuit deshidratării alcoolului cetostearilic, situat între 30,00°C și 33,27°C, cu un maxim la 31,95°C. Cel de-al doilea pic este corespunzător punctului de topire al alcoolului cetostearilic, fiind situat între 44,16°C și 49,01°C, cu un maxim atins la 46,97°C. Cel de-al treilea pic este corespunzător descompunerii alcoolului cetostearilic și este situat între 168,99°C și 171,97°C, cu un maxim la 170,83°C. Ultimul pic endoterm este reprezentat de punctul de topire al FLAc, care se afla între 256,74°C și 268,99°C, cu un maxim atins la 260,75°C, urmat fiind de descompunerea acestuia (Fig. 2.8 d, Tabelul A 3).

De asemenea a fost obținută și termograma DSC a amestecului binar format din propilenglicol și alcool cetostearilic, pentru a determina compatibilitatea fizico-chimică a acestora (Fig. 2.9).

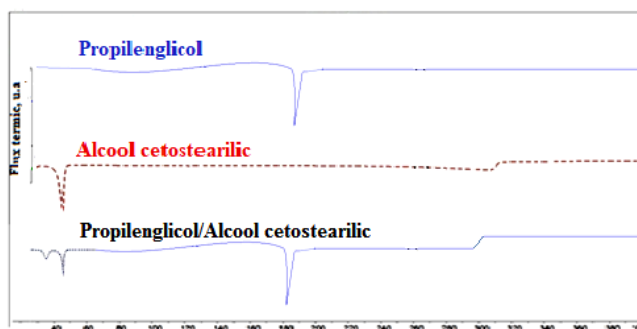


Fig. 2.9. Termogramele DSC ale propilenglicolului, alcoolului cetostearilic și amestecului binar de propilenglicol/alcool cetostearilic 1:1 (m/m)

Termograma DSC a amestecului binar dintre propilenglicol și alcool cetostearilic prezintă un prim pic corespunzător deshidratării alcoolului cetostearilic situat între temperaturile 33,50°C și 39,52°C, cu un maxim atins la 36,22°C. Cel de-al doilea pic endoterm este corespunzător punctului de topire al alcoolului cetostearilic, situat între 45,64°C și 48,72°C, atingând un maxim la temperatura de 47,38°C. Al treilea pic endoterm este reprezentat de punctului de fierbere al propilenglicolului, situat între 119,63°C și 161,71°C, atingând un maxim la temperatura de 157,39°C. Cel de-al patrulea pic este corespunzător descompunerii alcoolului cetostearilic, care este situat între 249,98°C și 312,98°C, cu un maxim la 306,85°C (Fig. 2.9, Tabelul A 3).

2.3.2. Analiza Spectroscopică FTIR

Compatibilitatea fizico-chimice dintre substanțe medicamentoase a fost cercetată în baza spectrelor FTIR ale substanțelor individuale și ale amestecurilor binare ale acestora (Fig. 2.10).

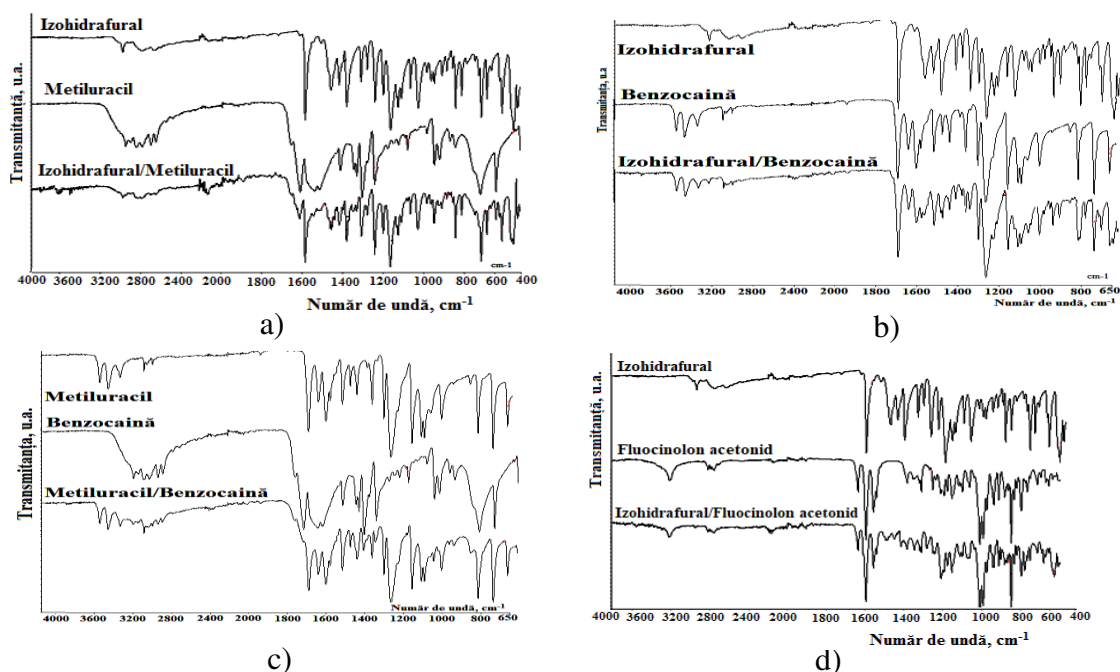


Fig. 2.10. Spectrele FTIR ale MTU, IHF, MTU/IHF 1:1 (m/m) (a), BNZ, IHF, IHF/BNZ 1:1 (m/m) (b), BNZ, MTU, BNZ/MTU 1:1 (m/m) (c) și FLAc, IHF, FLAc/IHF 1:1 (m/m) (d)

Spectrul FTIR al amestecului binar format din IHF și MTU prezintă aceleași benzi de absorbție caracteristice IHF: la 1347,8 cm⁻¹ și 3 benzi în regiunea 1485-1555 cm⁻¹ specifice grupei nitro a ciclului nitro-furanic și vibrațiile de deformare ale grupei amide NH-C=O la 1681,9 cm⁻¹ și la 3121,8 cm⁻¹, precum și MTU: intervalul 2802-3091 cm⁻¹ datorită vibrațiilor grupei metilice, precum și intervalul 1616-1707 cm⁻¹ specific grupei R-CO-NH-R₁ (Fig. 2.10 a, Tabelul A 4.1 și Tabelul A 4.2).

Spectrul FTIR al amestecului binar format din IHF și BNZ prezintă aceleași benzi de absorbție caracteristice IHF: la 1347,8 cm⁻¹ și 3 benzi în regiunea 1485-1555 cm⁻¹ specifice

grupeii nitro a ciclului nitro-furanic și vibrațiile de deformare ale grupeii amide NH-C=O la $1681,9 \text{ cm}^{-1}$ și la $3121,8 \text{ cm}^{-1}$, precum și BNZ: pentru grupa aminică aromatică primară în regiunea $3000 \text{ cm}^{-1} - 3400 \text{ cm}^{-1}$ și vibrațiile grupeii esterice la 1679 cm^{-1} (Fig. 2.10 b, Tabelul A 4.1 și Tabelul A 4.2).

Spectrul FTIR al amestecului binar format din MTU și BNZ prezintă aceleași benzi de absorbție caracteristice MTU: intervalul $2802-3091 \text{ cm}^{-1}$ datorită vibrațiilor grupeii metilice, precum și intervalul $1616-1707 \text{ cm}^{-1}$ specific grupeii R-CO-NH-R_1 , precum și BNZ: pentru grupa aminică aromatică primară în regiunea $3000 \text{ cm}^{-1} - 3400 \text{ cm}^{-1}$ și vibrațiile grupeii esterice la 1679 cm^{-1} (Fig. 2.10 c, Tabelul A 4.1 și Tabelul A 4.2).

Spectrul FTIR al amestecului binar format din IHF și FLAc prezintă aceleași benzi de absorbție caracteristice IHF: la $1347,8 \text{ cm}^{-1}$ și 3 benzi în regiunea $1485-1555 \text{ cm}^{-1}$ specifice grupeii nitro a ciclului nitro-furanic și vibrațiile de deformare ale grupeii amide NH-C=O la $1681,9 \text{ cm}^{-1}$ și la $3121,8 \text{ cm}^{-1}$, precum și FLAc, care prezintă o bandă specifică la 3390 cm^{-1} atribuită legăturilor C-H care formează scheletul steroidic, vibrațiile grupeii -C=O la 1668 cm^{-1} și 1706 cm^{-1} și la $908,0 \text{ cm}^{-1}$ datorită prezenței fluorului legat covalent (Fig. 2.10 d, Tabelul A 4.1 și Tabelul A 4.2).

La studierea compatibilității fizico-chimice dintre substanțe medicamentoase și excipientul PEG 400, au fost obținute spectrele FTIR ale substanțelor individuale și ale amestecurilor binare ale acestora cu PEG 400 (Fig. 2.11).

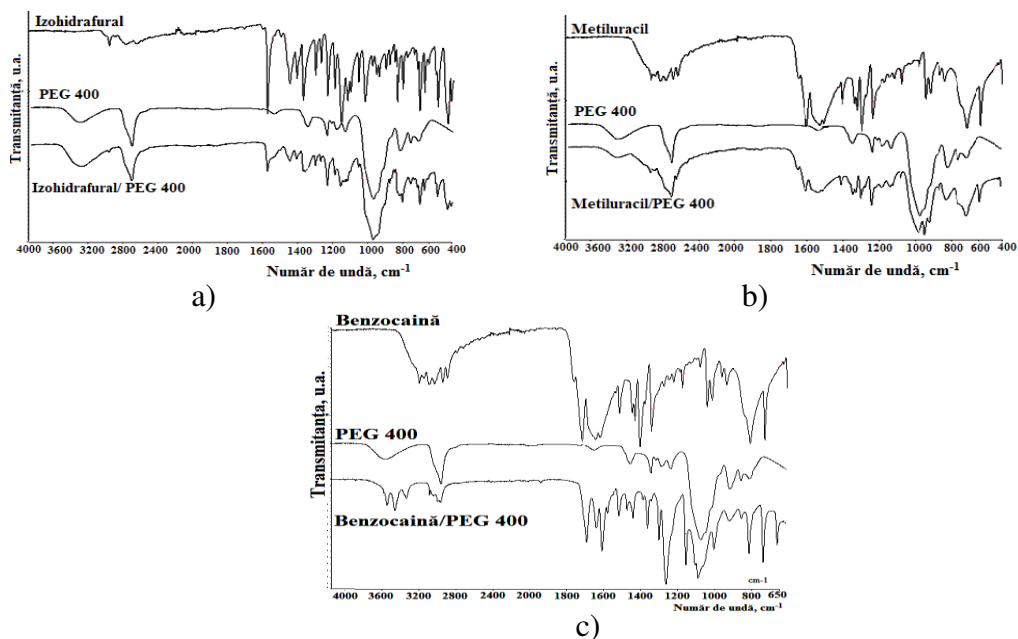


Fig. 2.11. Spectrele FTIR ale IHF, PEG 400, PEG 400/IHF 1:1 (m/m) (a), MTU, PEG 400, MTU/PEG 400 1:1 (m/m) (b) și BNZ, PEG 400, BNZ/PEG 400 1:1 (m/m) (c)

Benzile de absorbție caracteristice IHF și PEG-ului 400 au fost prezente și pe spectrul FTIR al amestecului binar dintre cei doi compuși. Astfel, sunt prezente benzile de absorbție ale IHF: la $1347,8\text{ cm}^{-1}$, în regiunea $1485\text{--}1555\text{ cm}^{-1}$ specifice grupei nitro a ciclului nitro-furanic și vibrațiile de deformare ale grupei amide NH-C=O la $1681,9\text{ cm}^{-1}$ și la $3121,8\text{ cm}^{-1}$, precum și benzile PEG-ului 400 la $3439,8\text{ cm}^{-1}$, specifice grupei hidroxilice, la $2867,9\text{ cm}^{-1}$ datorate C-H și la $1094,8\text{ cm}^{-1}$ pentru C-O-C (Fig. 2.11 a, Tabelele A 4.1 și A 4.3).

Spectrul FTIR al amestecului binar format din MTU și PEG 400 prezintă aceleași benzi de absorbție caracteristice MTU: intervalul $2802\text{--}3091\text{ cm}^{-1}$ datorită vibrațiilor grupei metilice și intervalul $1616\text{--}1707\text{ cm}^{-1}$ specific grupei R-CO-NH-R_1 , precum și benzile PEG-ului 400 la $3439,8\text{ cm}^{-1}$, specifice grupei hidroxilice, la $2867,9\text{ cm}^{-1}$ datorate C-H și la $1094,8\text{ cm}^{-1}$ pentru C-O-C (Fig. 2.11 b, Tabelele A 4.1 și A 4.3).

Spectrul FTIR al amestecului binar format din BNZ și PEG 400 prezintă aceleași benzi de absorbție caracteristice BNZ: pentru grupa aminică aromatică primară în regiunea 3000 cm^{-1} - 3400 cm^{-1} și vibrațiile grupei esterice la 1679 cm^{-1} , precum și benzile PEG-ului 400 la $3439,8\text{ cm}^{-1}$, specifice grupei hidroxilice, la $2867,9\text{ cm}^{-1}$ datorate C-H și la $1094,8\text{ cm}^{-1}$ pentru C-O-C (Fig. 2.11 c, Tabelele A 4.1 și A 4.3).

La studierea compatibilității fizico-chimice dintre substanțe medicamentoase și excipientul PEG 1500, au fost obținute spectrele FTIR ale substanțelor individuale și ale amestecurilor binare ale acestora cu PEG 1500 (Fig. 2.12).

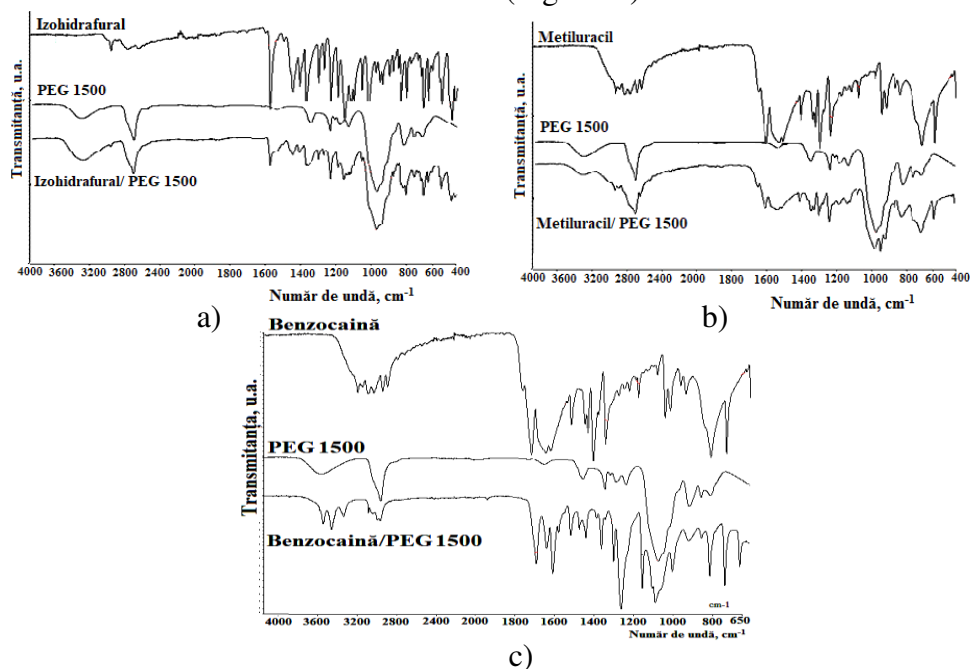


Fig. 2.12. Spectrele FTIR ale IHF, PEG 1500, PEG 1500/IHF 1:1 (m/m) (a), MTU, PEG 400, MTU/PEG 1500 1:1 (m/m) (b) și BNZ, PEG 1500, BNZ/PEG 1500 1:1 (m/m) (c)

Benzile de absorbție caracteristice IHF și PEG-ului 1500 au fost prezente și pe spectrul FTIR al amestecului binar dintre cei doi compuși. Astfel, sunt prezente benzile de absorbție ale IHF: la $1347,8\text{ cm}^{-1}$, în regiunea $1485\text{--}1555\text{ cm}^{-1}$ specifice grupei nitro a ciclului nitro-furanic și vibrațiile de deformare ale grupei amide NH-C=O la $1681,9\text{ cm}^{-1}$ și la $3121,8\text{ cm}^{-1}$, precum și benzile PEG-ului 1500 la $3400,0\text{ cm}^{-1}$, C-H la $2870,0\text{ cm}^{-1}$ și la $1092,2\text{ cm}^{-1}$ pentru C-O-C (Fig. 2.12 a, Tabelele A 4.1 și A 4.3).

Spectrul FTIR al amestecului binar format din MTU și PEG 1500 prezintă aceleași benzi caracteristice MTU: intervalul $2802\text{--}3091\text{ cm}^{-1}$ datorită vibrațiilor grupei metilice și intervalul $1616\text{--}1707\text{ cm}^{-1}$ specific grupei R-CO-NH-R_1 , precum și benzile PEG-ului 1500 la $3400,0\text{ cm}^{-1}$, C-H la $2870,0\text{ cm}^{-1}$ și la $1092,2\text{ cm}^{-1}$ pentru C-O-C (Fig. 2.12 b, Tabelele A 4.1 și A 4.3).

Spectrul FTIR al amestecului binar format din BNZ și PEG 1500 prezintă aceleași benzi de absorbție caracteristice BNZ: pentru grupa aminică aromatică primară în regiunea 3000 cm^{-1} - 3400 cm^{-1} și vibrațiile grupei esterice la 1679 cm^{-1} , precum și benzile PEG-ului 1500 la $3400,0\text{ cm}^{-1}$, C-H la $2870,0\text{ cm}^{-1}$ și la $1092,2\text{ cm}^{-1}$ pentru C-O-C (Fig. 2.12 c, Tabelele A 4.1 și A 4.3).

La studiul compatibilității fizico-chimice dintre substanțe medicamentoase și excipienți, au fost obținute spectrele FTIR ale substanțelor medicamentoase și excipienților individuali, dar și ale amestecurilor binare (Fig. 2.13).

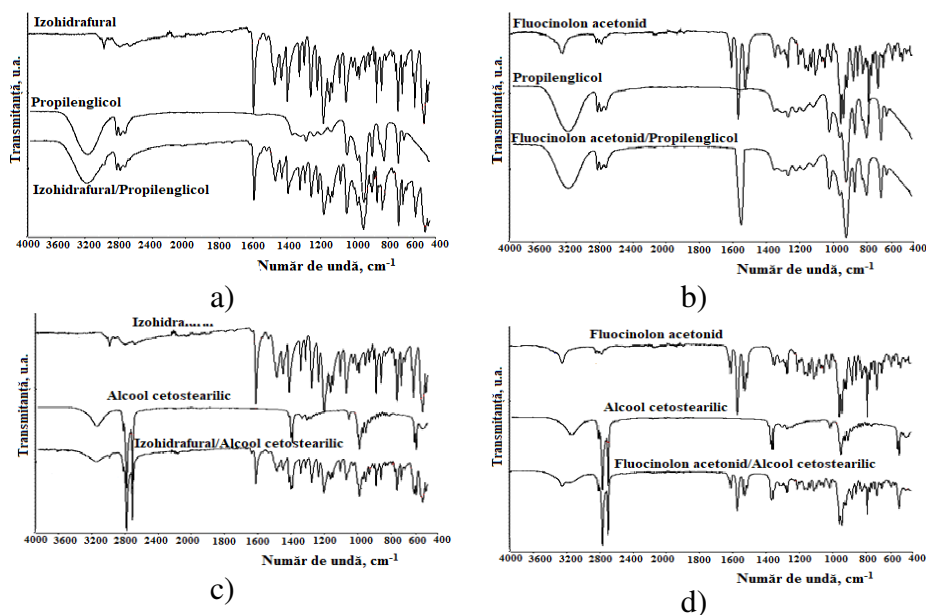


Fig. 2.13. Spectrele FTIR obținute pentru IHF, propilenglicol, propilenglicol/IHF 1:1 (m/m) (a), FLAc, propilenglicol, FLAc/propilenglicol 1:1 (m/m) (b), IHF, alcool cetostearilic, alcool cetostearilic/IHF 1:1 (m/m) (c) și FLAc, alcool cetostearilic, FLAc/alcool cetostearilic 1:1 (m/m) (d)

Spectrul FTIR al amestecului binar format din IHF și propilenglicol prezintă aceleași benzi de absorbție caracteristice IHF: la $1347,8\text{ cm}^{-1}$, în regiunea $1485\text{--}1555\text{ cm}^{-1}$ specifice grupei nitro a ciclului nitro-furanic și vibrațiile de deformare ale grupei amide NH-C=O la $1681,9\text{ cm}^{-1}$ și la $3121,8\text{ cm}^{-1}$, precum și benzile propilenglicolului la $3307,9\text{ cm}^{-1}$ pentru grupa hidroxilică alcoolică, la $1038,6\text{ cm}^{-1}$ pentru $-\text{OCH}_3$ și benzile cuprinse între $2876\text{--}2971$ pentru grupa metilică (Fig. 2.13 a, Tabelele A 4.1 și A 4.3).

Spectrul FTIR al amestecului binar format din FLAc și propilenglicol prezintă aceleași benzi de absorbție caracteristice FLAc: la 3390 cm^{-1} datorită legăturilor C-H care formează scheletul steroidic, vibrațiile grupei $-\text{C=O}$ la 1668 cm^{-1} și 1706 cm^{-1} și la $908,0\text{ cm}^{-1}$ datorită prezenței fluorului legat covalent, precum și benzile propilenglicolului la $3307,9\text{ cm}^{-1}$ pentru grupa hidroxilică alcoolică, la $1038,6\text{ cm}^{-1}$ pentru $-\text{OCH}_3$ și benzile cuprinse între $2876\text{--}2971$ pentru grupa metilică (Fig. 2.13 b, Tabelele A 4.1 și A 4.3).

Spectrul FTIR al amestecului binar format din IHF și alcool cetostearilic prezintă aceleași benzi de absorbție caracteristice IHF: la $1347,8\text{ cm}^{-1}$, în regiunea $1485\text{--}1555\text{ cm}^{-1}$ specifice grupei nitro a ciclului nitro-furanic și vibrațiile de deformare ale grupei amide NH-C=O la $1681,9\text{ cm}^{-1}$ și la $3121,8\text{ cm}^{-1}$, precum și benzile alcoolului cetostearilic la $3272,3\text{ cm}^{-1}$ și $1060,7\text{ cm}^{-1}$ specifice pentru O-H, benzile dintre 2848 și 2956 cm^{-1} pentru $-\text{CH}_3$ și 2 benzi la $1463,0$ și $719,5\text{ cm}^{-1}$ pentru $-\text{CH}_2-$ (Fig. 2.13 c, Tabelele A 4.1 și A 4.3).

Spectrul FTIR al amestecului binar format din FLAc și alcool cetostearilic prezintă aceleași benzi de absorbție caracteristice FLAc: la 3390 cm^{-1} datorită legăturilor C-H care formează scheletul steroidic, vibrațiile grupei $-\text{C=O}$ la 1668 cm^{-1} și 1706 cm^{-1} și la $908,0\text{ cm}^{-1}$ datorită prezenței fluorului legat covalent, precum și benzile alcoolului cetostearilic la $3272,3\text{ cm}^{-1}$ și $1060,7\text{ cm}^{-1}$ specifice pentru O-H, benzile dintre 2848 și 2956 cm^{-1} pentru $-\text{CH}_3$ și 2 benzi la $1463,0$ și $719,5\text{ cm}^{-1}$ pentru $-\text{CH}_2-$ (Fig. 2.13 d, Tabelele A 4.1 și A 4.3).

La studiul compatibilității fizico-chimice dintre excipienți între ei, au fost obținute spectrele FTIR ale excipienților individuali și ale amestecurilor binare (Fig. 2.14).

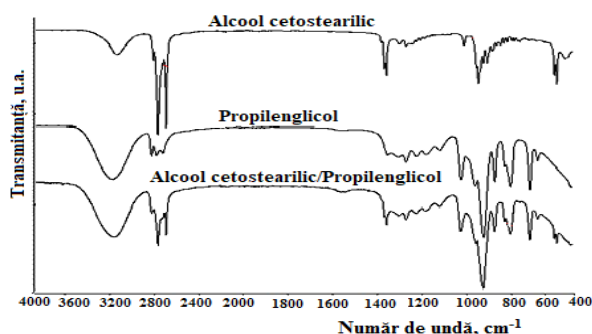


Fig. 2.14. Spectrele FTIR ale propilenglicolului, alcoolului cetostearilic și amestecului binar de propilenglicol/alcool cetostearilic 1:1 (m/m)

Spectrul FTIR al amestecului binar format din propilenglicol și alcool cetostearilic prezintă aceleași benzi de absorbție caracteristice propilenglicolului la $3307,9\text{ cm}^{-1}$ pentru grupa hidroxică alcoolică, la $1038,6\text{ cm}^{-1}$ pentru $-\text{OCH}_3$ și benzile cuprinse între $2876 - 2971$ pentru grupa metilică, precum și benzile alcoolului cetostearilic la $3272,3\text{ cm}^{-1}$ și $1060,7\text{ cm}^{-1}$ specifice pentru O-H, benzile dintre 2848 și 2956 cm^{-1} pentru $-\text{CH}_3$ și 2 benzi la $1463,0$ și $719,5\text{ cm}^{-1}$ pentru $-\text{CH}_2-$ (Fig. 2.14, Tabelele A 4.1 și A 4.4).

2.4. Formularea-optimizarea și elaborarea tehnologiei de preparare a unguentelor combinate

2.4.1. Unguentul combinat cu conținut de izohidrafural și metiluracil

În scopul determinării compoziției optimele a unguentului combinat cu conținut de izohidrafural și metiluracil s-a utilizat designul factorial deplin 3^2 [117, 118].

În calitate de variabile independente s-au selectat PEG 400 și PEG 1500 (Tabelul 2.2).

Tabelul 2.2. Valorile variabilelor independente utilizate în optimizarea formulării unguentului combinat cu conținut de izohidrafural și metiluracil

Denumirea variabilelor	Cantitatea, %		
	Nivelul de jos (-1)	Nivelul de bază (0)	Nivelul de sus (+1)
PEG 400 (X_1)	60	75	90
PEG 1500 (X_2)	10	20	30

Parametrii reologici: indicele de consistență la temperaturile de $22\pm 0,1^\circ\text{C}$ și $37\pm 0,1^\circ\text{C}$, vâscozitatea la cea mai mică viteză de forfecare la temperaturile de $22\pm 0,1^\circ\text{C}$ și $37\pm 0,1^\circ\text{C}$, dar și activitatea osmotică au servit drept variabile dependente.

Reogramele tensiunii de forfecare în funcție de viteza de forfecare la ambele temperaturi indică caracterul nenewtonian și pseudoplastic pentru toate formulările (Tabelul A 5.1, Tabelul A 5.2 și Fig. A 5.1).

Cu ajutorul modelului reologic Ostwald-de Waele (formula 2.1) s-a calculat indicele de consistență pentru fiecare formulare, la două temperaturi: $22\pm 0,1^\circ\text{C}$ și $37\pm 0,1^\circ\text{C}$. Consistența formulărilor a fost cercetată și prin determinarea vâscozității la diferite viteze de forfecare, la ambele temperaturi (Tabelul A 5.3, Fig. A 5.2, Tabelul A 5.4 și Fig. A 5.3).

Pentru determinarea activității osmotice a celor 9 formulări, s-a utilizat metoda de osmoză (după Krowczynski) [71, 72] (Tabelul A 6.1 și Tabelul A 6.2).

Pentru optimizarea formulării unguentului combinat cu conținut de izohidrafural și metiluracil s-a aplicat *Modde 13 software* (Sartorius Stedim Data Analytics AB, Umea, Sweden).

Rezultatele obținute pentru fiecare variabilă dependentă au fost fitate cu ajutorul programului Modde 13 software (Tabelul 2.3).

Tabelul 2.3. Rezultatele experimentale ale variabilelor dependente

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	27,99	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

Se atestă că, rezultatele obținute la fitarea planului de experiență sunt reușite pentru variabilele dependente selectate (Fig. A 7.1).

De asemenea curbele reziduale ale răspunsurilor observate față de răspunsurile estimate relevă o fitare satisfăcătoare, pe grafice fiind observată alinierea punctelor sub formă de dreaptă (Fig. A 7.2).

Analiza de varianță (ANOVA) denotă că, rezultatele obținute sunt semnificative din punct de vedere statistic, valorile lui p fiind mai mici de 0,05 pentru model în cazul tuturor variabilelor dependente selectate (Tabelul A. 7.1).

- ***Influența factorilor de formulare asupra vâscozității la cea mai mică viteză de forfecare, determinată la temperaturile de $22\pm 0,1^\circ\text{C}$ și $37\pm 0,1^\circ\text{C}$***

În urma rezultatelor obținute se poate constata că, la ambele temperaturi, PEG 1500 are o influență pozitivă, iar PEG 400 afectează negativ asupra valorilor vâscozității la cea mai mică viteză de forfecare pentru cele nouă formulări (Fig. A 7.3).

Suprafețele de răspuns, de asemenea denotă că, valorile vâscozității la cea mai mică viteză de forfecare pentru toate formulările cresc proporțional cu mărirea concentrației de PEG 1500 și micșorarea cantității de PEG 400 (Fig. 2.15).

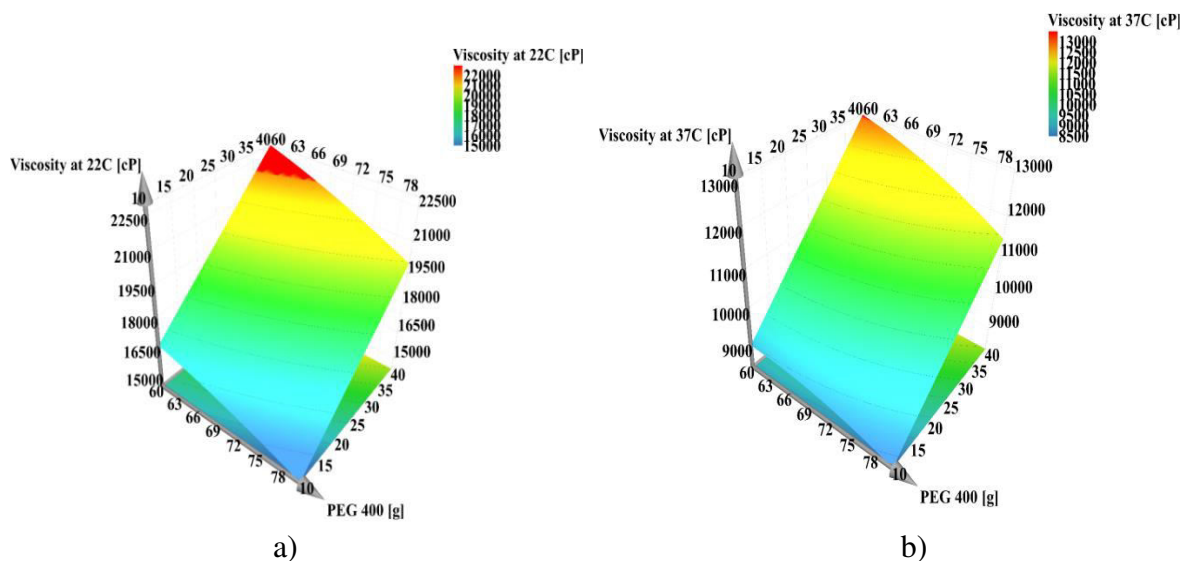


Fig. 2.15. Suprafețele de răspuns ale factorilor de formulare și vâscozității determinate la $22\pm0,1^{\circ}\text{C}$ (a) și la $37\pm0,1^{\circ}\text{C}$ (b)

- *Influența factorilor de formulare asupra indicelui de consistență, determinat la temperaturile de $22\pm0,1^{\circ}\text{C}$ și $37\pm0,1^{\circ}\text{C}$*

Rezultatele experimentale obținute denotă faptul că, creșterea cantității de PEG 1500 și micșorarea cantității de PEG 400 contribuie la mărirea indicelui de consistență la ambele temperaturi (Fig. A 7.4).

Suprafețele de răspuns, de asemenea denotă că, valorile indicelui de consistență la ambele temperaturi pentru toate formulările cresc proporțional cu mărirea concentrației de PEG 1500 și micșorarea cantității de PEG 400 (Fig. 2.16).

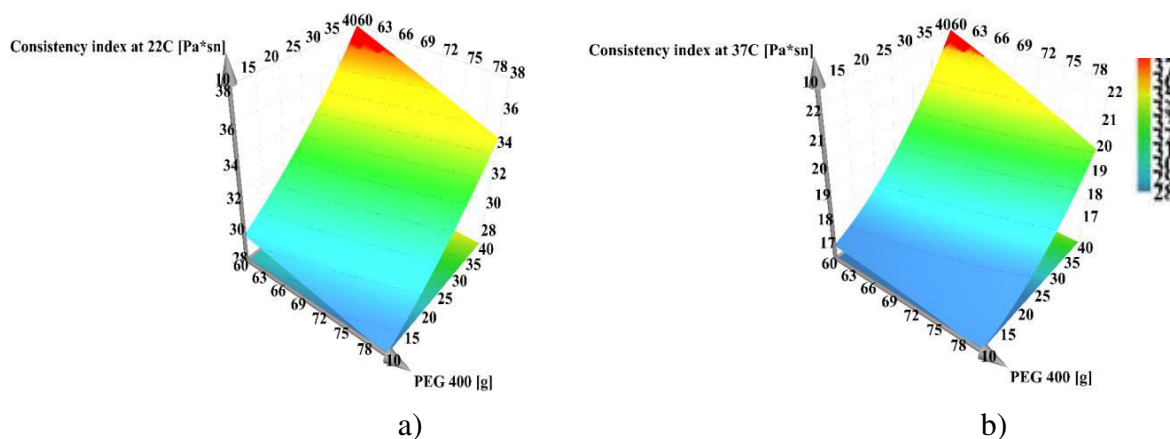


Fig. 2.16. Suprafețele de răspuns ale factorilor de formulare și indicelui de consistență determinate la $22\pm0,1^{\circ}\text{C}$ (a) și la $37\pm0,1^{\circ}\text{C}$ (b)

- **Influența factorilor de formulare asupra activității osmotice**

În urma determinărilor experimentale, se face concluzia că, activitatea osmotică a unguentelor depinde exclusiv de cantitatea de PEG 1500 (Fig. A 7.5). S-a constatat și faptul că, absorbția apei a avut loc mai intens în primele 4 ore. Însă, un grad de osmoză mai mare de 300% după 6 ore ar putea avea un impact negativ asupra regenerării plăgii. Suprafața de răspuns, la fel arată o influență direct proporțională dintre PEG 1500 și activitatea osmotică (Fig. 2.17).

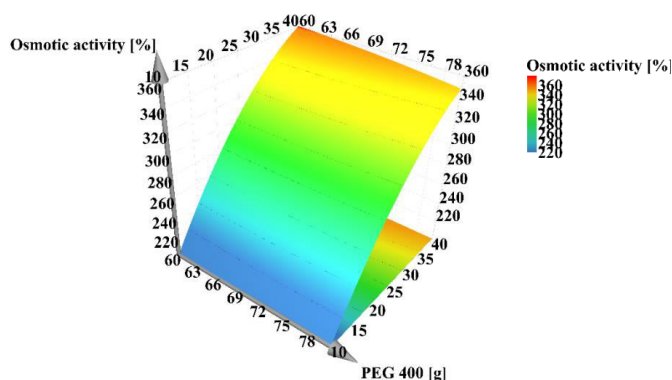


Fig. 2.17. Suprafața de răspuns a factorilor de formulare și activității osmotice

- **Determinarea formulării optime a unguentului combinat IHF și MTU**

Pentru a obține o formulare optimă, este important să se determine cantitățile de PEG 400 și PEG 1500, având la bază răspunsurile planului experimental [117, 118].

Formularea optimă a unguentului combinat cu conținut de izohidrafural și metiluracil, a fost calculată, utilizând modulul de optimizare a programului Modde. Astfel, potrivit datelor obținute, cantitatea optimă de PEG 400 (X_1) – 76,7284%, iar a PEG-ului 1500 (X_2) – 19,1829%. Răspunsurile obținute experimental pentru formularea F 5 sunt foarte apropiate de valorile teoretice, ceea ce validează planul utilizat (Tabelul 2.4).

Tabelul 2.4. Rezultatele teoretice și experimentale ale formulării optime a unguentului combinat cu conținut de izohidrafural și metiluracil

Variabile dependente	Rezultatul teoretic	Rezultatul experimental	Eroarea estimată
Vâscozitatea la $22 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$, $\text{cP} \cdot 10^{-2}$	164,682	164,68	0,500
Vâscozitatea la $37 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$, $\text{cP} \cdot 10^{-2}$	94,36	94,44	0,130
Indice de consistență la $22 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$, $\text{Pa} \cdot \text{s}^n$	31,78	31,82	0,110
Indice de consistență la $37 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$, $\text{Pa} \cdot \text{s}^n$	17,87	17,97	0,120
Activitatea osmotică, %	267,9	268,44	-0,017

- ***Tehnologia unguentului combinat cu conținut de izohidrafural și metiluracil***

Principiul de bază al preparării unguentului este că, ambele substanțe active, fiind solubile în excipient, se încorporează după tipul soluție. MTU se dizolvă în circa 2,5 g PEG 400, o cantitate mai mare de PEG 400 va duce la formarea unei mase prea lichide, iar una mai mică va constitui o masă prea vâscoasă. IHF se dizolvă în circa 3 g PEG 400. PEG 1500 se topește, la care se adaugă restul cantității de PEG 400 rămase și soluțiile de IHF și MTU. Se amestecă bine până la omogenitate. Unguentul obținut se prepară în condiții aseptice. La etapa finală se verifică calitatea, se ambalează în recipiente sterilizate și se etichetează (Anexa 17) [119, 120].

2.4.2. Unguentul combinat cu conținut de izohidrafural, metiluracil și benzocaină

Compoziția optimală a unguentului combinat cu conținut de izohidrafural, metiluracil și benzocaină a fost determinată cu ajutorul design-ului factorial deplin 3^2 [117, 118].

Variabilele independente au fost PEG 400 și PEG 1500 (Tabelul 2.5).

Tabelul 2.5. Valorile variabilelor independente utilizate în optimizarea formulării unguentului combinat cu conținut de izohidrafural, metiluracil și benzocaină

Denumirea variabilelor	Cantitatea, %		
	Nivelul de jos (-1)	Nivelul de bază (0)	Nivelul de sus (+1)
PEG 400 (X_1)	60	70	80
PEG 1500 (X_2)	10	25	40

Variabilele dependente au fost: indicele de consistență la temperaturile de $22 \pm 0,1^\circ\text{C}$ și $37 \pm 0,1^\circ\text{C}$, vâscozitatea la cea mai mică viteză de forfecare, la temperaturile de $22 \pm 0,1^\circ\text{C}$ și $37 \pm 0,1^\circ\text{C}$ și activitatea osmotică.

Caracterul nenewtonian și pseudoplastic sunt demonstrate prin trasarea reogramelor tensiunii de forfecare în funcție de viteza de forfecare la $22 \pm 0,1^\circ\text{C}$ și $37 \pm 0,1^\circ\text{C}$ (Fig. A 8.1, Tabelul A 8.1 și Tabelul A 8.2).

Cu ajutorul modelului reologic Ostwald-de Waele (formula 2.1) s-a calculat indicele de consistență pentru fiecare formulare, la cele două temperaturi. Consistența formulărilor a fost cercetată și prin determinarea vâscozității la diferite viteze de forfecare, la $22 \pm 0,1^\circ\text{C}$ (Tabelul A 8.3, Fig. A 8.2) și $37 \pm 0,1^\circ\text{C}$ (Tabelul A 8.4 și Fig. A 8.3).

Pentru determinarea activității osmotice a formulărilor unguentului combinat, s-a utilizat metoda de osmoză (după Krowczynski) [71, 72] (Tabelul A 9.1 și Tabelul A 9.2).

Rezultatele obținute pentru fiecare variabilă dependentă au fost fitate cu ajutorul programului computerizat *Design Expert software (versiunea 8.0.7)* (Tabelul 2.6).

Tabelul 2.6. Rezultatele experimentale ale variabilelor dependente

Formularea unguentului	Nivelurile variabilelor independente		Indice de consistență, Pa*s ⁿ		Vâscozitatea la cea mai mică viteză de forfecare, cP*10 ²		Activitatea osmotică, %
	X ₁ (%)	X ₂ (%)	22 ⁰ C	37 ⁰ C	22 ⁰ C	37 ⁰ 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

Curbele reziduale ale răspunsurilor observate față de răspunsurile estimate denotă o fitare satisfăcătoare (Tabelul A 10.1, Fig. A 10.1). Analiza de varianță (ANOVA) denotă că, rezultatele obținute sunt semnificative din punct de vedere statistic (Tabelul A. 10.2).

• ***Influența factorilor de formulare asupra indicelui de consistență, determinat la temperaturile de 22±0,1⁰C și 37±0,1⁰C***

Cu ajutorul programului *Design Expert software (versiunea 8.0.7)* au fost obținute ecuațiile regresii liniare pentru indicele de consistență, determinat la cele două temperaturi:

$$Y_1 = 0,032 + 0,001224 \cdot X_1 - 0,003863 \cdot X_2, \quad (2.4)$$

în care:

Y_1 – indicele de consistență determinat la 22±0,1⁰C;

X_1 – PEG 400;

X_2 – PEG 1500.

$$Y_2 = 0,055 + 0,002064 \cdot X_1 - 0,007115 \cdot X_2, \quad (2.5)$$

în care:

Y_2 – indicele de consistență determinat la 37±0,1⁰C;

X_1 – PEG 400;

X_2 – PEG 1500.

Suprafețele de răspuns indică faptul că, la ambele temperaturi, atât PEG 400, cât și PEG 1500 prezintă o influență asupra indicelui de consistență (Fig. 2.18).

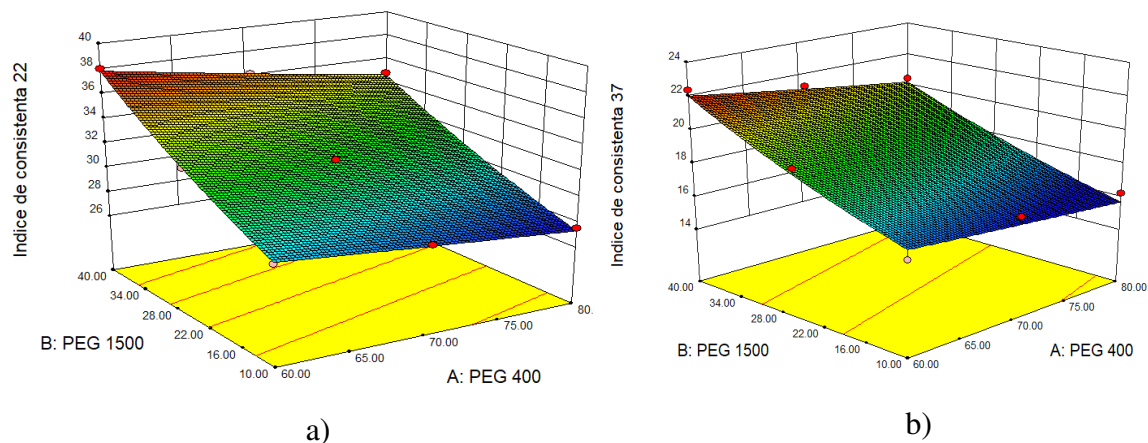


Fig. 2.18. Influența factorilor de formulare asupra indicelui de consistență determinat la temperaturile de $22\pm 0,1^{\circ}\text{C}$ (a) și $37\pm 0,1^{\circ}\text{C}$ (b)

- **Influența factorilor de formulare asupra vâscozității, determinată la cea mai mică viteză de forfecare la temperaturile de $22\pm 0,1^{\circ}\text{C}$ și $37\pm 0,1^{\circ}\text{C}$**

S-au obținut ecuațiile regresiei liniare pentru vâscozitatea la cea mai mică viteză de forfecare, la cele două temperaturi, folosind *Design Expert software (versiunea 8.0.7)*:

$$Y_3 = 0,00005527 + 0,00000394 \cdot X_1 - 0,000009124 \cdot X_2, \quad (2.6)$$

în care:

Y_3 – vâscozitatea la cea mai mică viteză de forfecare determinată la $22\pm 0,1^{\circ}\text{C}$;

X_1 – PEG 400;

X_2 – PEG 1500.

$$Y_4 = 0,0000901177 + 0,000000493887 \cdot X_1 - 0,00000109792 \cdot X_2, \quad (2.7)$$

în care:

Y_4 – vâscozitatea la cea mai mică viteză de forfecare determinată la $37\pm 0,1^{\circ}\text{C}$;

X_1 – PEG 400;

X_2 – PEG 1500.

Ecuațiile regresiei liniare arată că, PEG 1500 manifestă un efect mai mare asupra vâscozității la cele două temperaturi.

Suprafețele de răspuns indică faptul că, la ambele temperaturi, atât PEG 400, cât și PEG 1500 prezintă o influență asupra valorilor vâscozității determinate la cea mai mică viteză de forfecare (Fig. 2.19).

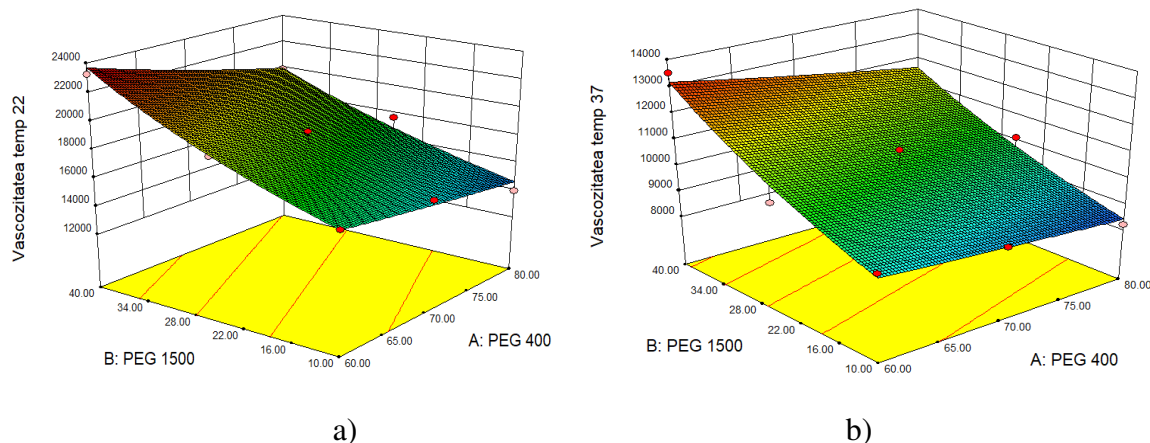


Fig. 2.19. Influența factorilor de formulare asupra vâscozității la cea mai mică viteză de forfecare la temperaturile de $22\pm 0,1^{\circ}\text{C}$ (a) și $37\pm 0,1^{\circ}\text{C}$ (b)

- **Influența factorilor de formulare asupra activității osmotice**

S-a obținut ecuația regresiei liniare pentru activitatea osmotică la 6 ore, folosind *Design Expert software* (versiunea 8.0.7):

$$Y_5 = 0,003307 + 0,000017 \cdot X_1 - 0,0010729124 \cdot X_2 + 0,0000717 \cdot X_1 \cdot X_2 + 0,000009572 \cdot X_1^2 + 0,0005705 \cdot X_2^2, \quad (2.8)$$

în care:

Y_5 – activitatea osmotică;

X_1 – PEG 400;

X_2 – PEG 1500.

În urma determinărilor experimentale, se face concluzia că, activitatea osmotică a unguentelor depinde exclusiv de cantitatea de PEG 1500. Suprafața de răspuns, la fel arată o influență direct proporțională dintre PEG 1500 și activitatea osmotică (Fig. 2.20).

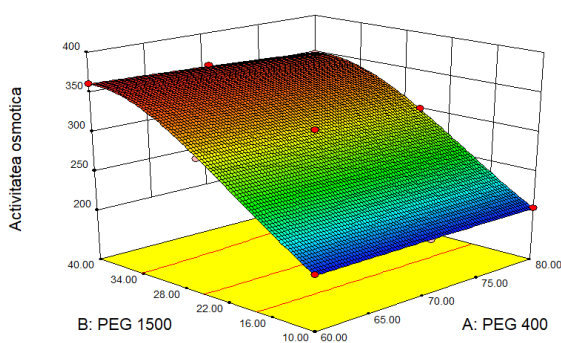


Fig. 2.20. Influența factorilor de formulare asupra activității osmotice

Formulările care au prezentat un grad de osmoză mai mare de 300% după 6 ore ar putea avea un impact negativ asupra regenerării plăgii (Tabelul A 9.1 și Tabelul A 9.2).

- **Determinarea cantităților optime de PEG 400 și PEG 1500**

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 cu conținut de izohidrafural, metiluracil și benzocaină.

- **Tehnologia unguentului combinat cu conținut de izohidrafural, metiluracil și benzocaină**

Prima etapă tehnologică constă în dizolvarea metiluracilul în circa 2,5 g PEG 400, izohidrafuralul în circa 3 g PEG 400 și benzocainei în circa 5,0 g PEG 400. PEG 1500 se topește, la care se adaugă restul cantității de PEG 400 rămase și lichidele obținute de izohidrafural, metiluracil și benzocaină în PEG 400. Se amestecă bine până la omogenitate. Unguentul obținut se prepară în condiții aseptice. La etapa finală se verifică calitatea, se ambalează în recipiente sterilizate și se etichetează (Anexa 18) [121].

2.4.3. Unguentul combinat cu conținut de izohidrafural și fluocinolon acetonid

Pentru a stabili compoziția optimă a unguentului s-a utilizat designul factorial cu doi factori a câte trei niveluri [117, 118]. Propilenglicolul și alcoolul cetostearilic au servit drept variabile independente (Tabelul 2.7).

Tabelul 2.7. Valorile variabilelor independente

Denumirea variabilelor	Cantitatea, g		
	Nivelul de jos (-1)	Nivelul de bază (0)	Nivelul de sus (+1)
Propilenglicol (X_1)	3,0	4,0	5,0
Alcool cetostearilic (X_2)	3,0	5,0	7,0

În calitate de variabile dependente s-au selectat: indicele de consistență la temperaturile de $22 \pm 0,1^\circ\text{C}$ și $37 \pm 0,1^\circ\text{C}$, vâscozitatea la cea mai mică viteză de forfecare, la temperaturile de $22 \pm 0,1^\circ\text{C}$ și $37 \pm 0,1^\circ\text{C}$ și procentul cedării izohidrafuralului și fluocinolonului acetonid după 6 ore.

În baza rezultatelor obținute, au fost trasate reogramele, privind variația tensiunii de forfecare în funcție de viteza de forfecare la temperaturile de $22 \pm 0,1^\circ\text{C}$ și $37 \pm 0,1^\circ\text{C}$ (Tabelul A 11.1 și Tabelul A 11.2). Din reograme se observă o creștere a tensiunii de forfecare o dată cu mărirea vitezei de forfecare la ambele temperaturi (Fig. A 11.1).

S-a determinat vâscozitatea celor nouă formulări, care se modifică în dependență de viteza de forfecare și temperatură (Tabelul A 11.3 și Tabelul A 11.4). Au fost trasate curbele

reologice ale vâscozității în funcție de viteza de forfecare la ambele temperaturi (Fig. A 11.2 și Fig A 11.3).

Indicele de consistență a fost calculat cu ajutorul modelului reologic Ostwald-de Waele (formula 2.1). Datele reologice experimentale demonstrează caracterul nenewtonian și pseudoplastic al celor nouă formulări.

S-a cercetat și cinetica cedării *in vitro* a izohidrafuralului și fluocinolonului acetonid din cele 9 formulări experimentale (Tabelul A 12.1 și Tabelul A 12.2).

Pentru a evalua comparativ cinetica cedării *in vitro* a substanțelor active din formulările studiate, s-au trasat curbele de cedare (Fig. A 12.1).

Pentru optimizarea unguentului combinat cu conținut de izohidrafural și fluocinolon acetonid s-a aplicat: *Design Expert software* (versiunea 8.0.7) (Tabelul 2.8).

Tabelul 2.8. Design-ul factorial 3^2 și rezultatele experimentale

Formulare	Nivelurile variabilelor independente		Indice de consistență, $\text{Pa}\cdot\text{s}^n$		Vâscozitatea la cea mai mică viteză de forfecare, $\text{cP}\cdot 10^2$		Procentul cedării izohidrafuralului după 90 minute	Procentul cedării fluocinolonului acetonid după 6 ore
	X_1 (g)	X_2 (g)	22°C	37°C	22°C	37°C		
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

Curbele reziduale ale răspunsurilor observate față de răspunsurile estimate denotă o fitare satisfăcătoare (Tabelul A 13.1, Fig. A 13.1). Analiza de varianță (ANOVA) denotă că, rezultatele obținute sunt semnificative din punct de vedere statistic (Tabelul A 13.2).

- ***Influența factorilor de formulare asupra indicelui de consistență, determinat la temperaturile de $22\pm 0,1^\circ\text{C}$ și $37\pm 0,1^\circ\text{C}$***

Cu ajutorul programului *Design Expert software* (versiunea 8.0.7) au fost obținute ecuațiile regresiiilor liniare pentru indicele de consistență, determinat la cele două temperaturi:

$$Y_1 = 0,023 + 0,001974 \cdot X_1 - 0,00647 \cdot X_2, \quad (2.9)$$

în care:

Y_1 – indicele de consistență determinat la $22\pm 0,1^\circ\text{C}$;

X_1 – propilenglicol;

X_2 – alcool cetostearilic.

$$Y_2 = 0,07 + 0,00765 \cdot X_1 - 0,021 \cdot X_2, \quad (2.10)$$

în care:

Y_2 – indicele de consistență determinat la $37 \pm 0,1^\circ\text{C}$;

X_1 – propilenglicol;

X_2 – alcool cetostearilic.

Ecuțiile regresiei liniare arată că, alcoolul cetostearilic manifestă un efect mai mare asupra indicelui de consistență la cele două temperaturi.

Suprafețele de răspuns indică faptul că, la ambele temperaturi, atât propilenglicolul, cât și alcoolul cetostearilic prezintă o influență asupra indicelui de consistență (Fig. 2.21).

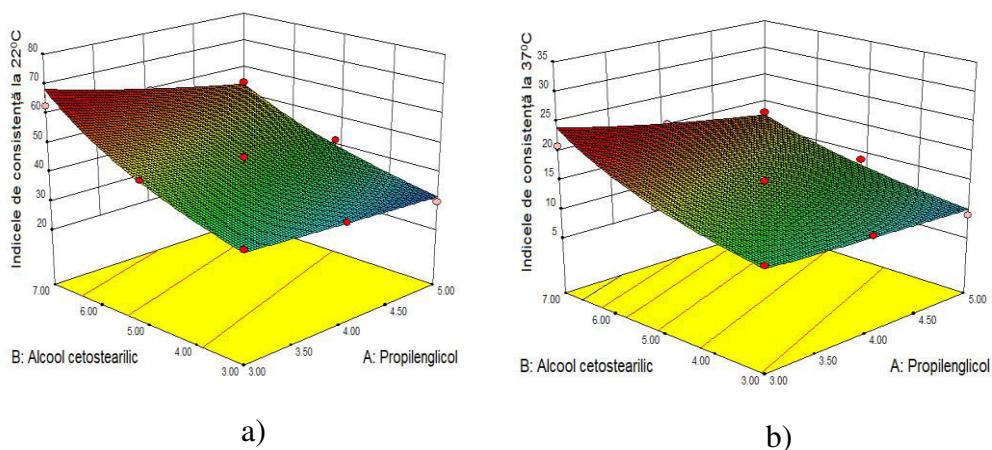


Fig. 2.21. Influența factorilor de formulare asupra indicelui de consistență la $22 \pm 0,1^\circ\text{C}$ (a) și la $37 \pm 0,1^\circ\text{C}$ (b)

- ***Influența factorilor de formulare asupra vâscozității, determinată la cea mai mică viteză de forfecare la temperaturile de $22 \pm 0,1^\circ\text{C}$ și $37 \pm 0,1^\circ\text{C}$***

S-au obținut ecuațiile regresiei liniare pentru vâscozitatea la cea mai mică viteză de forfecare, la cele două temperaturi, folosind *Design Expert software* (versiunea 8.0.7):

$$Y_3 = 0,000066 + 0,00000998 \cdot X_1 - 0,0000364 \cdot X_2 - 0,000005319 \cdot X_1 \cdot X_2 + 0,000000604 \cdot X_1^2 + 0,0000158 \cdot X_2^2, \quad (2.11)$$

în care:

Y_3 – vâscozitatea la cea mai mică viteză de forfecare determinată la $22 \pm 0,1^\circ\text{C}$;

X_1 – propilenglicol;

X_2 – alcool cetostearilic.

$$Y_4 = 0,000259 + 0,0000978 \cdot X_1 - 0,0000752 \cdot X_2 - 0,000005796 \cdot X_1 \cdot X_2 - 0,00000494 \cdot X_1^2 + 0,00000501 \cdot X_2^2, \quad (2.12)$$

în care:

Y_4 – vâscozitatea la cea mai mică viteză de forfecare determinată la $37 \pm 0,1^\circ\text{C}$;

X_1 – propilenglicol;

X_2 – alcool cetostearilic.

Ecuatiile regresiiilor liniare arată că, alcoolul cetostearilic manifestă un efect mai mare asupra vâscozității la cele două temperaturi. Suprafețele de răspuns indică faptul că, la ambele temperaturi, atât propilenglicolul, cât și alcoolul cetostearilic prezintă o influență asupra valorilor vâscozității determinate la cea mai mică viteză de forfecare (Fig. 2.22).

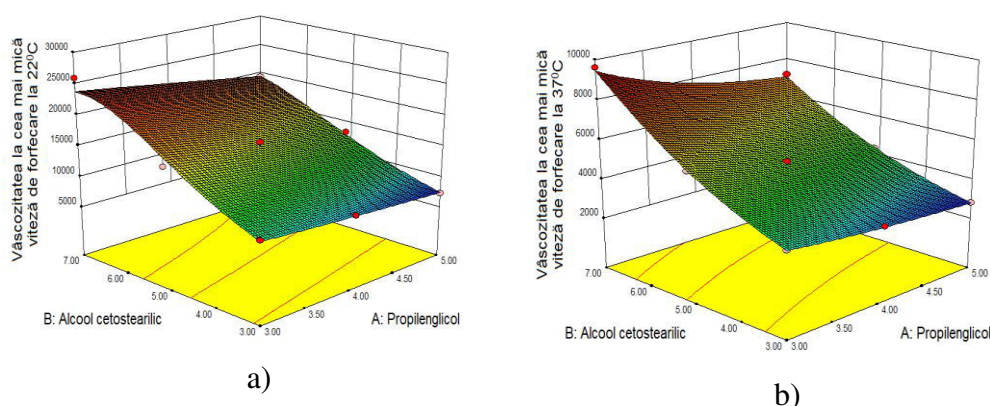


Fig. 2.22. Influența factorilor de formulare asupra vâscozității la cea mai mică viteză de forfecare la $22 \pm 0,1^\circ\text{C}$ (a) și la $37 \pm 0,1^\circ\text{C}$ (b)

• ***Influența factorilor de formulare asupra cedării in vitro a izohidrafuralului și fluocinolonului acetonid***

La aplicarea *Design Expert software* (versiunea 8.0.7) s-au obținut ecuațiile regresiiilor liniare pentru cedarea izohidrafuralului după 90 minute și pentru cedarea fluocinolonului acetonid după 6 ore:

$$Y_5 = 0,012 - 0,0005687 \cdot X_1 + 0,001524 \cdot X_2, \quad (2.13)$$

în care:

Y_5 – procentul izohidrafuralului cedat după 90 minute;

X_1 – propilenglicol;

X_2 – alcool cetostearilic.

$$Y_6 = 0,017 + 0,001121 \cdot X_1 + 0,00357 \cdot X_2 - 0,0001916 \cdot X_1 \cdot X_2 + 0,00001988 \cdot X_1^2 + 0,0008514 \cdot X_2^2, \quad (2.14)$$

în care:

Y_6 – procentul fluocinolonului acetonid cedat după 6 ore;

X_1 – propilenglicol;

X_2 – alcool cetostearilic.

Ecuatiile regresiiilor liniare arată că, alcoolul cetostearilic are o influență mai mare asupra cedării ambelor substanțe medicamentoase. Suprafețele de răspuns indică faptul că, procentul cedării *in vitro* a izohidrafuralului și fluocinolonului acetonid crește o dată cu mărirea cantității de propilenglicol și scăderea concentrației de alcool cetostearilic (Fig. 2.23).

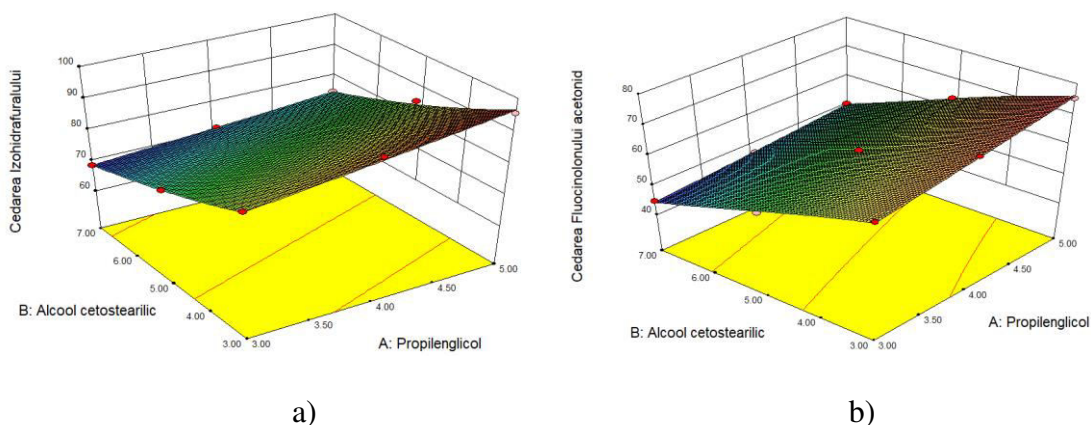


Fig. 2.23. Influența factorilor de formulare asupra cedării *in vitro* a izohidrafuralului (a) și fluocinolonului acetonid (b)

- ***Determinarea cantităților optime de propilenglicol și alcool cetostearilic***

Cu ajutorul răspunsurilor planului experimental au fost determinate cantitățile optime de propilenglicol – 5,0% și alcool cetostearilic – 3,0% necesare pentru prepararea unguentului combinat cu conținut de izohidrafural și fluocinolon acetonid.

- ***Tehnologia unguentului combinat cu conținut de izohidrafural și fluocinolon acetonid***

Cantitatea cântărită de fluocinolon acetonid se dizolvă în circa 1 g de propilenglicol la 50-55⁰C la agitare, apoi cantitatea rămasă de propilenglicol se va adăuga treptat, în porții și la amestecare continuă. Alcoolul cetostearilic se topește la 50-55⁰C. Vaselina se topește la 35-40⁰C. La vaselina topită se adaugă alcoolul cetostearilic topit și se amestecă bine până la omogenizare. Soluția obținută de fluocinolon acetonid în propilenglicol și cantitatea exact cântărită de izohidrafural se adaugă treptat la excipientul topit. Se amestecă bine până la o masă omogenă. Produsul intermediar obținut după încorporarea principiilor active în baza de unguent este supus controlului analitic (Anexa 19) [122].

2.5. Sinteza capitoului 2

Pentru a corela conceperea unor noi produse combinate de uz dermatologic cu necesitățile și așteptările mediului medical și economic din RM, s-a realizat un studiu privind prezența

medicamentelor dermatologice combinate pe piața farmaceutică din RM în perioada 2012-2017, constatându-se o evoluție a numărului acestora raportat la produsele monocomponente, de la 7 în 2012 la 47 în 2017, majoritatea dintre acestea provenind din import și doar 11 produse fiind indigene. Deși numărul medicamentelor combinate este semnificativ mai mic față de numărul produselor cu un singur ingredient activ, tendința de creștere a numărului acestora este justificată de eficiența terapeutică superioară obținută prin asocierea unor substanțe active din diferite clase farmacoterapeutice.

O etapă obligatorie la preformularea unui medicament, cu atât mai mult la un produs combinat, este studiul compatibilității fizico-chimice între substanțe medicamentoase, între acestea și excipienți, dar și între excipienți. Cercetarea compatibilității fizico-chimice a fost realizată prin cele mai moderne și eficiente metode: DSC și spectrometrie FTIR. Pe baza termogramelor DSC și a spectrelor FTIR obținute pentru toate asocierile binare este demonstrată compatibilitatea între componentele care se doresc a se asocia în produse propuse pentru dezvoltare.

Pentru formularea unguentelor s-a utilizat metoda planurilor experimentale. Această tehnică reprezintă o strategie utilă și eficientă în dezvoltarea unei formulări, deoarece implică un număr mai mic de experimente și oferă informații cu privire la importanța diferiților factori de formulare și interacțiunile dintre aceștia. În urma optimizării formulelor, au fost obținute cantitățile optime de excipienți. În final au fost obținute 3 unguente combinate, pentru care a fost stabilit fluxul tehnologic și s-au elaborat proiectele Regulamentelor tehnologice de producere.

3. ELABORAREA METODELOR DE ANALIZĂ ALE UNGUENTELOR COMBinate

3.1. Materiale și metode de cercetare

Metodele de analiză au fost elaborate pentru unguentele combinate optimizate, preparate în condiții de laborator. Compoziția acestora și tehnologia de preparare sunt redată în Capitolul 2.

Metoda spectrofotometrică UV-VIS a fost aplicată pentru determinările calitative și cantitative ale unguentelor combinate. Cercetările au fost efectuate în mai multe centre științifice. În Laboratorul de analiză, standardizare și control al medicamentului din cadrul CȘM al USMF „Nicolae Testemițanu” a fost studiată analiza spectrală UV-VIS a unguentului combinat cu conținut de izohidrafural și metiluracil. S-a folosit spectrofotometrul Agilent Technologies 8453. În cadrul Departamentului de Chimie al Universității din Zagreb, Croația (programul CEEPUS III Network) a fost elaborată metoda spectrofotometrică UV-VIS de analiză a unguentului combinat cu conținut de izohidrafural, metiluracil și benzocaină precum și a unguentului combinat cu conținut de izohidrafural și fluocinolon acetonid. S-a utilizat spectrofotometrul UV-Visible Cary 3 Varian.

Metoda HPLC este cel mai des utilizată pentru formele farmaceutice combinate [123]. Având la bază mecanismul separării componentelor dintr-un amestec, permite identificarea și dozarea principiilor active în același timp. De asemenea pot fi detectate cu exactitate și impuritățile [123].

Metoda HPLC a fost utilizată atât pentru identificarea, determinarea purității, cât și dozarea substanțelor active din unguentele combinate. Cercetările au avut loc în cadrul Laboratorului de analiză, standardizare și control al medicamentului din cadrul CȘM al USMF „Nicolae Testemițanu”, precum și în cadrul Departamentului de Chimie farmaceutică din Institutul de Științe Farmaceutice al Universității din Graz, Austria (programul CEEPUS III Network).

La elaborarea și validarea metodei HPLC de analiză a izohidrafuralului și metiluracilului din unguentul combinat, dar și a izohidrafuralului, metiluracilului și benzocainei din unguentul combinat s-a utilizat cromatograful 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 în calitate de fază mobilă. Detecția UV-VIS a avut loc

la lungimea de undă de 260 nm. Debitul fazei mobile a fost de 1,0 ml/minut. Temperatura coloanei cromatografice a fost menținută la 30°C.

Pentru elaborarea și validarea 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 și apă purificată în raportul 40:60 a fost selectat în calitate de fază mobilă. Detecția UV-VIS a avut loc la lungimea de undă de 260 nm. Debitul fazei mobile a fost de 0,4 ml/minut. Temperatura coloanei cromatografice a fost menținută la 30°C.

Validarea metodelor de dozare a substanțelor active din unguentele combinate a avut loc în conformitate cu prevederile ghidului ICH “Q2R1: Pentru proceduri analitice și validare” [124]. S-au cercetat următorii parametri de validare: linearitate, limită de detecție, limită de cuantificare, selectivitate, exactitate, precizie și robustețe.

Limita de detecție a fost calculată, folosind formula de calcul [124, 125, 126, 127, 128, 129, 130]:

$$LOD = \frac{3,3 \cdot SD}{a}, \quad (3.1)$$

în care:

LOD – limita de detecție;

SD – deviația standard a intercepției;

a – panta dreptei de etalonare.

Limita de cuantificare a fost determinată cu ajutorul formulei de calcul [124, 125, 126, 127, 128, 129, 130]:

$$LOQ = \frac{10 \cdot SD}{a}, \quad (3.2)$$

în care:

LOQ – limita de cuantificare;

SD – deviația standard a intercepției;

a – panta dreptei de etalonare.

Exactitatea metodelor elaborate a fost determinată la 3 nivele de concentrație: 80%, 100% și 120% prin metoda adaosului standard. Determinările pentru fiecare nivel de concentrație s-au efectuat în triplicat și au fost evaluate statistic. Concentrația substanțelor active a fost calculată folosind ecuațiile regresiiilor liniare stabilite la parametrul de liniaritate [124, 125, 126, 127, 128, 129, 130].

Randamentul recuperării s-a determinat prin formula [124, 125, 126, 127, 128, 129, 130]:

$$R = \frac{C_t - C_p}{C_a} \cdot 100\%, \quad (3.3)$$

în care:

R – randamentul recuperării, %;

C_t – concentrația totală a probei împreună cu adaos, $\mu\text{g/ml}$;

C_p – concentrația probei fără adaos, $\mu\text{g/ml}$;

C_a – concentrația adaosului standard, $\mu\text{g/ml}$.

Pentru a determina gradul de precizie, s-a cercetat repetabilitatea și precizia intermediară. Repetabilitatea a fost determinată pentru 6 probe, la nivelul de concentrație a substanțelor medicamentoase de 100%, în aceeași zi, respectându-se aceleași condiții. Precizia intermediară a fost cercetată în 2 zile diferite, în același condiții, efectuându-se câte 6 determinări pentru fiecare unguent [124, 125, 126, 127, 128, 129, 130].

3.2. Analiza calitativă a unguentelor combinate prin metode chimice

- ***Unguentul combinat IHF+MTU***

Tehnica de extracție. 0,1 g unguent combinat (masă exactă) se dizolvă în 10 ml apă purificată la încălzire, până la topirea excipientului. După răcire se separă stratul de apos.

Identificarea izohidrafuralului poate fi efectuată prin reacții chimice specifice derivaților 5-nitrofuranului:

a) Reacția cu hidroxid de sodiu. La 2 ml extract se adaugă 1 ml soluție de hidroxid de sodiu 0,1 mol/l. Apare o colorație roșie-oranjă. Sensibilitatea reacției este de 20 $\mu\text{g/ml}$.

b) Reacția cu dimetilformamidă. La 2 ml extract se adaugă 1 ml dimetilformamidă. Apare o colorație galben-brună. Sensibilitatea reacției este de 20 $\mu\text{g/ml}$.

Identificarea metiluracilului poate fi efectuată prin reacția cu nitrat de argint în mediul bazic: la 1 ml extract se adaugă 2-3 picături soluție de timolftaleină și soluție de hidroxid de sodiu 0,1 mol/l cu picătura până la apariția unei colorații albastre. Apoi se adaugă 0,5 ml soluție nitrat de argint. Apare un precipitat gelatinos. Sensibilitatea reacției este de 400 $\mu\text{g/ml}$.

- ***Unguentul combinat IHF+MTU+BNZ***

Identificarea izohidrafuralului și metiluracilului din unguentul combinat se petrece asemănător reacțiilor descrise la unguentul combinat IHF+MTU.

Identificarea benzocainei din unguentul combinat poate fi realizată după extracția cu soluție diluată de acid clorhidric.

Tehnica de extracție. 0,1 g unguent combinat (masă exactă) se dizolvă în 5 ml apă purificată, la care se adaugă 0,5 ml soluție acid clorhidric 10% și se încălzește până la topirea excipientului. După răcire se separă stratul de apos.

a) *Reacția de formare a azocolorantului.* La 1 ml extract se adaugă 2-3 picături soluție nitrit de sodiu 0,1 mol/l și se adaugă la 2 ml soluție alcalină de β -naftol. Apare o colorație oranjă. Sensibilitatea reacției este de 180 μ g/ml.

b) *Reacția cu cloramina.* La 1 ml extract se adaugă 1 ml soluție cloramină. Peste 1 minut se adaugă 2 ml eter și se agită. Stratul de eter se colorează în oranj. Sensibilitatea reacției este de 180 μ g/ml.

- ***Unguentul combinat IHF+FLAc***

Identificarea izohidrafuralului din unguentul combinat se petrece asemănător reacțiilor descrise la unguentul combinat IHF+MTU.

Identificarea fluocinolonului acetonid din unguentul combinat poate avea loc prin reacțiile chimice specifice grupărilor funcționale prezente în molecula sa: ceto, esterică. De asemenea au fost selectate doar reacțiile chimice care nu interferează cu izohidrafuralul.

Tehnica de extracție. 2,0 g unguent combinat (masă exactă) se dizolvă în 5 ml apă purificată la încălzire, până la topirea excipientului. După răcire se separă stratul de apos.

a) *Reacția cu reactivul Fehling (soluția apoasă de sulfat de cupru și soluția apoasă de tartrat dublu de sodiu și potasiu).* La 2 ml extract se adaugă 1 ml metanol, 1 ml reactiv Fehling și se încălzește. Apare un precipitat roșu. Sensibilitatea reacției este de 200 μ g/ml.

b) *Reacția cu fenilhidrazina.* La 2 ml extract se adaugă 1 ml metanol, 5 ml sulfat de fenilhidrazină și se încălzește. Peste circa 5 minute apare o colorație galbenă. Sensibilitatea reacției este de 200 μ g/ml.

3.3. Analiza unguentelor combinate prin metoda spectrofotometrică UV-VIS

3.3.1. Analiza calitativă: identificare și puritate

Pentru a identifica principiile active din unguentele combinate, s-a făcut preventiv extracția acestora [131, 132, 133]. Tehnicile de lucru sunt expuse la etapa de dozare.

Determinarea purității unguentelor combinate poate fi efectuată prin această metodă concomitent cu procesul de identificare prin compararea spectrelor UV-VIS ale probelor cu cele ale soluțiilor standard.

Spectrele UV-VIS ale soluțiilor probe trebuie să conțină aceleași maxime de absorbție precum în cazul soluțiilor standard ale substanțelor medicamentoase.

Unguentul combinat IHF și MTU. Spectrele UV-VIS ale probelor de izohidrafural 5 μ g/ml, metiluracil 10 μ g/ml emise 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, fiind înregistrate și pe spectrele UV-VIS al soluțiilor standard de substanțe medicamentoase (Fig. A 14.1) [131, 132].

Unguentul combinat IHF, MTU și BNZ. Spectrele UV-VIS ale probelor de izohidrafural 8 µg/ml și metiluracil 16 µg/ml și benzocaină 10 µg/ml emise în regiunea 230-450 nm au prezentat un maxim de absorbție specific izohidrafuralului: la 373±1 nm, la 261±1 nm caracteristic metiluracilului și la 286±1 nm specific benzocainei, fiind înregistrate și pe spectrele UV-VIS al soluțiilor standard de substanțe medicamentoase (Fig. A 14.2) [56].

Unguentul combinat IHF și FLAc. Spectrele UV-VIS ale probelor de izohidrafural 8 µg/ml și fluocinolon acetamid 10 µg/ml emise în regiunea 230-450 nm au prezentat un maxim de absorbție specific izohidrafuralului: la 363±1 nm și la 240±1 nm specific fluocinolonului acetamid, fiind înregistrate și pe spectrele UV-VIS al soluțiilor standard de substanțe medicamentoase (Fig. A 14.3) [133].

3.3.2. Analiza cantitativă

- **Validarea metodelor spectrofotometrice UV-VIS de dozare a izohidrafuralului și metiluracilului din unguentul combinat**

Deoarece forma farmaceutică este unguent, prima etapă a fost selectarea solventului pentru extracția substanțelor active. 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 raport de 1:3 [119]. Extracția cu dimetilformamidă a satisfăcut toate cerințele pentru analiza calitativă și cantitativă a izohidrafuralului și metiluracilului [119].

Tehnica de extracție. 0,5 g unguent (masă exactă) se dizolvă în 20 ml de dimetilformamidă la încălzire până la topirea excipientului. După răcire se separă lichidul obținut într-un balon cotat de 50 ml. Extracția se repetă de 2 ori cu câte 10 ml de dimetilformamidă, unind fracțiunile. Se aduce la cotă cu același solvent. În rezultat s-a obținut o soluție transparentă, de culoare galben-oranj.

Liniaritate. S-a cercetat liniaritatea metodelor spectrofotometrice UV-VIS de dozare pe domeniul 2-20 µg/ml pentru izohidrafural și metiluracil. Astfel, inițial s-au preparat soluțiile standard stoc de izohidrafural 100 µg/ml și metiluracil 100 µg/ml.

Pregătirea soluției standard stoc de izohidrafural: 0,01 g (masă exactă) de substanță standard de izohidrafural se plasează într-un balon cotat de 100 ml, la care se adaugă circa 20 ml dimetilformamidă și se amestecă până la dizolvare, apoi se aduce la cotă cu același solvent.

Pregătirea soluției standard stoc de metiluracil: 0,01 g (masă exactă) de substanță standard de metiluracil se plasează într-un balon cotat de 100 ml, la care se adaugă circa 20 ml dimetilformamidă și se amestecă până la dizolvare, apoi se aduce la cotă cu același solvent.

Din fiecare soluție standard stoc s-au preparat prin diluții câte 6 soluții standard pentru fiecare substanță medicamentoasă cu concentrațiile de 3, 5, 7, 10, 15 și 20 µg/ml. S-a determinat absorbanta soluțiilor standard la 267 nm pentru metiluracil și 373 nm pentru izohidrafural, folosind dimetilformamida ca referință. Determinările au fost efectuate în triplicat și evaluate statistic (Tabelul A 14.1 și Tabelul A 14.2).

Ecuatiile regresiei liniare au fost calculate prin metoda celor mai mici pătrate (Tabelul A 14.3). De asemenea au fost confirmate și prin opțiunea Trendline a programului Excel, fiind trasate câte 3 curbe de etalonare ale celor 3 determinări pentru fiecare substanță medicamentoasă (Fig. 3.1).

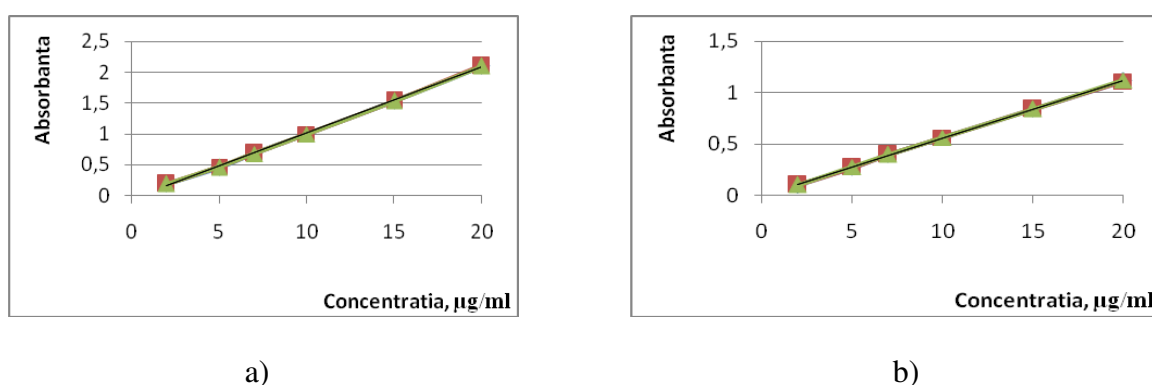


Fig. 3.1. Curbele de etalonare ale soluțiilor standard de izohidrafural (a) și metiluracil (b)

Ecuția regresiei liniare pentru dozarea izohidrafuralului este: $y = 0,10694x - 0,0567$ și pentru dozarea metiluracilului este: $y = 0,05614x - 0,00233$.

Limita de detecție. Valorile limitelor de detecție calculate după formula 3.1, pentru izohidrafural este de 0,0197 µg/ml și pentru metiluracil este de 0,0189 µg/ml.

Limita de cuantificare. Valorile limitelor de cuantificare calculate după formula 3.2, pentru izohidrafural este de 0,059 µg/ml și pentru metiluracil este de 0,00572 µg/ml.

Selectivitate. S-a efectuat extracția cu dimetilformamidă pentru proba placebo a unguentului combinat cu conținut de izohidrafural și metiluracil, după care s-au pregătit soluțiile placebo 1 și 2. 5 ml din extractul placebo se plasează într-un balon cotat de 10 ml și se aduce la cotă cu același solvent (*soluția placebo 1*). 2,5 ml din extractul placebo se transferă într-un balon cotat de 100 ml și se aduce la cotă cu același solvent (*soluția placebo 2*).

Soluțiile placebo 1 și 2 nu au prezentat absorbție la lungimile de undă maxime: 267 nm specific pentru metiluracil și 373 nm specific pentru izohidrafural (Fig. A 14.1).

Aceasta denotă că, metoda spectrofotometrică UV-VIS elaborată este selectivă pentru ambele substanțe medicamentoase.

Exactitate.

Tehnica preparării soluțiilor standard stoc de izohidrafural și metiluracil este prezentată la parametrul liniaritate.

Pregătirea probei de exactitate 80% pentru izohidrafural. Într-un balon cotat cu capacitatea de 10 ml se plasează 5 ml extract și 0,3 ml soluție standard stoc de izohidrafural. Se amestecă bine și se aduce la cotă cu dimetilformamidă.

Pregătirea probei de exactitate 100% pentru izohidrafural. Într-un balon cotat cu capacitatea de 10 ml se plasează 5 ml extract și 0,5 ml soluție standard stoc de izohidrafural. Se amestecă bine și se aduce la cotă cu dimetilformamidă.

Pregătirea probei de exactitate 120% pentru izohidrafural. Într-un balon cotat cu capacitatea de 10 ml se plasează 5 ml extract și 0,7 ml soluție standard stoc de izohidrafural. Se amestecă bine și se aduce la cotă cu dimetilformamidă.

Pregătirea probei de exactitate 80% pentru metiluracil. Într-un balon cotat cu capacitatea de 100 ml se plasează 2,5 ml extract și 2 ml soluție standard stoc de metiluracil. Se amestecă bine și se aduce la cotă cu dimetilformamidă.

Pregătirea probei de exactitate 100% pentru metiluracil. Într-un balon cotat cu capacitatea de 100 ml se plasează 2,5 ml extract și 5 ml soluție standard stoc de metiluracil. Se amestecă bine și se aduce la cotă cu dimetilformamidă.

Pregătirea probei de exactitate 120% pentru metiluracil. Într-un balon cotat cu capacitatea de 100 ml se plasează 2,5 ml extract și 8 ml soluție standard stoc de metiluracil. Se amestecă bine și se aduce la cotă cu dimetilformamidă.

S-a determinat absorbanta probelor de exactitate ale izohidrafuralului la 373 nm și ale metiluracilului la 267 nm.

Concentrația substanțelor active din probele de exactitate a fost determinată cu ajutorul dreptelor de etalonare, iar procentul regăsirii a fost stabilit prin formula de calcul 3.3.

Valoarea medie a randamentului recuperării a fost cuprinsă între 85,0% și 105,0% pentru ambele substanțe medicamentoase [110] (Tabelul 3.1).

Tabelul 3.1. Rezultatele determinării exactității metodei spectrofotometrice UV-VIS de dozare a substanțelor active din unguentul combinat

Nivele de concentrație	Concentrația teoretică a probei, μg/ml	Concentrația totală a probei împreună cu adaos, μg/ml	Randamentul recuperării, %
Izohidrafural			
80%	8	7,97	99,00
	8	7,98	99,33
	8	8,06	102,00
100%	10	10,05	101,00
	10	9,99	99,80
	10	9,97	99,40
120%	12	11,97	99,57
	12	12,02	100,29
	12	11,98	99,71
Media randamentului recuperării, %			100,01
Metiluracil			
80%	12	11,99	99,50
	12	11,95	97,50
	12	11,97	98,50
100%	15	14,95	99,00
	15	14,96	99,20
	15	14,98	99,60
120%	18	17,98	99,75
	18	18,02	100,25
	18	17,99	99,88
Media randamentului recuperării, %			99,24

Precizie.

Pregătirea probei de izohidrafural. 5 ml din extractul obținut se plasează într-un balon cotelat de 10 ml și se aduce la cotă cu dimetilformamidă.

Pregătirea probei de metiluracil. 2,5 ml din extractul obținut se transferă într-un balon cotelat de 100 ml și se aduce la cotă cu dimetilformamidă.

Pregătirea soluției standard de izohidrafural. 0,01 g (masă exactă) de substanță standard de izohidrafural se plasează într-un balon cotelat cu capacitatea 100 ml, se adaugă 20 ml dimetilformamidă. Se agită până la dizolvare și se aduce la cotă cu același solvent. 5 ml de soluție obținută se transferă într-un balon cotelat de 100 ml și se aduce la semn cu același solvent.

Pregătirea soluției standard de metiluracil. 0,05 g (masă exactă) de substanță standard de metiluracil se plasează într-un balon cotelat cu capacitatea 50 ml, se adaugă 20 ml dimetilformamidă. Se agită până la dizolvare și se aduce la cotă cu același solvent. 1 ml de soluție obținută se transferă într-un balon cotelat de 100 ml și se aduce la semn cu același solvent.

Conținutul cantitativ de izohidrafural în unguentul combinat a fost calculat prin formula 3.4, iar a metiluracilului prin formula 3.5.

$$X = \frac{A_x \cdot 50 \cdot 10 \cdot m_{st} \cdot 5}{A_{st} \cdot m_{ung} \cdot 5 \cdot 100 \cdot 100} \cdot P \quad (3.4)$$

în care:

X – conținutul cantitativ de izohidrafural în unguent, g;

A_x – absorbanta soluției probă de izohidrafural;

A_{st} – absorbanta soluției standard de izohidrafural;

m_{ung} – masa unguentului luată pentru extracție, g;

m_{st} – masa substanței standard de izohidrafural, g;

P – masa totală a unguentului, g.

$$X = \frac{A_x \cdot 50 \cdot 100 \cdot m_{st} \cdot 1}{A_{st} \cdot m_{ung} \cdot 2,5 \cdot 50 \cdot 100} \cdot P \quad (3.5)$$

în care:

X – conținutul cantitativ de metiluracil în unguent, g;

A_x – absorbanta soluției probă de metiluracil;

A_{st} – absorbanta soluției standard de metiluracil;

m_{ung} – masa unguentului luată pentru extracție, g;

m_{st} – masa substanței standard de metiluracil, g;

P – masa totală a unguentului, g.

Rezultatele obținute denotă că, metodele elaborate sunt precise, valorile deviației standard relative fiind mai mici decât 2% (Tabelul A 14.4 și Tabelul A 14.5).

Robustețe. S-a cercetat prin variația cu ± 1 nm a lungimilor de undă maxime de absorbție a luminii de către proba de izohidrafural 5 $\mu\text{g/ml}$ și proba de metiluracil 10 $\mu\text{g/ml}$. Determinările au fost efectuate în triplicat, fiind evaluate statistic (Tabelul 3.2).

Tabelul 3.2. Robustețea metodelor spectrofotometrice UV-VIS de dozare a izohidrafuralului și metiluracilului din unguentul combinat

Numărul determinării	Izohidrafural (5 µg/ml)			Metiluracil (10 µg/ml)		
	Valorile absorbanței la lungimea de undă					
	372 nm	373 nm	374 nm	266 nm	267 nm	268 nm
1.	0,45873	0,46123	0,45971	0,55983	0,56233	0,56114
2.	0,45861	0,46171	0,45962	0,55978	0,56231	0,56107
3.	0,45889	0,46144	0,45991	0,55987	0,56237	0,56112
Media	0,45874	0,46146	0,45975	0,55983	0,56234	0,56111
Deviația standard	0,00014	0,00024	0,00015	0,00005	0,00003	0,00004
Deviația standard relativă, %	0,031	0,052	0,032	0,008	0,005	0,006

Rezultatele obținute denotă că metodele elaborate sunt robuste, înregistrându-se modificări nesemnificative ale absorbanței la lungimile de undă examinate.

- **Validarea metodei spectrofotometrice UV-VIS de dozare a izohidrafuralului din unguentul combinat cu conținut de izohidrafural, metiluracil și benzocaină**

Precum în cazul unguentului combinat IHF și MTU, 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 raport de 1:3. În final a fost selectată dimetilformamida în calitate de extragent, care a satisfăcut toate cerințele privind elaborarea metodei de dozare a izohidrafuralului. În cazul metiluracilului și benzocainei, metoda spectrofotometrică UV-VIS a fost mai puțin sensibilă decât HPLC. În continuare a fost elaborată și validată metoda spectrofotometrică UV-VIS de dozare a izohidrafuralului din unguent.

Tehnica de extracție. 0,5 g unguent (masă exactă) se dizolvă în 10 ml dimetilformamidă la încălzire până la topirea excipientului. După răcire se separă lichidul obținut într-un balon cotat de 25 ml. Extracția se repetă de 3 ori cu câte 5 ml dimetilformamidă, unind fracțiunile. Se aduce la cotă cu același solvent. În rezultat s-a obținut o soluție transparentă, de culoare galben-oranj [56].

Liniaritate. Pregătirea soluției standard stoc de izohidrafural: 0,005 g (masă exactă) de substanță standard de izohidrafural se plasează într-un balon cotat de 50 ml, la care se adaugă circa 20 ml dimetilformamidă și se amestecă până la dizolvare, apoi se aduce la cotă cu același solvent [56]. Din soluția standard stoc s-a preparat prin diluții soluțiile standard cu concentrațiile de 2, 4, 6 și 8 $\mu\text{g/ml}$ [56]. Apoi a fost determinată absorbanta soluțiilor standard la 373 nm, folosind dimetilformamida ca soluție de referință. Determinările au fost efectuate în triplicat și evaluate statistic (Tabelul A 14.6). Ecuatiile regresiei liniare au fost calculate prin metoda celor mai mici pătrate (Tabelul A 14.7). De asemenea au fost confirmate și prin opțiunea Trendline a programului Excel, fiind trasate câte 3 curbe de etalonare ale celor 3 determinări (Fig. 3.2).

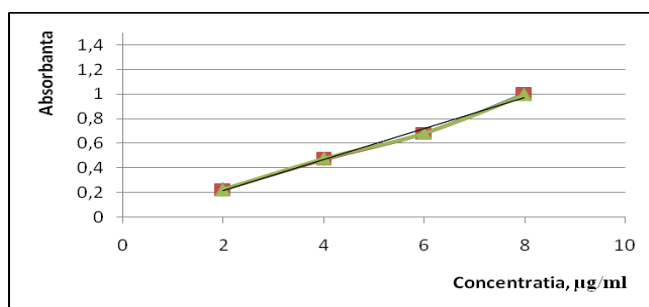


Fig. 3.2. Curbele de etalonare ale soluțiilor standard de izohidrafural

Ecuția regresiei liniare pentru dozarea izohidrafuralului este: $y = 0,12646x - 0,0378$.

Limita de detecție. Valoarea limitei de detecție a izohidrafuralului este 0,0021 $\mu\text{g/ml}$ (formula 3.1).

Limita de cuantificare. Valoarea limitei de cuantificare a izohidrafuralului, este de 0,0063 $\mu\text{g/ml}$ (formula 3.2).

Selectivitate. S-a efectuat extracția cu dimetilformamidă pentru proba placebo după tehnica de lucru similară cu cea a extracției din unguentul combinat cu conținut de IHF, MTU și BNZ.

Prepararea soluției placebo. 2,5 ml din extractul placebo obținut se plasează într-un balon cotelat de 10 ml și se aduce la cota cu același solvent.

Soluția placebo nu a prezentat absorbție la lungimea de undă maximă de 373 nm specifică pentru izohidrafural. Aceasta denotă că, metoda spectrofotometrică UV-VIS elaborată este selectivă.

Exactitate. Tehnica preparării soluțiilor standard stoc de izohidrafural este prezentată la parametrul liniaritate.

Pregătirea probei de exactitate 80%. Într-un balon cotelat cu capacitatea de 10 ml se plasează 1 ml extract și 0,2 ml soluție standard stoc de izohidrafural. Se amestecă bine și se aduce la cota cu dimetilformamidă.

Pregătirea probei de exactitate 100%. Într-un balon cotelat cu capacitatea de 10 ml se plasează 1 ml extract și 0,3 ml soluție standard stoc de izohidrafural. Se amestecă bine și se aduce la cota cu dimetilformamidă.

Pregătirea probei de exactitate 120%. Într-un balon cotelat cu capacitatea de 10 ml se plasează 1 ml extract și 0,4 ml soluție standard stoc de izohidrafural. Se amestecă bine și se aduce la cota cu dimetilformamidă.

S-a determinat absorbanța probelor de exactitate ale izohidrafuralului la 373 nm. Concentrația substanțelor active din probele de exactitate a fost determinată cu ajutorul dreptei de etalonare, iar procentul regăsirii a fost stabilit prin formula de calcul 3.3.

Metoda spectrofotometrică UV-VIS elaborată pentru dozarea izohidrafuralului din unguent este exactă, valoarea medie a randamentului recuperării fiind cuprins între 85,0% și 105,0% [110] (Tabelul 3.3).

Tabelul 3.3. Rezultatele determinării exactității metodei spectrofotometrice UV-VIS de dozare a izohidrafuralului din unguentul combinat cu conținut de izohidrafural, metiluracil și benzocaină

Nivele de concentrație	Concentrația teoretică a probei, μg/ml	Concentrația totală a probei împreună cu adaos, μg/ml	Randamentul recuperării, %
80%	4	3,97	98,50
	4	3,96	98,00
	4	4,02	101,00
100%	5	5,05	101,67
	5	4,97	99,00
	5	4,98	99,33
120%	6	5,97	99,25
	6	6,11	102,75
	6	5,98	99,50
Media randamentului recuperării, %			99,89

Precizie.

Pregătirea probei de izohidrafural. 2,5 ml din extractul obținut se plasează într-un balon cotat de 10 ml și se aduce la cotă cu dimetilformamidă.

Pregătirea soluției standard de izohidrafural. 5 ml de soluție standard stoc de izohidrafural se transferă într-un balon cotat de 100 ml se amestecă cu dimetilformamidă și apoi se aduce la cotă cu același solvent.

Conținutul cantitativ de izohidrafural în unguentul combinat a fost calculat prin formula 3.6.

$$X = \frac{A_x \cdot 25 \cdot 10 \cdot m_{st} \cdot 5}{A_{st} \cdot m_{ung} \cdot 2,5 \cdot 50 \cdot 100} \cdot P, \quad (3.6)$$

în care:

X – conținutul cantitativ de izohidrafural în unguent, g;

A_x – absorbanta soluției probă de izohidrafural;

A_{st} – absorbanta soluției standard de izohidrafural;

m_{ung} – masa unguentului luată pentru extracție, g;

m_{st} – masa substanței standard de izohidrafural, g;

P – masa totală a unguentului, g.

Rezultatele obținute denotă că metoda elaborată este precisă, valorile deviației standard relative fiind mai mici decât 2% (Tabelul A 14.8. și Tabelul A 14.9).

Robustețe. S-a cercetat prin variația cu ± 1 nm a lungimii de undă maximă de absorbție a de către proba de izohidrafural 5 μg/ml. Determinările au fost efectuate în triplicat, fiind evaluate

statistic (Tabelul 3.4). Rezultatele obținute denotă că metoda elaborată este robustă, înregistrându-se modificări nesemnificative ale absorbanței la lungimile de undă examinate.

Tabelul 3.4. Robustetea metodei spectrofotometrice UV-VIS de dozare a izohidrafuralului din unguentul combinat cu conținut de izohidrafural, metiluracil și benzocaină

Numărul determinării	Izohidrafural (5μg/ml)		
	372 nm	373 nm	374 nm
1.	0,57173	0,57723	0,57971
2.	0,57161	0,57771	0,57962
3.	0,57189	0,57744	0,57991
Media	0,57174	0,57746	0,57975
Deviația standard	0,00014	0,00024	0,00015
Deviația standard relativă, %	0,025	0,042	0,026

- **Validarea metodelor spectrofotometrice UV-VIS de dozare a substanțelor active din unguentul combinat cu conținut de izohidrafural și fluocinolon acetamid**

Metodele spectrofotometrice UV-VIS au fost elaborate și validate la etapa de preformulare a unguentului de izohidrafural și fluocinolon acetamid, fiind necesară pentru studiul cineticii cedării substanțelor active. În calitate de solvent a servit apa purificată, servind și ca mediu de dizolvare în studiul cineticii cedării substanțelor active.

Tehnica de extracție. 2,0 g unguent (masă exactă) se dizolvă în 10 ml apă purificată la încălzire până la topirea excipientului. După răcire se separă stratul apos într-un balon cotat de 25 ml. Extracția se repetă de 3 ori cu câte 5 ml de apă purificată, unind fracțiunile. Se aduce la cotă cu același solvent. În rezultat s-a obținut o soluție transparentă, de culoare gălbuie [133].

Liniaritate. S-a cercetat liniaritatea pe domeniul 4-40 μg/ml pentru izohidrafural și 2-20 μg/ml pentru fluocinolon acetamid. Astfel, inițial s-au preparat soluțiile standard stoc de izohidrafural 100 μg/ml și fluocinolon acetamid 100 μg/ml.

Pregătirea soluției standard stoc de izohidrafural: 0,01 g (masă exactă) de substanță standard de izohidrafural se plasează într-un balon cotat de 100 ml, la care se adaugă circa 20 ml apă purificată și se amestecă până la dizolvare, apoi se aduce la cotă cu același solvent [133].

Din soluția standard stoc de izohidrafural s-a preparat prin diluții soluții standard cu concentrațiile de 4, 8, 10, 15, 20 și 40 μg/ml.

Pregătirea soluției standard stoc de fluocinolon acetamid: 0,01 g (masă exactă) de substanță standard de fluocinolon acetamid se plasează într-un balon cotat de 100 ml, la care se adaugă circa 20 ml apă purificată și la încălzire se amestecă până la dizolvare, apoi se aduce la cotă cu același solvent [133].

Din soluția standard stoc de fluocinolon acetamid s-a preparat prin diluții soluții standard cu concentrațiile de 2, 4, 6, 8, 10 și 20 μg/ml.

S-a determinat absorbanta soluțiilor standard la 241 nm pentru fluocinolon acetamid și 363 nm pentru izohidrafural, folosind apa purificată în calitate de soluție de referință.

Cercetările de liniaritate au fost efectuate în triplicat pentru izohidrafural și fluocinolon acetamid și s-au evaluat statistic.

Ecuatiile regresiei liniare au fost calculate prin metoda celor mai mici pătrate (Tabelul A 14.10 și Tabelul A 14.11). De asemenea au fost confirmate și prin opțiunea Trendline a programului Excel, fiind trasate câte 3 curbe de etalonare ale celor 3 determinări pentru fiecare substanță medicamentoasă (Fig. 3.3).

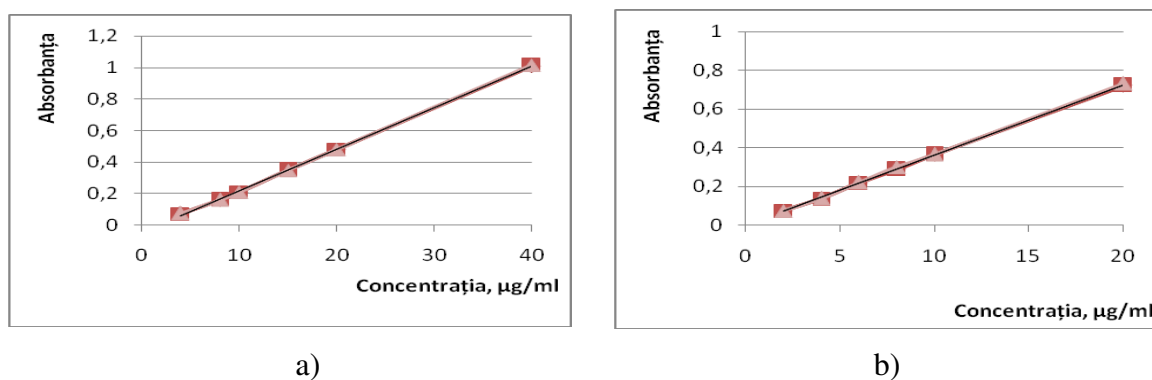


Fig. 3.3. Curbele de etalonare ale soluțiilor standard de izohidrafural (a) și fluocinolon acetamid (b)

Valorile parametrilor de liniaritate pentru dozarea substanțelor active din unguent prin metoda spectrofotometrică UV-VIS elaborată sunt redată în Tabelul A 14.12.

Ecuția regresiei liniare pentru dozarea izohidrafuralului este: $y = 0,02633x - 0,04413$ și pentru dozarea fluocinolonului acetamid este: $y = 0,03637x - 0,0007$.

Limita de detecție. Valorile limitelor de detecție calculate după formula 3.1, pentru izohidrafural este de 0,084 μg/ml și pentru fluocinolon acetamid este de 0,365 μg/ml [133].

Limita de cuantificare. Valorile limitelor de cuantificare calculate după formula 3.2, pentru izohidrafural este de 0,254 μg/ml și pentru fluocinolon acetamid este de 1,107 μg/ml [133].

Selectivitate. Pentru a verifica dacă metoda este selectivă, s-a preparat proba placebo, respectându-se aceleași etape tehnologice precum în cazul unguentului combinat. În continuare s-a petrecut extracția în proba placebo și s-au pregătit soluțiile placebo.

Pregătirea soluției placebo 1. 1 ml din extractul placebo se plasează într-un balon cotat de 10 ml și se aduce la cotă cu același solvent.

Pregătirea soluției placebo 2. 5 ml din extractul placebo se plasează într-un balon cotat de 10 ml și se aduce la cotă cu același solvent [133].

Soluțiile *placebo 1* și *2* nu au prezentat absorbție la lungimile de undă maxime: 241 nm specific pentru fluocinolon acetonid și 363 nm specific pentru izohidrafural. Aceasta denotă că, metoda spectrofotometrică UV-VIS elaborată este selectivă pentru ambele substanțe medicamentoase [133].

Exactitate. Tehnica preparării soluțiilor standard stoc de izohidrafural și fluocinolon acetonid este prezentată la parametrul liniaritate.

Pregătirea probei de exactitate 80% pentru izohidrafural. Într-un balon cotat cu capacitatea de 100 ml se plasează 10 ml extract și 2 ml soluție standard stoc de izohidrafural. Se amestecă bine și se aduce la cotă cu apă purificată.

Pregătirea probei de exactitate 100% pentru izohidrafural. Într-un balon cotat cu capacitatea de 100 ml se plasează 10 ml extract și 7 ml soluție standard stoc de izohidrafural. Se amestecă bine și se aduce la cotă cu apă purificată.

Pregătirea probei de exactitate 120% pentru izohidrafural. Într-un balon cotat cu capacitatea de 100 ml se plasează 10 ml extract și 10 ml soluție standard stoc de izohidrafural. Se amestecă bine și se aduce la cotă cu apă purificată.

Pregătirea probei de exactitate 80% pentru fluocinolon acetonid. Într-un balon cotat cu capacitatea de 10 ml se plasează 2,5 ml extract și 0,8 ml soluție standard stoc de fluocinolon acetonid. Se amestecă bine și se aduce la cotă cu apă purificată.

Pregătirea probei de exactitate 100% pentru fluocinolon acetonid. Într-un balon cotat cu capacitatea de 10 ml se plasează 2,5 ml extract și 1,0 ml soluție standard stoc de fluocinolon acetonid. Se amestecă bine și se aduce la cotă cu apă purificată.

Pregătirea probei de exactitate 120% pentru fluocinolon acetonid. Într-un balon cotat cu capacitatea de 10 ml se plasează 2,5 ml extract și 1,2 ml soluție standard stoc de fluocinolon acetonid. Se amestecă bine și se aduce la cotă cu apă purificată.

S-a determinat absorbanța soluțiilor probe de exactitate ale izohidrafuralului la 363 nm și ale fluocinolonului acetonid la 241 nm. S-a aflat concentrația probelor de exactitate cu ajutorul dreptelor de etalonare și s-a calculat procentul regăsirii, folosind formula de calcul 3.3 (Tabelul 3.5).

Tabelul 3.5. Rezultatele determinării exactității metodei spectrofotometrice UV-VIS de dozare a substanțelor active din unguentul combinat cu conținut de izohidrafural și fluocinolon acetonid [133]

Nivele de concentrație	Concentrația teoretică a probei, μg/ml	Concentrația totală a probei împreună cu adaos, μg/ml	Randamentul recuperării, %
Izohidrafural			
80%	12	11,96	99,00
	12	11,97	99,25
	12	11,97	99,25
100%	15	15,01	100,14
	15	14,97	99,57
	15	14,98	99,71
120%	18	17,99	99,90
	18	18,01	100,10
	18	17,99	99,90
Media randamentului recuperării, %			99,65
Fluocinolon acetonid			
80%	13	12,982	99,78
	13	13,012	100,15
	13	12,984	99,80
100%	15	14,894	99,26
	15	15,083	100,11
	15	15,095	100,15
120%	17	16,77	98,08
	17	17,03	100,25
	17	17,23	101,92
Media randamentului recuperării, %			99,94

Metoda spectrofotometrică UV-VIS elaborată pentru dozarea izohidrafuralului și fluocinolonului acetonid din unguent este exactă, valoarea medie a randamentului recuperării fiind cuprinsă între 85,0% și 105,0%.

Precizie.

Pregătirea probei de izohidrafural. 1 ml de extract se plasează într-un balon cotate de 10 ml și se aduce la cota cu apă purificată.

Pregătirea probei de fluocinolon acetonid. 5 ml de extract se transferă într-un balon cotate de 10 ml și se aduce la cota cu apă purificată [133].

Pregătirea soluției standard de izohidrafural. 8 ml de soluție standard stoc de izohidrafural se transferă într-un balon cotate de 100 ml și se aduce la semn cu apă purificată.

Pregătirea soluției standard de fluocinolon acetonid. 10 ml de soluție standard stoc de fluocinolon acetonid se transferă într-un vas cotate cu capacitatea de 100 ml și se aduce la cota cu apă purificată [133].

Conținutul cantitativ de izohidrafural în unguentul combinat a fost calculat prin formula 3.7 și a fluocinolonului acetonid prin formula 3.8.

$$X = \frac{A_x \cdot 25 \cdot 10 \cdot m_{st} \cdot 8}{A_{st} \cdot m_{ung} \cdot 1 \cdot 100 \cdot 100} \cdot P, \quad (3.7)$$

în care:

X – conținutul cantitativ de izohidrafural în unguent, g;

A_x – absorbanta soluției probă de izohidrafural;

A_{st} – absorbanta soluției standard de izohidrafural;

m_{ung} – masa unguentului luată pentru extracție, g;

m_{st} – masa substanței standard de izohidrafural, g;

P – masa totală a unguentului, g.

$$X = \frac{A_x \cdot 25 \cdot 10 \cdot m_{st} \cdot 10}{A_{st} \cdot m_{ung} \cdot 5 \cdot 100 \cdot 100} \cdot P, \quad (3.8)$$

în care:

X – conținutul cantitativ de fluocinolon acetonid în unguent, g;

A_x – absorbanta soluției probă de fluocinolon acetonid;

A_{st} – absorbanta soluției standard de fluocinolon acetonid;

m_{ung} – masa unguentului luată pentru extracție, g;

m_{st} – masa substanței standard de fluocinolon acetonid, g;

P – masa totală a unguentului, g.

Rezultatele obținute denotă că, metodele elaborate sunt precise, valorile deviației standard relative fiind mai mici decât 2% (Tabelul A 14.13 și Tabelul A 14.14).

Robustețe. S-a cercetat prin variația cu ± 1 nm a lungimilor de undă maxime de absorbție a luminii de către izohidrafural și cu ± 2 nm de către fluocinolon acetonid. Determinările au fost efectuate în triplicat, fiind evaluate statistic (Tabelul 3.6) [133].

Tabelul 3.6. Robustețea metodei spectrofotometrice UV-VIS de dozare a izohidrafuralului și fluocinolonului acetonid din unguent [133]

Numărul determinării	Izohidrafural (8 µg/ml)			Fluocinolon acetonid (10 µg/ml)		
	Valorile absorbanței la lungimea de undă					
	362 nm	363 nm	364 nm	238 nm	240 nm	242 nm
1.	0,15741	0,15903	0,16021	0,36785	0,37702	0,37885
2.	0,15703	0,15905	0,16025	0,36745	0,37225	0,37952
3.	0,15725	0,15917	0,16015	0,36726	0,36748	0,37852
Media	0,15723	0,15908	0,16020	0,36752	0,37425	0,37896
Deviația standard	0,00019	0,00008	0,00005	0,0003	0,00248	0,00051
Deviația standard relativă, %	0,121	0,050	0,031	0,082	0,662	0,134

Rezultatele obținute denotă că metodele elaborate sunt robuste, fiind înregistrate modificări mici ale absorbantei la lungimile de undă examinate.

3.4. Analiza unguentelor combinate prin metoda HPLC

3.4.1. Analiza calitativă: identificare și puritate

Preventiv s-a petrecut extracția substanțelor active cu fază mobilă, tehnicile de lucru fiind expuse la compartimentele de analiză cantitativă. S-au cercetat diferite faze mobile: amestecuri metanol:apă purificată și acetonitril:apă purificată în diferite raporturi. Pentru unguentele combinate IHF+MTU și IHF+MTU+BNZ, faza mobilă metanol:apă purificată în raportul 25:75 a satisfăcut toate cerințele pentru controlul calității, iar pentru unguentul IHF+FLAc – acetonitril:apă purificată în raportul 40:60 (Fig. A 15.1, Fig. A 15.2 și Fig. A 15.3).

Înainte de efectuarea analizei coloana cromatografică se echilibrează cu faza mobilă.

Câte 10 μ l soluție standard se injectează în cromatograf, înregistrând cel puțin 5 cromatograme în condițiile descrise mai sus. Apoi în aceleași condiții se înregistrează 2-3 cromatograme ale soluției probă.

Sistemul cromatografic se consideră util pentru analiza izohidrafuralului și metiluracilului din unguentul combinat, dacă se îndeplinesc următoarele cerințe:

- a. pe cromatograme se regăsesc picurile corespunzătoare izohidrafuralului și metiluracilului (Fig. A 15.1);
- b. rezoluția dintre picurile de metiluracil și izohidrafural trebuie să fie cel puțin 2,0;
- c. eficiența sistemului cromatografic, calculată pentru picurile de izohidrafural și metiluracil trebuie să fie cel puțin 2000 talere teoretice;
- d. factorul de asimetrie pentru picurile de izohidrafural și metiluracil, calculat la 0,05 de înălțime, trebuie să se afle în intervalul 0,8 – 1,5;
- e. coeficientul de variație al ariei picurilor de izohidrafural și metiluracil pe cromatogramele soluțiilor standard trebuie să fie cel mult 2,5%.

Sistemul cromatografic se consideră util pentru analiza izohidrafuralului, metiluracilului și benzocainei din unguentul combinat, dacă se îndeplinesc următoarele cerințe:

- a. pe cromatograme se regăsesc picurile corespunzătoare izohidrafuralului, metiluracilului și benzocainei (Fig. A 15.2);
- b. rezoluția dintre picurile de metiluracil și izohidrafural și dintre picurile de izohidrafural și benzocaină trebuie să fie cel puțin 2,0;
- c. eficiența sistemului cromatografic, calculată pentru picurile de izohidrafural, metiluracil și benzocaină trebuie să fie cel puțin 2000 talere teoretice;

- d. factorul de asimetrie pentru picurile de izohidrafural și metiluracil, calculat la 0,05 de înălțime, trebuie să se afle în intervalul 0,8 – 1,5;
- e. coeficientul de variație al ariei picurilor de izohidrafural, metiluracil și benzocaină pe cromatogramele soluțiilor standard trebuie să fie cel mult 2,5%.

Sistemul cromatografic se consideră util pentru analiza izohidrafuralului și fluocinolonului acetonid din unguentul combinat, dacă se îndeplinesc următoarele cerințe:

- a. pe cromatograme se regăsesc picurile corespunzătoare izohidrafuralului și fluocinolonului acetonid (Fig. A 15.3);
- b. rezoluția dintre picurile de izohidrafural și fluocinolon acetonid trebuie să fie cel puțin 3,0;
- c. eficiența sistemului cromatografic, calculată pentru picurile de izohidrafural și fluocinolon acetonid trebuie să fie cel puțin 2000 talere teoretice;
- d. factorul de asimetrie pentru picurile de izohidrafural și fluocinolon acetonid, calculat la 0,05 de înălțime, trebuie să se afle în intervalul 0,8 – 1,5;
- e. coeficientul de variație al ariei picurilor de izohidrafural și fluocinolon acetonid pe cromatogramele soluțiilor standard trebuie să fie cel mult 2,5%.

3.4.2. Analiza cantitativă

- **Validarea metodei HPLC de dozare a izohidrafuralului și metiluracilului din unguentul combinat**

Liniaritate. S-a cercetat liniaritatea metodei HPLC de dozare a izohidrafuralului și metiluracilului pe domeniile de concentrație 8-12 µg/ml și 320-480 µg/ml. Astfel, inițial s-au preparat soluțiile standard stoc de izohidrafural 100 µg/ml și metiluracil 100 µg/ml.

Pregătirea soluției standard stoc de izohidrafural: 0,01 g (masă exactă) standard de lucru de izohidrafural se transferă într-un balon cotat de 100 ml. Se adăugă aproximativ 30 ml de fază mobilă și se agită până la dizolvare. Apoi se aduce până la cotă cu fază mobilă.

Din soluția standard stoc de izohidrafural s-a preparat, prin diluție, utilizând ca solvent faza mobilă, 5 probe cu concentrațiile 8, 9, 10, 11 și 12 µg/ml. Acestea au fost injectate în cromatograf, fiind obținute cromatogramele și ariile picurilor. Determinările au fost efectuate în triplicat.

Pregătirea soluției standard stoc de metiluracil: 0,4 g (masă exactă) standard de metiluracil se transferă într-un balon cotat de 100 ml. Se adăugă aproximativ 30 ml de fază mobilă și se agită până la dizolvare. Apoi se aduce până la cotă cu fază mobilă.

Din soluția standard stoc de metiluracil s-a preparat, prin diluție, utilizând ca solvent faza mobilă, 5 probe cu concentrațiile 320, 360, 400, 440 și 480 µg/ml. Acestea au fost injectate în

cromatograf, fiind obținute cromatogramele și ariile picurilor. Determinările au fost efectuate în triplicat.

Ecuțiile regresiei liniare au fost calculate prin metoda celor mai mici pătrate (Tabelul A 15.1 și Tabelul A 15.2). Acestea au fost confirmate și prin opțiunea Trendline Excel, fiind trasate câte 3 curbe de etalonare ale celor 3 determinări pentru fiecare substanță medicamentoasă (Fig. 3.4).

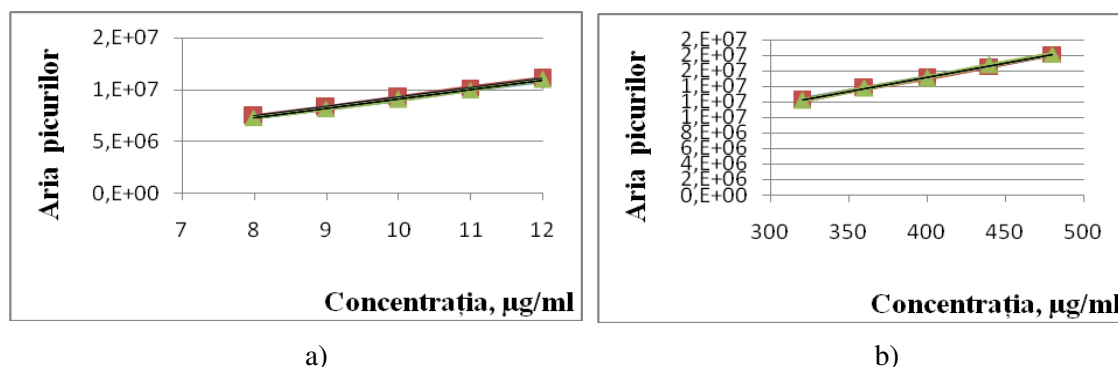


Fig. 3.4. Curbele de etalonare ale soluțiilor standard de izohidrafural (a) și metiluracil (b)

Valorile parametrilor de liniaritate pentru dozarea substanțelor active din unguent prin metoda HPLC sunt redate în Tabelul A 15.3.

Ecuția regresiei lineare pentru dozarea izohidrafuralului este: $y = 911391,3x + 134037,2$ și pentru dozarea metiluracilului este: $y = 36614,9x + 528765,9$.

Limita de detecție. Valorile limitelor de detecție pentru izohidrafural este de 0,0749 µg/ml și pentru metiluracil este de 14,6415 µg/ml (formula 3.1).

Limita de cuantificare. Valorile limitelor de cuantificare calculate pentru izohidrafural este de 0,227 µg/ml și pentru metiluracil este de 44,368 µg/ml (formula 3.2).

Selectivitate. Pentru a verifica dacă metoda este selectivă, s-a utilizat proba placebo.

Pregătirea probei placebo. Circa 1,0 g (masă exactă) placebo se transferă într-o ceașcă de porțelan, la care se adaugă 10 ml de fază mobilă și se încălzește la 30°C până la topire. Proba obținută se răcește, se filtrează prin filtru cu membrană (0,45 µm) și se transferă într-un balon cotat de 50 ml. Extracția se repetă de două ori cu câte 15 ml fază mobilă. Probele obținute se unesc cu prima extracție și se aduce la cotă cu fază mobilă. 5 ml din soluția obținută se trec într-un balon cotat cu capacitatea de 10 ml și se completează până la cotă cu fază mobilă.

Pregătirea soluției standard de izohidrafural. 1 ml de soluție standard stoc de izohidrafural, preparată după tehnica de lucru de la parametrul liniaritate, se transferă într-un balon cotat de 10 ml și se aduce la semn cu fază mobilă.

Pregătirea soluției standard de metiluracil. 1 ml de soluție standard stoc de metiluracil, tehnica de preparare fiind redată la parametrul liniaritate, se transferă într-un balon cotat de 10 ml și se aduce la cotă cu fază mobilă.

Proba placebo și soluțiile standard ale substanțelor active au fost cromatografiate. Soluția placebo nu a prezentat picuri specifice pentru metiluracil și izohidrafural, ceea ce demonstrează selectivitatea metodei elaborate.

Exactitate. Tehnica de pregătire a soluțiilor standard stoc de izohidrafural și metiluracil este prezentată la parametrul liniaritate.

Prepararea soluției probă: Circa 1,0 g (masă exactă) de unguent se transferă într-o ceașcă de porțelan, la care se adaugă 10 ml fază mobilă și se încălzește la 30°C până la topirea unguentului. Proba se răcește la temperatura camerei și se filtrează prin filtru de membrană (0,45 μm). Filtratul se transferă într-un balon cotat de 50 ml. Extracția se repetă de două ori cu câte 15 ml fază mobilă. Probele obținute se adaugă la prima extracție și se completează până la marcaj cu fază mobilă.

Pregătirea probei de exactitate 80% pentru izohidrafural. Într-un balon cotat cu capacitatea de 10 ml se plasează 2,5 ml soluție probă și 0,3 ml soluție standard stoc de izohidrafural. Se amestecă bine și se aduce la cotă cu fază mobilă.

Pregătirea probei de exactitate 100% pentru izohidrafural. Într-un balon cotat cu capacitatea de 10 ml se plasează 2,5 ml soluție probă și 0,5 ml soluție standard stoc de izohidrafural. Se amestecă bine și se aduce la cotă cu fază mobilă.

Pregătirea probei de exactitate 120% pentru izohidrafural. Într-un balon cotat cu capacitatea de 10 ml se plasează 2,5 ml soluție probă și 0,7 ml soluție standard stoc de izohidrafural. Se amestecă bine și se aduce la cotă cu fază mobilă.

Pregătirea probei de exactitate 80% pentru metiluracil. Într-un balon cotat cu capacitatea de 10 ml se plasează 2,5 ml soluție probă și 3,0 ml soluție standard stoc de metiluracil. Se amestecă bine și se aduce la cotă cu fază mobilă.

Pregătirea probei de exactitate 100% pentru metiluracil. Într-un balon cotat cu capacitatea de 10 ml se plasează 2,5 ml soluție probă și 5,0 ml soluție standard stoc de metiluracil. Se amestecă bine și se aduce la cotă cu fază mobilă.

Pregătirea probei de exactitate 120% pentru metiluracil. Într-un balon cotat cu capacitatea de 10 ml se plasează 2,5 ml soluție probă și 7,0 ml soluție standard stoc de metiluracil. Se amestecă bine și se aduce la cotă cu fază mobilă.

Toate determinările au fost efectuate în triplicat. S-a determinat concentrația probelor de exactitate cu ajutorul dreptei de etalonare. Apoi s-a calculat procentul regăsirii, folosind formula de calcul 3.3 (Tabelul 3.7).

Tabelul 3.7. Rezultatele determinării exactității metodei HPLC de dozare a izohidrafuralului din unguentul combinat cu conținut de izohidrafural și metiluracil

Nivele de concentrație	Concentrația teoretică a probei, μg/ml	Concentrația totală a probei împreună cu adaos, μg/ml	Randamentul recuperării, %
Izohidrafural			
80%	8	7,98	99,33
	8	7,97	99,00
	8	7,98	99,33
100%	10	9,98	99,60
	10	9,99	99,80
	10	9,98	99,60
120%	12	11,99	99,86
	12	12,02	100,29
	12	11,99	99,86
Media randamentului recuperării, %			99,63
Metiluracil			
80%	320	319,87	99,89
	320	318,85	99,04
	320	319,74	99,78
100%	400	397,55	98,78
	400	398,18	99,09
	400	398,36	99,18
120%	480	478,98	99,63
	480	479,02	99,65
	480	478,99	99,64
Media randamentului recuperării, %			99,41

Metoda HPLC elaborată pentru dozarea izohidrafuralului și metiluracilului din unguent este exactă, valoarea medie a randamentului recuperării fiind cuprins între 85,0% și 105,0% [124].

Precizie. Modul de preparare a soluției probă este expusă la parametrul Exactitate. Pregătirea soluției de analizat: 5 ml de soluție probă se transferă într-un balon cotat de 10 ml și se aduce la cotă cu fază mobilă. Tehnicile de pregătire a soluțiilor standard de izohidrafural și metiluracil sunt redactate la parametrii liniaritate și exactitate. Conținutul cantitativ de izohidrafural în unguentul combinat a fost calculat prin formula 3.9 și a fluocinolonului acetonid prin formula 3.10.

$$X = \frac{A_x \cdot 50 \cdot 10 \cdot m_{st}}{A_{st} \cdot m_{ung} \cdot 5 \cdot 100 \cdot 10} \cdot P, \quad (3.9)$$

în care:

X – conținutul cantitativ de izohidrafural în unguent, g;

A_x – aria picului izohidrafuralului din cromatograma soluției probă;

A_{st} – aria picului izohidrafuralului din cromatograma soluției standard;

m_{ung} – masa unguentului luată pentru analiză, g;

m_{st} – masa substanței standard de izohidrafural, g;

P – masa totală a unguentului, g.

$$X = \frac{A_x \cdot 50 \cdot 10 \cdot m_{st}}{A_{st} \cdot m_{ung} \cdot 5 \cdot 100 \cdot 10} \cdot P, \quad (3.10)$$

în care:

X – conținutul cantitativ de metiluracil în unguent, g;

A_x – aria picului metiluracilului din cromatograma soluției probă;

A_{st} – aria picului metiluracilului din cromatograma soluției standard;

m_{ung} – masa unguentului luată pentru analiză, g;

m_{st} – masa substanței standard de metiluracil, g;

P – masa totală a unguentului, g.

Rezultatele obținute denotă că, metoda elaborată este precisă, valorile deviației standard relative fiind mai mici decât 2% (Tabelul A 15.4 și Tabelul A 15.5).

Robustețe. S-a determinat prin variația următoarelor condiții de cromatografiere: debitul fazei mobile cu ± 1 ml/min, cantitatea de metanol în faza mobilă cu $\pm 2\%$ și temperatura coloanei cu $\pm 5^\circ\text{C}$ [124]. Rezultatele obținute denotă că, metoda HPLC elaborată este robustă, deviația standard relativă fiind mai mică decât 2,0% pentru ambele substanțe medicamentoase (Tabelul 3.8).

Tabelul 3.8. Rezultatele determinării robusteței metodei HPLC de dozare a izohidrafuralului și a metiluracilului din unguentul combinat

Condiții de cromatografiere	Izohidrafural		Metiluracil	
	Timp de retenție, minute	Concentrația, g	Timp de retenție, minute	Concentrația, g
Debitul fazei mobile 0,9 ml/min	17,712	0,09738	1,485	3,84513
Debitul fazei mobile 1,1 ml/min	17,702	0,09578	1,511	3,88190
Raportul metanol:apă purificată 25,5:74,5	17,114	0,09881	1,546	3,94355
Raportul metanol:apă purificată 24,5:75,5	17,187	0,09843	1,525	3,96210
Temperatura coloanei 25°C	17,014	0,09791	1,502	3,96047
Temperatura coloanei 35°C	17,011	0,09744	1,510	3,97942
Media		0,09763		3,92876
Deviația standard relativă, %		1,087		1,351

- **Validarea metodei HPLC de dozare a izohidrafuralului, metiluracilului și benzocainei din unguentul combinat**

Liniaritate. A fost stabilită liniaritatea metodei pe următoarele domenii de concentrație: 8-12 $\mu\text{g/ml}$ pentru izohidrafural, 320-480 $\mu\text{g/ml}$ pentru metiluracil și 80-120 $\mu\text{g/ml}$ pentru benzocaină. Tehnicile de lucru de pregătire a soluțiilor standard stoc de izohidrafural și metiluracil sunt similare unguentului combinat IHF și MTU, fiind expuse la compartimentul liniaritate.

Pregătirea soluției standard stoc de benzocaină: 0,1 g (masă exactă) substanță standard de benzocaină se transferă într-un balon cotat de 100 ml. Se adăugă aproximativ 30 ml de fază mobilă și se agită până la dizolvare. Apoi se aduce până la cotă cu fază mobilă.

Din soluția standard stoc de benzocaină s-a preparat, prin diluție, utilizând ca solvent faza mobilă, 5 probe cu concentrațiile 80, 90, 100, 110 și 120 $\mu\text{g/ml}$. Acestea au fost injectate în cromatograf, fiind obținute cromatogramele și ariile picurilor. Determinările au fost efectuate în triplicat.

Ecuatiile regresiei liniare au fost calculate prin metoda celor mai mici pătrate (Tabelul A 15.8, Tabelul A 15.9 și Tabelul A 15.10). Acestea au fost confirmate și prin opțiunea Trendline Excel, fiind trasate câte 3 curbe de etalonare pentru fiecare substanță medicamentoasă (Fig. 3.5).

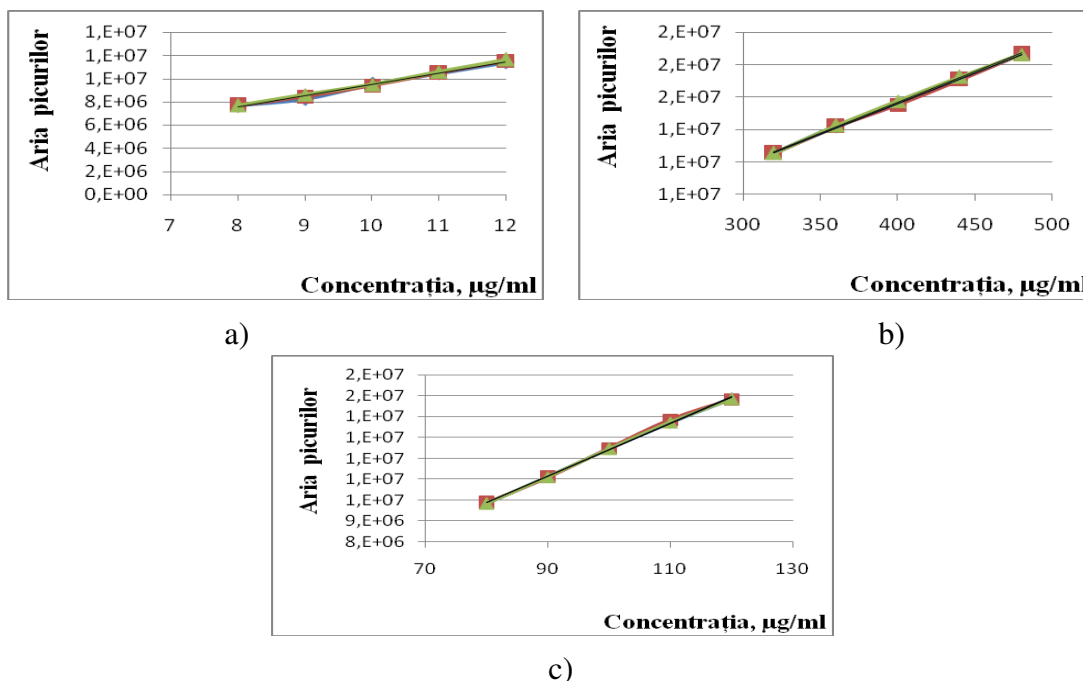


Fig. 3.5. Curbele de etalonare ale soluțiilor standard de izohidrafural (a), metiluracil (b) și benzocaină (c)

Valorile parametrilor de liniaritate pentru dozarea substanțelor active din unguent prin metoda HPLC sunt redată în Tabelul A 15.11.

Ecuția regresiei lineare pentru dozarea izohidrafuralului este: $y = 976609,9x - 232442,6$, pentru dozarea metiluracilului: $y = 37867,6x + 491162,3$ și pentru dozarea benzocainei: $y = 126287,1x - 226146,4$.

Limita de detecție. Valorile limitelor de detecție pentru izohidrafural este de 0,0032 μg/ml, pentru metiluracil este 0,316 μg/ml și pentru benzocaină este 0,0107 μg/ml (formula 3.1).

Limita de cuantificare. Valorile limitelor de cuantificare calculate pentru izohidrafural este de 0,0096 μg/ml, pentru metiluracil este 0,957 μg/ml și pentru benzocaină este 0,0325 μg/ml (formula 3.2).

Selectivitate. Pentru a verifica dacă metoda este selectivă, s-a utilizat proba placebo.

Pregătirea probei placebo. Circa 1,0 g (masă exactă) placebo se transferă într-o ceașcă de porțelan, la care se adaugă 10 ml de fază mobilă și se încălzește la 30°C până la topire. Proba obținută se răcește, se filtrează prin filtru cu membrană (0,45 μm) și se transferă într-un balon cotat de 50 ml. Extracția se repetă de două ori cu câte 15 ml fază mobilă. Probele obținute se unesc cu prima extracție și se aduce la cotă cu fază mobilă. 5 ml din soluția obținută se trec într-un balon cotat cu capacitatea de 10 ml și se completează până la cotă cu fază mobilă.

Pregătirea soluției standard de izohidrafural. 1 ml de soluție standard stoc de izohidrafural, preparată după tehnica de lucru de la parametrul liniaritate pentru unguentul combinat IHF și MTU, se transferă într-un balon cotat de 10 ml și se aduce la semn cu fază mobilă.

Pregătirea soluției standard de metiluracil. 1 ml de soluție standard stoc de metiluracil, tehnica de preparare fiind redată la parametrul liniaritate pentru unguentul combinat IHF și MTU, se transferă într-un balon cotat de 10 ml și se aduce la cotă cu fază mobilă.

Pregătirea soluției standard de benzocaină. 1 ml de soluție standard stoc de benzocaină, tehnica de preparare fiind redată la parametrul liniaritate, se transferă într-un balon cotat de 10 ml și se aduce la cotă cu fază mobilă.

Proba placebo și soluțiile standard ale substanțelor active au fost cromatografiate. Soluția placebo nu a prezentat picuri specifice pentru izohidrafural, metiluracil și benzocaină, ceea ce demonstrează selectivitatea metodei elaborate.

Exactitate. *Prepararea soluției probă:* Circa 1,0 g (masă exactă) de unguent se transferă într-o ceașcă de porțelan, la care se adaugă 10 ml fază mobilă și se încălzește la 30°C până la topirea unguentului. Proba se răcește la temperatura camerei și se filtrează prin filtru de membrană (0,45 μm). Filtratul se transferă într-un balon cotat de 50 ml. Extracția se repetă de

două ori cu câte 15 ml fază mobilă. Probele obținute se adaugă la prima extracție și se completează până la marcaj cu fază mobilă.

Pregătirea probei de exactitate 80% pentru izohidrafural. Într-un balon cotat cu capacitatea de 10 ml se plasează 2,5 ml soluție probă și 0,3 ml soluție standard stoc de izohidrafural. Se amestecă bine și se aduce la cotă cu fază mobilă.

Pregătirea probei de exactitate 100% pentru izohidrafural. Într-un balon cotat cu capacitatea de 10 ml se plasează 2,5 ml soluție probă și 0,5 ml soluție standard stoc de izohidrafural. Se amestecă bine și se aduce la cotă cu fază mobilă.

Pregătirea probei de exactitate 120% pentru izohidrafural. Într-un balon cotat cu capacitatea de 10 ml se plasează 2,5 ml soluție probă și 0,7 ml soluție standard stoc de izohidrafural. Se amestecă bine și se aduce la cotă cu fază mobilă.

Pregătirea probei de exactitate 80% pentru metiluracil. Într-un balon cotat cu capacitatea de 10 ml se plasează 2,5 ml soluție probă și 0,3 ml soluție standard stoc de metiluracil. Se amestecă bine și se aduce la cotă cu fază mobilă.

Pregătirea probei de exactitate 100% pentru metiluracil. Într-un balon cotat cu capacitatea de 10 ml se plasează 2,5 ml soluție probă și 0,5 ml soluție standard stoc de metiluracil. Se amestecă bine și se aduce la cotă cu fază mobilă.

Pregătirea probei de exactitate 120% pentru metiluracil. Într-un balon cotat cu capacitatea de 10 ml se plasează 2,5 ml soluție probă și 0,7 ml soluție standard stoc de metiluracil. Se amestecă bine și se aduce la cotă cu fază mobilă.

Pregătirea probei de exactitate 80% pentru benzocaină. Într-un balon cotat cu capacitatea de 10 ml se plasează 2,5 ml soluție probă și 0,3 ml soluție standard stoc de benzocaină. Se amestecă bine și se aduce la cotă cu fază mobilă.

Pregătirea probei de exactitate 100% pentru benzocaină. Într-un balon cotat cu capacitatea de 10 ml se plasează 2,5 ml soluție probă și 0,5 ml soluție standard stoc de benzocaină. Se amestecă bine și se aduce la cotă cu fază mobilă.

Pregătirea probei de exactitate 120% pentru benzocaină. Într-un balon cotat cu capacitatea de 10 ml se plasează 2,5 ml soluție probă și 0,7 ml soluție standard stoc de benzocaină. Se amestecă bine și se aduce la cotă cu fază mobilă.

Toate determinările au fost efectuate în triplicat. S-a determinat concentrația probelor de exactitate cu ajutorul dreptei de etalonare. Apoi s-a calculat procentul regăsirii, folosind formula de calcul 3.3.

Metoda HPLC elaborată pentru dozarea izohidrafuralului, metiluracilului și benzocainei din unguent este exactă, valoarea medie a randamentului recuperării fiind cuprins între 85,0% și 105,0% (Tabelul 3.9) [124].

Tabelul 3.9. Rezultatele determinării exactității metodei HPLC de dozare a substanțelor active din unguentul combinat cu conținut de izohidrafural, metiluracil și benzocaină

Nivele de concentrație	Concentrația teoretică a probei, µg/ml	Concentrația totală a probei împreună cu adaos, µg/ml	Randamentul recuperării, %
Izohidrafural			
80%	8	7,97	99,00
	8	7,95	98,33
	8	7,96	98,67
100%	10	9,89	97,80
	10	9,95	99,00
	10	9,98	99,60
120%	12	11,97	99,57
	12	11,98	99,71
	12	11,97	99,57
Media randamentului recuperării, %			99,03
Metiluracil			
80%	320	318,98	99,15
	320	318,94	99,12
	320	318,97	99,14
100%	400	398,95	99,48
	400	398,94	99,47
	400	398,93	99,47
120%	480	479,14	99,69
	480	479,26	99,74
	480	479,16	99,70
Media randamentului recuperării, %			99,44
Benzocaină			
80%	80	79,88	99,60
	80	79,76	99,20
	80	79,82	99,40
100%	100	99,87	99,74
	100	99,84	99,68
	100	99,88	99,76
120%	120	119,84	99,77
	120	119,86	99,80
	120	119,88	99,83
Media randamentului recuperării, %			99,64

Precizie. Modul de preparare a soluției probă este expusă la parametrul exactitate. Pregătirea soluției de analizat: 5 ml de soluție probă se transferă într-un balon cotat de 10 ml și se aduce la cotă cu fază mobilă.

Conținutul cantitativ de izohidrafural, metiluracil și benzocaină în unguentul combinat a fost calculat prin formula 3.11.

$$X = \frac{A_x \cdot 50 \cdot 10 \cdot m_{st}}{A_{st} \cdot m_{ung} \cdot 5 \cdot 100 \cdot 10} \cdot P \quad (3.11)$$

în care:

X – conținutul cantitativ al substanței active în unguent, g;

A_x – aria picului substanței medicamentoase din cromatograma soluției probă;

A_{st} – aria picului substanței medicamentoase din cromatograma soluției standard;

m_{ung} – masa unguentului luată pentru analiză, g;

m_{st} – masa substanței standard, g;

P – masa totală a unguentului, g.

Rezultatele obținute denotă că, metoda elaborată este precisă la dozarea izohidrafuralului (Tabelul A 15.12, Tabelul A 15.13), metiluracilului (Tabelul A 15.14, Tabelul A 15.15) și benzocainei (Tabelul A 15.16, Tabelul A 15.17) din unguent, valorile deviației standard relative fiind mai mici decât 2%.

Robustețe. S-a determinat prin variația următoarelor condiții de cromatografiere: debitul fazei mobile cu ± 1 ml/min, cantitatea de metanol în faza mobilă cu $\pm 2\%$ și temperatura coloanei cu $\pm 5^\circ\text{C}$ (Tabelul 3.10) [124].

Tabelul 3.10. Rezultatele determinării robusteței metodei HPLC de dozare a substanțelor active din unguentul combinat cu conținut de izohidrafural, metiluracil și benzocaină

Condiții de cromatografiere	Izohidrafural		Metiluracil		Benzocaină	
	Timp de retenție, minute	Concentrația, g	Timp de retenție, minute	Concentrația, g	Timp de retenție, minute	Concentrația, g
Debitul fazei mobile 0,9 ml/min	17,311	0,09701	1,486	3,73129	4,185	0,90577
Debitul fazei mobile 1,1 ml/min	17,687	0,09640	1,512	3,72784	4,511	0,92176
Raportul metanol:apă purificată 25,5:74,5	17,105	0,09425	1,544	3,68038	4,546	0,91776
Raportul metanol:apă purificată 24,5:75,5	17,179	0,09421	1,523	3,66262	4,525	0,90620
Temperatura coloanei 25°C	17,015	0,09342	1,504	3,71115	4,502	0,91390
Temperatura coloanei 35°C	17,017	0,09700	1,518	3,77512	4,510	0,91768
Media		0,09538		3,71473		0,91384
Deviația standard relativă, %		1,679		1,077		0,720

Rezultatele obținute denotă că, metoda HPLC elaborată este robustă, deviația standard relativă fiind mai mică decât 2,0% (Tabelul 3.10).

- **Validarea metodei HPLC de dozare a izohidrafuralului și fluocinolonului acetonid din unguentul combinat**

Liniaritate. Liniaritatea metodei HPLC de dozare a fost determinată pe domeniile de concentrație 60-140 $\mu\text{g/ml}$ a izohidrafuralului și 15-35 $\mu\text{g/ml}$ a fluocinolonului acetonid.

Pregătirea soluției standard stoc de izohidrafural: 0,05 g (masă exactă) standard de lucru de izohidrafural se transferă într-un balon cotate cu capacitatea de 50 ml. Se adaugă 20 ml de fază mobilă și se agită până la dizolvare. Apoi se aduce la cota cu fază mobilă.

Din soluția standard stoc de izohidrafural s-a preparat, prin diluție, utilizând ca solvent faza mobilă, 5 probe cu concentrațiile 60, 80, 100, 120 și 140 $\mu\text{g/ml}$. Acestea au fost injectate în cromatograf, fiind obținute cromatogramele și ariile picurilor. Determinările au fost efectuate în triplicat.

Pregătirea soluției standard stoc de fluocinolon acetonid: 0,05 g (masă exactă) standard de fluocinolon acetonid se transferă într-un balon cotate de 100 ml. Se adaugă aproximativ 30 ml de fază mobilă și se agită până la dizolvare. Apoi se aduce până la cota cu fază mobilă.

Din soluția standard stoc de fluocinolon acetonid s-a preparat, prin diluție, utilizând ca solvent faza mobilă, 5 probe cu concentrațiile 15, 20, 25, 30 și 35 $\mu\text{g/ml}$. Acestea au fost injectate în cromatograf, fiind obținute cromatogramele și ariile picurilor. Determinările au fost efectuate în triplicat.

Ecuatiile regresiei liniare au fost calculate prin metoda celor mai mici pătrate (Tabelul A 15.18 și Tabelul A 15.19). Acestea au fost confirmate și prin opțiunea Trendline Excel, fiind trasate câte 3 curbe de etalonare ale celor 3 determinări pentru fiecare substanță medicamentoasă (Fig. 3.6).

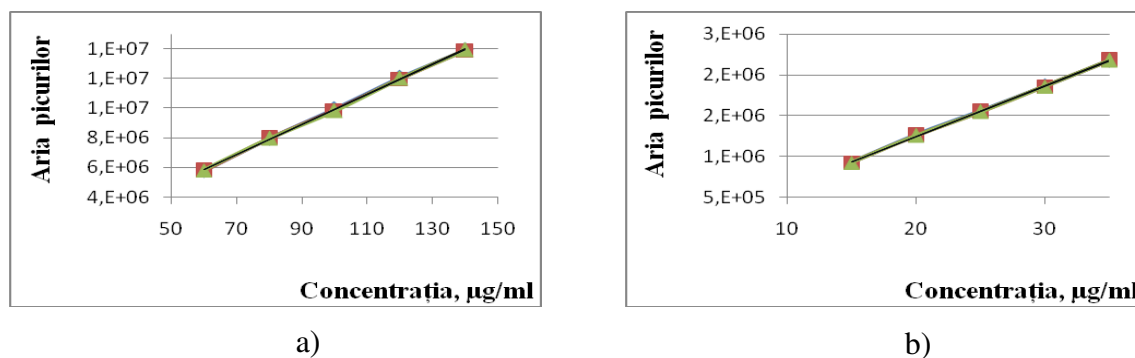


Fig. 3.6. Curbele de etalonare ale soluțiilor standard de izohidrafural (a) și fluocinolon acetonid (b)

Valorile parametrilor de liniaritate pentru dozarea substanțelor active din unguent prin metoda HPLC sunt redate în Tabelul A 15.20.

Ecuția regresiei liniare pentru dozarea izohidrafuralului este: $y = 101634,2x - 245000,03$ și pentru dozarea fluocinolonului acetonid este: $y = 62068,4x + 2573,61$.

Limita de detecție. Valorile limitelor de detecție pentru izohidrafural este de 0,086 $\mu\text{g/ml}$ și pentru fluocinolon acetonid este de 0,00063 $\mu\text{g/ml}$ (formula 3.1).

Limita de cuantificare. Valorile limitelor de cuantificare calculate pentru izohidrafural este de 0,260 $\mu\text{g/ml}$ și pentru fluocinolon acetonid este de 0,0019 $\mu\text{g/ml}$ (formula 3.2).

Selectivitate.

Pregătirea probei placebo. Circa 2,5 g (masă exactă) placebo se transferă într-o ceașcă de porțelan, la care se adaugă 10 ml de fază mobilă și se încălzește la 30°C până la topire. Proba obținută se răcește, se filtrează prin filtru cu membrană (0,45 μm) și se transferă într-un balon cotat de 25 ml. Extracția se repetă de două ori cu câte 5 ml fază mobilă. Probele obținute se unesc cu prima extracție și se aduce la cotă cu fază mobilă.

Pregătirea soluției standard de izohidrafural. 1 ml de soluție standard stoc de izohidrafural, preparată după tehnica de lucru de la parametrul liniaritate, se transferă într-un balon cotat de 10 ml și se aduce la semn cu fază mobilă.

Pregătirea soluției standard de fluocinolon acetonid. 0,5 ml de soluție standard stoc de fluocinolon acetonid, tehnica de preparare fiind redată la parametrul liniaritate, se transferă într-un balon cotat de 10 ml și se aduce la cotă cu fază mobilă.

Proba placebo și soluțiile standard ale substanțelor active au fost cromatografiate. Soluția placebo nu a prezentat picuri specifice pentru metiluracil și fluocinolon acetonid, ceea ce demonstrează selectivitatea metodei elaborate.

Exactitate. Tehnicile de pregătire a soluțiilor standard stoc de izohidrafural și fluocinolon acetonid sunt prezentate la parametrul liniaritate.

Prepararea soluției probă: Circa 2,5 g (masă exactă) de unguent se transferă într-o ceașcă de porțelan, la care se adaugă 10 ml fază mobilă și se încălzește la 30°C până la topirea unguentului. Proba se răcește la temperatura camerei și se filtrează prin filtru de membrană (0,45 μm). Filtratul se transferă într-un balon cotat de 25 ml. Extracția se repetă de două ori cu câte 5 ml fază mobilă. Probele obținute se adaugă la prima extracție și se completează până la marcaj cu fază mobilă.

Pregătirea probei de exactitate 80% pentru izohidrafural. Într-un balon cotat cu capacitatea de 10 ml se plasează 2 ml soluție probă și 0,8 ml soluție standard stoc de izohidrafural. Se amestecă bine și se aduce la cotă cu fază mobilă.

Pregătirea probei de exactitate 100% pentru izohidrafural. Într-un balon cotate cu capacitatea de 10 ml se plasează 2 ml soluție probă și 1 ml soluție standard stoc de izohidrafural. Se amestecă bine și se aduce la cotă cu fază mobilă.

Pregătirea probei de exactitate 120% pentru izohidrafural. Într-un balon cotate cu capacitatea de 10 ml se plasează 2 ml soluție probă și 1,2 ml soluție standard stoc de izohidrafural. Se amestecă bine și se aduce la cotă cu fază mobilă.

Pregătirea probei de exactitate 80% pentru fluocinolon acetamid. Într-un balon cotate cu capacitatea de 10 ml se plasează 4 ml soluție probă și 0,2 ml soluție standard stoc de fluocinolon acetamid. Se amestecă bine și se aduce la cotă cu fază mobilă.

Pregătirea probei de exactitate 100% pentru fluocinolon acetamid. Într-un balon cotate cu capacitatea de 10 ml se plasează 4 ml soluție probă și 0,3 ml soluție standard stoc de fluocinolon acetamid. Se amestecă bine și se aduce la cotă cu fază mobilă.

Pregătirea probei de exactitate 120% pentru fluocinolon acetamid. Într-un balon cotate cu capacitatea de 10 ml se plasează 4 ml soluție probă și 0,4 ml soluție standard stoc de fluocinolon acetamid. Se amestecă bine și se aduce la cotă cu fază mobilă.

Toate determinările au fost efectuate în triplicat (Tabelul 3.11).

Tabelul 3.11. Rezultatele determinării exactității metodei HPLC de dozare a substanțelor active din unguentul combinat cu conținut de izohidrafural și fluocinolon acetamid

Nivele de concentrație	Concentrația teoretică a probei, µg/ml	Concentrația totală a probei împreună cu adaos, µg/ml	Randamentul recuperării, %
Izohidrafural			
80%	80	80,27	100,45
	80	79,69	99,48
	80	78,86	98,10
100%	100	99,98	99,98
	100	98,95	98,69
	100	99,12	98,90
120%	120	120,14	100,14
	120	119,94	99,94
	120	119,75	99,75
Media randamentului recuperării, %			99,49
Fluocinolon acetamid			
80%	20	19,97	99,70
	20	19,89	98,90
	20	20,08	100,80
100%	25	24,98	99,87
	25	24,95	99,67
	25	25,12	100,80
120%	30	30,02	100,10
	30	29,89	99,45
	30	29,78	98,90
Media randamentului recuperării, %			99,80

S-a aflat concentrația probelor de exactitate cu ajutorul dreptei de etalonare. S-a calculat procentul regăsirii, folosind formula de calcul 3.3. Metoda HPLC elaborată pentru dozarea izohidrafuralului și fluocinolonului acetonid din unguent este exactă, valoarea medie a randamentului recuperării fiind cuprins între 85,0% și 105,0% (Tabelul 3.11) [124, 134].

Precizie. Tehnica de preparare a soluției probă este expusă la parametrul exactitate. Metodica preparării soluțiilor standard de izohidrafural și fluocinolon acetonid este redată la cercetarea parametrilor de liniaritate și exactitate.

Conținutul cantitativ de izohidrafural în unguentul combinat a fost calculat prin formula 3.12 și a fluocinolonului acetonid prin formula 3.13.

$$X = \frac{A_x \cdot 25 \cdot m_{st}}{A_{st} \cdot m_{ung} \cdot 50 \cdot 10} \cdot P, \quad (3.12)$$

în care:

X – conținutul cantitativ de izohidrafural în unguent, g;

A_x – aria picului izohidrafuralului din cromatograma soluției probă;

A_{st} – aria picului izohidrafuralului din cromatograma soluției standard;

m_{ung} – masa unguentului luată pentru analiză, g;

m_{st} – masa substanței standard de izohidrafural, g;

P – masa totală a unguentului, g.

$$X = \frac{A_x \cdot 25 \cdot m_{st} \cdot 0,5}{A_{st} \cdot m_{ung} \cdot 100 \cdot 10} \cdot P, \quad (3.13)$$

în care:

X – conținutul cantitativ de fluocinolon acetonid în unguent, g;

A_x – aria picului fluocinolonului acetonid din cromatograma soluției probă;

A_{st} – aria picului fluocinolonului acetonid din cromatograma soluției standard;

m_{ung} – masa unguentului luată pentru analiză, g;

m_{st} – masa substanței standard de fluocinolon acetonid, g;

P – masa totală a unguentului, g.

Rezultatele obținute denotă că, metoda elaborată este precisă pentru dozarea izohidrafuralului (Tabelul A 15.21 și Tabelul A 15.22) și fluocinolonului acetonid (Tabelul A 15.23 și Tabelul A 15.24), valorile deviației standard relative fiind mai mici decât 2%.

Robustețe. S-a determinat prin variația următoarelor condiții de cromatografiere: debitul fazei mobile cu $\pm 0,1$ ml/min, cantitatea de acetonitril în faza mobilă cu $\pm 2\%$ și temperatura coloanei cu $\pm 5^\circ\text{C}$ [124, 134] (Tabelul 3.12).

Tabelul 3.12. Rezultatele determinării robusteții metodei HPLC de dozare a izohidrafuralului și a fluocinolonului acetonid din unguentul combinat

Condiții de cromatografiere	Izohidrafural		Fluocinolon acetonid	
	Timp de retenție, minute	Concentrația, g	Timp de retenție, minute	Concentrația, g
Debitul fazei mobile 0,3 ml/min	3,215	0,09794	6,212	0,02491
Debitul fazei mobile 0,5 ml/min	3,204	0,09854	6,274	0,02490
Acetonitril:apă purificată 39,2:60,8	3,224	0,09738	6,144	0,02487
Acetonitril:apă purificată 40,8:59,2	3,114	0,09774	6,123	0,02491
Temperatura coloanei 25 ⁰ C	3,097	0,09860	6,075	0,02488
Temperatura coloanei 35 ⁰ C	3,116	0,09754	6,026	0,02491
Media		0,09796		0,02490
Deviația standard relativă, %		0,521		0,079

Rezultatele obținute denotă că, metoda HPLC elaborată este robustă, deviația standard relativă fiind mai mică decât 2,0% pentru ambele substanțe medicamentoase.

3.5. Sinteza capitolului 3

Au fost elaborate metodele de analiză calitativă și cantitativă ale principiilor active din unguentele combinate. În acest scop s-au selectat metodele fizico-chimice de analiză: spectrofotometria UV-VIS și HPLC, care sunt mai rapide și mai exacte.

Astfel, pentru analiza calitativă a unguentelor combinate cu conținut de izohidrafural și metiluracil au fost elaborate: 7 metode spectrofotometrice UV-VIS, pentru fiecare substanță medicamentoasă în parte și 3 metode HPLC. Pentru determinările cantitative au fost elaborate și validate 5 metode spectrofotometrice UV-VIS și 3 metode HPLC. În urma validării, toate metodele elaborate s-au dovedit a fi lineare, selective, exacte, precise și robuste.

Metoda HPLC este mai rentabilă față de metoda spectrofotometrică UV-VIS, deoarece permite identificarea și dozarea concomitentă a substanțelor active din unguente.

Metodele de analiză elaborate au fost incluse în proiectele Monografiilor farmaceutice ale unguentelor combinate (Anexele 20, 21, 22).

4. STANDARDIZAREA ȘI EVALUAREA ACȚIUNILOR ANTIBACTERIENE, DERMATO-RESORBTIVE ȘI LOCAL-IRITANTE PENTRU UNGUENTELE COMBinate

4.1. Materiale și metode de cercetare

Standardizarea unguentelor. Cercetările au fost efectuate în cadrul Laboratorului de analiză, standardizare și control al medicamentelor din cadrul CȘM al USMF „Nicolae Testemițanu”, precum și în cadrul Catedrei de chimie farmaceutică și toxicologică a USMF „Nicolae Testemițanu”. Pentru standardizarea unguentelor combinate au fost selectați parametrii de standardizare: descriere, omogenitate, pH, proprietăți reologice, dozare, stabilitate și sterilizare [107, 108, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141].

Parametrul „Descriere” a fost cercetat prin determinarea culorii și mirosului unguentelor. Aproximativ 1 g din fiecare unguent s-a plasat pe un fond alb și s-a examinat la lumină, fiind stabilită culoarea. Mirosul a fost perceput prin mirosirea unguentelor după deschiderea ambalajului în care au fost depozitate [107, 108, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141].

Omogenitatea s-a determinat conform prevederilor din monografia farmaceutică “Unguenta” din Farmacopeea Română ed. X. Câte 20-30 mg din fiecare unguent, plasat în strat subțire pe o lamă de microscop și examinate cu lupa (4,5×), nu trebuie să prezinte picături sau aglomerări de particule [107, 108, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141].

pH-ul a fost stabilit prin metoda potențimetrică, cu ajutorul pH-metrului Consort C 861, după extracția probelor cu apă purificată. La 1,0 g unguent se adaugă 25 ml apă purificată și se agită într-un balon cu dop rodat prin încălzire la 37°C timp de 10 minute. După răcire, se filtrează și se determină pH-ul probelor obținute.

Proprietăți reologice ale unguentelor combinate au avut loc cu ajutorul vâscozimetrului rotațional MultiVisc Rheometer, Fungilab, la două temperaturi: 22±0,1°C și la 37±0,1°C. Tehnica de lucru este redată în Capitolul 2.

Caracterul tixotrop al celor trei unguente a fost cercetat la temperaturile 22±0,1°C și 37±0,1°C prin observarea modificării tensiunii de forfecare față de viteza de forfecare în timp. Astfel, la vâscozimetrul rotațional s-au înregistrat valorile tensiunii de forfecare la viteza de rotație maximă pentru diferite perioade de timp de agitare: 10 secunde, 2 minute, 5 minute, 10 minute și 20 minute la temperatura 20°C [142, 143, 144, 145].

Sterilizarea a fost determinată pentru unguentele combinate IHF+MTU și IHF+MTU+BNZ, care fiind prevăzute pentru aplicări pe răni și arsuri, trebuie să fie sterile. Conform prevederilor din monografia generală “2.6.1. Sterilizare” din Farmacopeea Europeană

ed. 9.0, a fost selectată metoda de filtrare prin membrană, care este potrivită pentru medicamentele ce posedă activitate antibacteriană [107, 108].

Tehnica de lucru. 1,0 g unguent s-a dizolvat în 100 ml izopropil miristat prin încălzire la temperatura de 40°C. Apoi, lichidul obținut s-a filtrat de 3 ori prin 2 membrane cu diametrul porilor 0,45±0,02 μm, care posedă capacitatea de reținere a microorganismelor. Una din membrane a fost plasată pe placa Petri, ce conținea mediul de cultură specific bacteriilor, iar cealaltă membrană s-a transferat pe mediul de cultură caracteristic levurilor și fungilor filamentoși. Mediile de cultură au fost incubate timp de 14 zile la 30-35°C pentru bacterii și la 20-25°C pentru levuri și fungi filamentoși, fiind examinate zilnic [107, 108].

Dozarea substanțelor active din cele trei unguente combinate s-a efectuat prin metoda HPLC cu utilizarea soluțiilor standard. Tehnicile de lucru și formulele de calcul au fost expuse în Capitolul 3.

Stabilitatea unguentelor și termenii de valabilitate. Stabilitatea unguentelor combinate precum și stabilirea termenilor de valabilitate s-a realizat prin metoda în timp real, în conformitate cu prevederile ghidurilor ICH [144, 146, 147, 148].

Determinările au avut loc pentru 3 serii ale unguentelor combinate, care au fost ambalate în recipient din sticlă întunecată și depozitate la loc ferit de lumină, la temperatura de 25±2°C și umiditatea relativă de 60±5%. Unguentele combinate au fost examinate după următorii parametri de calitate: descriere, omogenitate, pH, vâscozitate, identificare, puritate și dozare. Periodicitatea testării a fost la 0, 3, 6, 9, 12, 18, 24 și 30 luni.

Determinarea aspectului s-a efectuat în conformitate cu prevederile monografiei „Unguenta” din Farmacopeea Română ed. X [107].

Vâscozitatea a fost determinată la cea mai mică viteză de forfecare, la temperatura de 22±0,1°C, tehnica de lucru fiind expusă în Capitolul 2.

Parametrii de calitate: identificare, puritate și dozare au fost cercetați prin metoda HPLC, tehnicile de lucru fiind expuse în Capitolul 3.

Activitatea antibacteriană in vitro a unguentelor. A fost studiată în Laboratorul de infecții intraspitalicești din cadrul USMF “Nicolae Testemițanu”. Cercetările au fost efectuate prin metoda diluărilor în serie în mediu nutritiv lichid: bulion peptonat din carne 2%, la pH-ul 7,0 [149, 150]. Solventul utilizat pentru dizolvarea unguentelor a servit dimetilformamida.

În calitate de culturi de referință au servit *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). Culturile investigate de

microorganisme, crescute timp de 18 ore pe agar peptonat înclinat, au fost spălate cu soluție izotonică de clorură de sodiu 0,9% și diluate până la nivelul standardului optic de turbiditate cu obținerea inoculatelor, ce conțin 1 mln corpi microbieni în 1 ml mediu. Inoculatele obținute au fost diluate cu suspensii de unguente în dimetilformamidă și bulion peptonat de carne în raport de 1:1. Tuburile au fost supuse termostatării la temperatura 37°C timp de 24 și 48 ore. În calitate de control au servit mediile nutritive, însămânțate cu aceleași tulpini fără conținutul unguentelor cercetate. Evaluarea rezultatelor s-a efectuat vizual.

Activitatea bacteriostatică a fost apreciată în cazul lipsei creșterii microorganismelor în mediul nutritiv lichid, iar activitatea bactericidă a fost apreciată în baza lipsei creșterii microorganismelor după însămânțarea repetată pe mediul nutritiv solid – geloză peptonată din carne cu termostatare ulterioară timp de 24 ore. Pentru unguentul combinat IHF+FLAc, nu a fost posibil de a fi determinată concentrația minimă bacteriostatică, din motiv că, 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.

În calitate de control 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.

Acțiunile dermato-resorbitive și local-iritante ale unguentelor. Cercetările au avut loc în Laboratorul de infecții intraspitalicești din cadrul USMF “Nicolae Testemițanu” în baza avizului pozitiv al Comitetului de Etică a Cercetării USMF „Nicolae Testemițanu” (Anexa 1).

În experiență au fost luate 12 grupe de șobolani albi cu masa corporală de aproximativ 200 de grame. În fiecare grup au fost incluși câte 4 șobolani masculi și femele. Grupul de control a fost constituit din 8 șobolani (4 masculi și 4 femele), nesupuși tratamentului.

Unguentele au fost aplicate 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.

Unguentul combinat IHF+MTU a fost aplicat animalelor din grupurile 1, 2, 3 și 4. Unguentul combinat IHF+MTU+BNZ a fost aplicat animalelor din grupurile 5, 6, 7 și 8. Unguentul combinat IHF+FLAc a fost aplicat animalelor din grupurile 9, 10, 11 și 12 (Tabelul 4.1).

Tabelul 4.1. Modul de aplicare a unguentelor combinate

Unguentul combinat aplicat	Nr. grupului	Numărul animalelor experimentale	Cantitatea unguentului aplicat, g
IHF +MTU	1	4 femele	0,25
	2	4 masculi	0,25
	3	4 femele	0,50
	4	4 masculi	0,50
IHF+MTU+BNZ	5	4 femele	0,25
	6	4 masculi	0,25
	7	4 femele	0,50
	8	4 masculi	0,50
IHF+FLAc	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, cât și în următoarele 14 zile animalele au fost supravegheate. S-a determinat starea lor generală, particularitățile comportamentului, intensitatea și caracterul activității motorii, întrebuințarea hranei și 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 [151, 152, 153].

Acțiunea dermato-resorbțivă a fost determinată în funcție de timpul apariției și gradul manifestării semnelor de intoxicație: neliniște, moliciune, dispnee, salivație, discoordonarea mișcărilor, exoftalmie, convulsii, paralizia membrelor [151, 152, 153].

4.2. Standardizarea unguentelor combinate

Descriere. Unguentele combinate IHF+MTU și IHF+MTU+BNZ se prezintă de culoare gălbuie și fără miros. Unguentul combinat IHF+FLAc se prezintă de culoare alb-gălbuie și fără miros.

Omogenitate. Probele analizate din cele trei unguente nu au prezentat picături sau aglomerări de particule.

pH. Determinările au fost efectuate în triplicat și evaluate statistic. Valorile pH-ului celor trei unguente au corespuns cerințelor farmaceutice, potrivit cărora trebuie să fie cuprinse între 4,5 și 8,5 [107]. Deviațiile standard relative nu au depășit 1,0% (Tabelul 4.2).

Tabelul 4.2. Valorile pH-ului unguentelor combinate

Numărul determinării	Unguent combinat IHF+MTU	Unguent combinat IHF+MTU+BNZ	Unguent combinat IHF+FLAc
1.	5,66	5,65	5,76
2.	5,65	5,64	5,77
3.	5,67	5,64	5,76
Media	5,66	5,64	5,76
Deviația standard	0,01	0,006	0,01
Deviația standard relativă, %	0,177	0,102	0,100

Proprietățile reologice ale unguentelor. Caracterul nenewtonian și pseudoplastic al unguentelor combinate a fost demonstrat prin trasarea reogramelor tensiunii de forfecare în funcție de viteza de forfecare la ambele temperaturi. Astfel, acesta poate fi demonstrat prin faptul că, valorile tensiunii de forfecare cresc o dată cu creșterea vitezei de forfecare (Fig. 4.1).

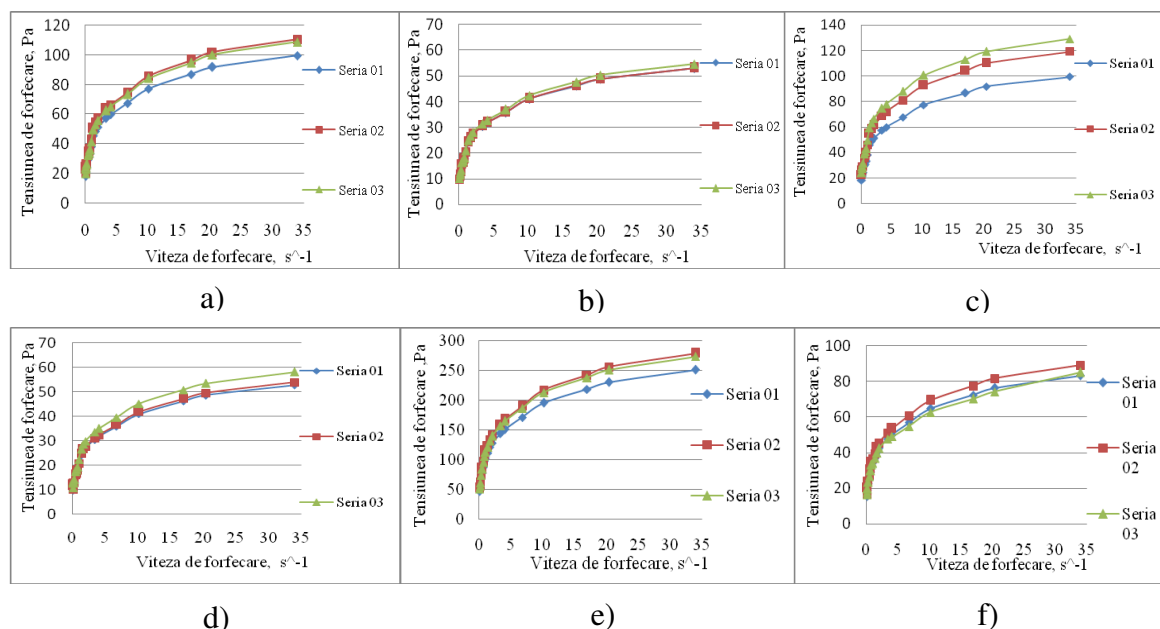


Fig. 4.1. Reogramele tensiunii de forfecare în funcție de viteza de forfecare pentru unguentele combinate IHF+MTU la 22±0,1⁰C (a) și 37±0,1⁰C (b), IHF+MTU+BNZ la 22±0,1⁰C (c) și 37±0,1⁰C (d), IHF+FLAc la 22±0,1⁰C (e) și 37±0,1⁰C (f)

Consistența unguentelor combinate a fost determinată prin trasarea reogramelor vâscozității în funcție de viteza de forfecare la ambele temperaturi. Astfel, caracterul nenewtonian și pseudoplastic al unguentelor combinate poate fi demonstrat prin faptul că, valorile vâscozității scad o dată cu creșterea vitezei de forfecare (Fig. 4.2).

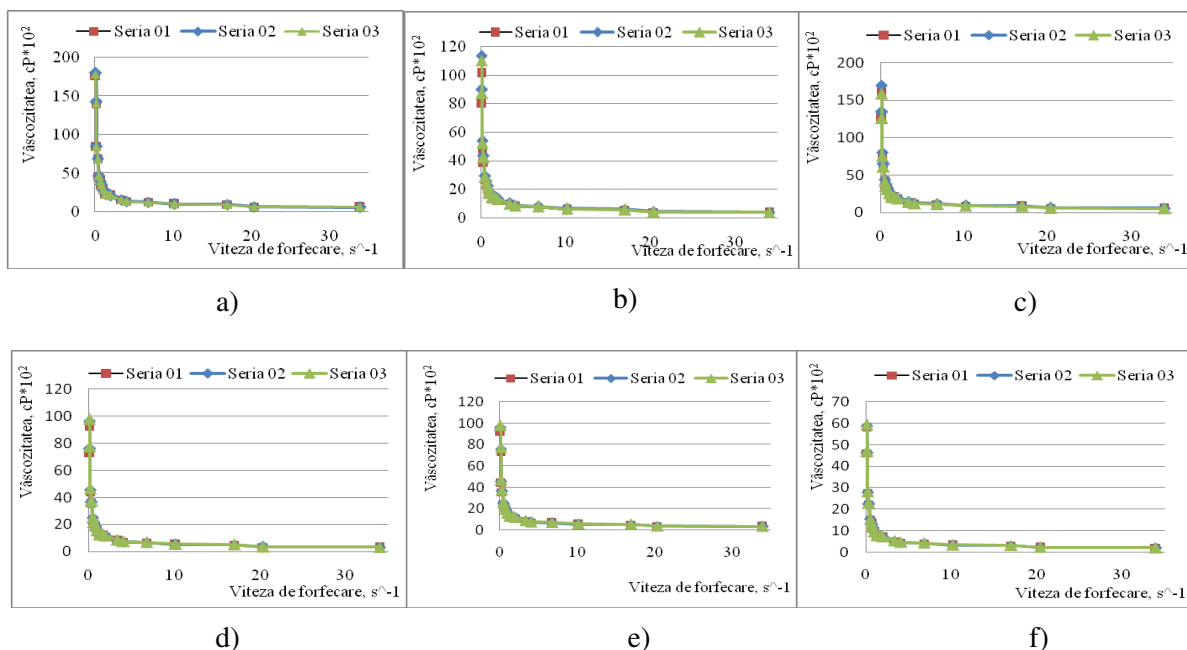


Fig. 4.2. Reogramele vâscozității în funcție de viteza de forfecare pentru unguetele combinate IHF+MTU la $22\pm0,1^{\circ}\text{C}$ (a) și $37\pm0,1^{\circ}\text{C}$ (b), IHF+MTU+BNZ la $22\pm0,1^{\circ}\text{C}$ (c) și $37\pm0,1^{\circ}\text{C}$ (d), IHF+FLAc la $22\pm0,1^{\circ}\text{C}$ (e) și $37\pm0,1^{\circ}\text{C}$ (f)

Reogramele de tixotropie ale unguetelor demonstrează caracterul tixotrop al acestora la ambele temperaturi, deoarece aria descendentă descrește o dată cu creșterea timpului de agitare. De asemenea curba descendentă este situată sub curba ascendentă, ceea ce indică o tensiune de forfecare mai mică la aceeași viteză de forfecare (Fig. 4.3, Fig. 4.4. și Fig. 4.5).

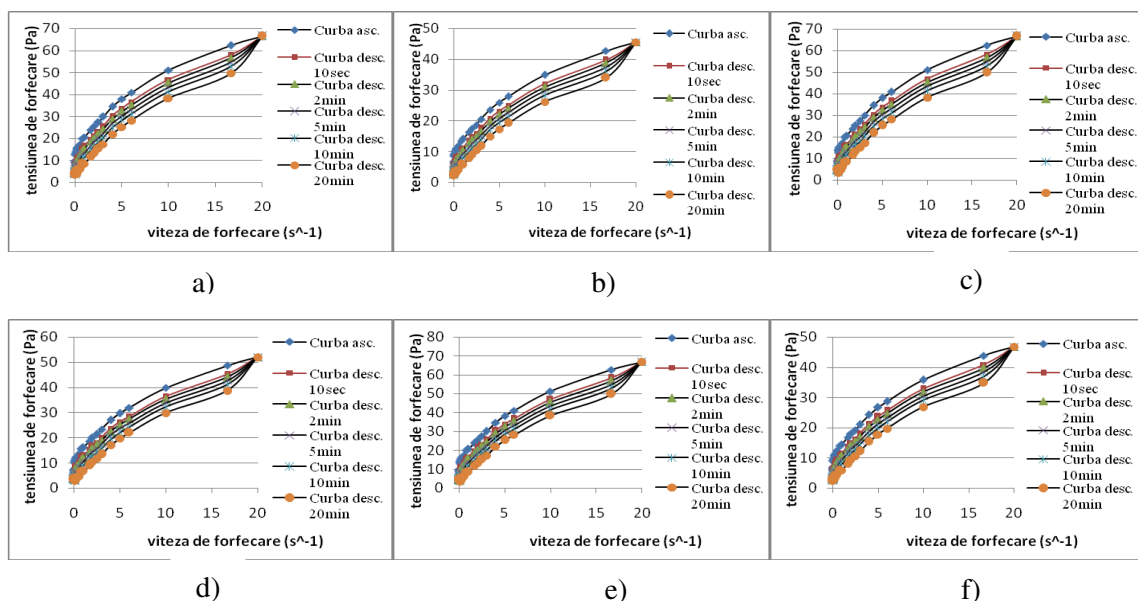


Fig. 4.3. Reogramele de tixotropie ale unguentului combinat IHF+MTU seria 1 la $22\pm0,1^{\circ}\text{C}$ (a) și $37\pm0,1^{\circ}\text{C}$ (b), seria 2 la $22\pm0,1^{\circ}\text{C}$ (c) și $37\pm0,1^{\circ}\text{C}$ (d), seria 3 la $22\pm0,1^{\circ}\text{C}$ (e) și $37\pm0,1^{\circ}\text{C}$ (f)

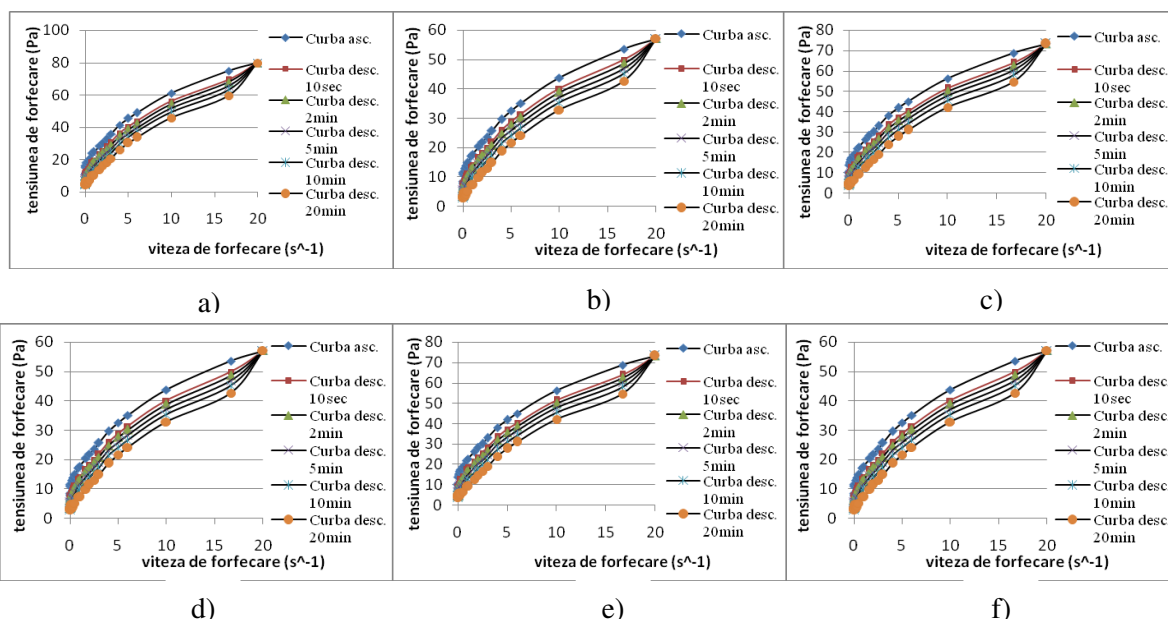


Fig. 4.4. Reogramele de tixotropie ale unguentului combinat IHF+MTU+BNZ seria 1 la $22\pm 0,1^{\circ}\text{C}$ (a) și $37\pm 0,1^{\circ}\text{C}$ (b), seria 2 la $22\pm 0,1^{\circ}\text{C}$ (c) și $37\pm 0,1^{\circ}\text{C}$ (d), seria 3 la $22\pm 0,1^{\circ}\text{C}$ (e) și $37\pm 0,1^{\circ}\text{C}$ (f)

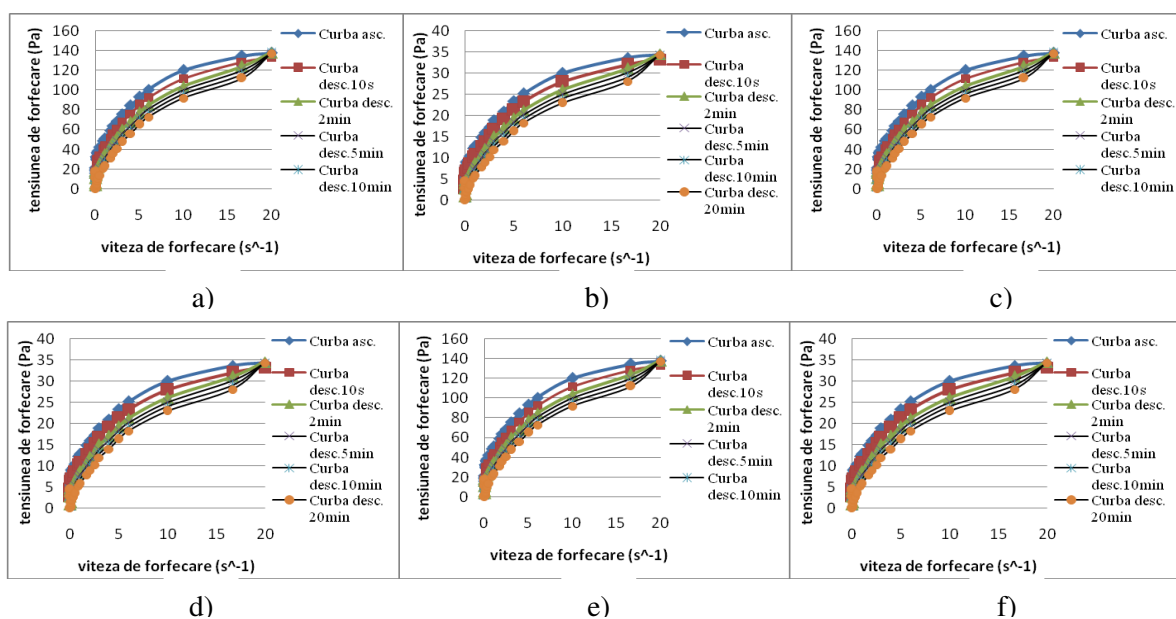


Fig. 4.5. Reogramele de tixotropie ale unguentului combinat IHF+FLAc seria 1 la $22\pm 0,1^{\circ}\text{C}$ (a) și $37\pm 0,1^{\circ}\text{C}$ (b), seria 2 la $22\pm 0,1^{\circ}\text{C}$ (c) și $37\pm 0,1^{\circ}\text{C}$ (d), seria 3 la $22\pm 0,1^{\circ}\text{C}$ (e) și $37\pm 0,1^{\circ}\text{C}$ (f)

Sterilizare. 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 și $\pm 3\%$ pentru metiluracil (Tabelul 4.3) [107].

Tabelul 4.3. Evaluarea statistică a rezultatelor dozării substanțelor active din unguentul combinat cu conținut de izohidrafural și metiluracil

Seria unguentului	Conținutul de substanță activă				Abaterea, %	
	Izohidrafural		Metiluracil		Izohidrafural	Metiluracil
	g	%	g	%		
1	0,09989	99,89	4,00399	100,09	0,11	0,09
2	0,09996	99,96	3,99909	99,98	0,04	0,02
3	0,09990	99,90	3,99924	99,98	0,10	0,02

Conținutul de substanțe active pentru cele trei serii ale unguentului combinat IHF+MTU+BNZ, la fel nu au depășit abaterile admise: $\pm 5\%$ pentru izohidrafural, $\pm 3\%$ pentru metiluracil și $\pm 3\%$ pentru benzocaină (Tabelul 4.4) [107].

Tabelul 4.4. Evaluarea statistică a rezultatelor dozării substanțelor active din unguentul combinat cu conținut de izohidrafural metiluracil și benzocaină

Seria unguentului	Conținutul de substanță activă						Abaterea, %		
	Izohidrafural		Metiluracil		Benzocaină		Izohidrafural	Metiluracil	Benzocaină
	G	%	g	%	G	%			
1	0,09919	99,19	3,9908	99,77	0,9998	99,98	0,81	0,23	0,02
2	0,09935	99,35	3,9998	99,99	0,9990	99,90	0,65	0,01	0,10
3	0,09945	99,45	3,9894	99,74	0,9984	99,84	0,55	0,26	0,16

Rezultatele determinării cantitative a substanțelor active din cele trei serii ale unguentului combinat IHF+FLAc au fost în limitele admisibile și nu au depășit abaterile admise: $\pm 5\%$ pentru izohidrafural și $\pm 7,5\%$ pentru fluocinolon acetamid (Tabelul 4.5) [107].

Tabelul 4.5. Evaluarea statistică a rezultatelor dozării substanțelor active din unguentul combinat cu conținut de izohidrafural și fluocinolon acetamid

Seria unguentului	Conținutul de substanță activă				Abaterea, %	
	Izohidrafural		Fluocinolon acetamid		Izohidrafural	Fluocinolon acetamid
	g	%	g	%		
1	0,10013	100,13	0,02499	99,96	0,13	0,04
2	0,09895	98,95	0,02498	99,92	1,05	0,08
3	0,10014	100,14	0,02499	99,96	0,14	0,04

4.3. Cercetarea stabilității și determinarea termenilor de valabilitate

Descriere și omogenitate. Determinările făcute în ziua preparării au arătat că, unguentul combinat IHF+MTU se prezintă de culoare gălbuie, fără miros și omogen. Pe parcursul a 24 luni, unguentul combinat nu a suferit nici o modificare a aspectului. La 30 luni de la depozitare s-a observat o intensificare a culorii și pierderea omogenității.

Unguentul combinat IHF+MTU+BNZ a corespuns după culoare, miros și omogenitate timp de 24 luni. La 30 luni de la începutul testării au fost sesizate: modificarea culorii, pierderea omogenității. Nu s-a semnalat apariția mirosului [154].

Unguentul combinat IHF+FLAc a fost stabil timp de 30 luni din punct de vedere a culorii și mirosului. Omogenitatea s-a menținut timp de 24 luni (Tabelul A 16.1, Tabelul A 16.2 și Tabelul A 16.3).

pH. Pentru unguentele combinate s-au înregistrat pe parcursul a 30 luni valori ale pH-ului corespunzător normei (Tabelul 4.6, Tabelul A 16.1, Tabelul A 16.2 și Tabelul A 16.3).

Tabelul 4.6. Valorile pH-ului la cercetarea stabilității unguentelor combinate

Perioada testării, luni	pH (media $\pm$ S, n=3)		
	Seria 01	Seria 02	Seria 03
Unguent combinat cu izohidrafural și metiluracil			
0	5,66 $\pm$ 0,01	5,67 $\pm$ 0,01	5,66 $\pm$ 0,01
3	5,65 $\pm$ 0,01	5,65 $\pm$ 0,01	5,64 $\pm$ 0,01
6	5,62 $\pm$ 0,02	5,63 $\pm$ 0,02	5,61 $\pm$ 0,01
9	5,57 $\pm$ 0,01	5,59 $\pm$ 0,01	5,58 $\pm$ 0,01
12	5,58 $\pm$ 0,02	5,57 $\pm$ 0,01	5,56 $\pm$ 0,01
18	5,52 $\pm$ 0,02	5,53 $\pm$ 0,01	5,54 $\pm$ 0,01
24	5,53 $\pm$ 0,02	5,53 $\pm$ 0,01	5,53 $\pm$ 0,01
30	5,48 $\pm$ 0,02	5,47 $\pm$ 0,01	5,47 $\pm$ 0,02
Unguent combinat cu izohidrafural, metiluracil și benzocaină			
0	5,67 $\pm$ 0,05	5,66 $\pm$ 0,01	5,66 $\pm$ 0,01
3	5,65 $\pm$ 0,01	5,65 $\pm$ 0,01	5,65 $\pm$ 0,01
6	5,63 $\pm$ 0,01	5,63 $\pm$ 0,01	5,63 $\pm$ 0,01
9	5,64 $\pm$ 0,01	5,64 $\pm$ 0,01	5,64 $\pm$ 0,01
12	5,62 $\pm$ 0,01	5,62 $\pm$ 0,01	5,61 $\pm$ 0,01
18	5,61 $\pm$ 0,01	5,62 $\pm$ 0,01	5,62 $\pm$ 0,01
24	5,58 $\pm$ 0,01	5,58 $\pm$ 0,01	5,57 $\pm$ 0,01
30	5,38 $\pm$ 0,01	5,37 $\pm$ 0,01	5,38 $\pm$ 0,01
Unguent combinat cu izohidrafural și fluocinolon acetonid			
0	5,76 $\pm$ 0,01	5,77 $\pm$ 0,02	5,77 $\pm$ 0,01
3	5,75 $\pm$ 0,01	5,75 $\pm$ 0,01	5,74 $\pm$ 0,01
6	5,73 $\pm$ 0,01	5,72 $\pm$ 0,01	5,73 $\pm$ 0,01
9	5,71 $\pm$ 0,01	5,71 $\pm$ 0,01	5,70 $\pm$ 0,01
12	5,68 $\pm$ 0,01	5,67 $\pm$ 0,01	5,67 $\pm$ 0,01
18	5,63 $\pm$ 0,01	5,63 $\pm$ 0,01	5,62 $\pm$ 0,01
24	5,53 $\pm$ 0,02	5,53 $\pm$ 0,01	5,53 $\pm$ 0,01
30	5,37 $\pm$ 0,01	5,41 $\pm$ 0,01	5,29 $\pm$ 0,01

Vâscozitate. Timp de 30 luni nu au fost semnalate devieri semnificative ale valorilor vâscozității celor trei unguente combinate (Tabelul 4.7, Tabelul A 16.1, Tabelul A 16.2 și Tabelul A 16.3).

Tabelul 4.7. Valorile vâscozității la cercetarea stabilității unguentelor combinate

Perioada testării, luni	Vâscozitate (media $\pm$ S, n=3)		
	Seria 01	Seria 02	Seria 03
Unguent combinat cu izohidrafural și metiluracil			
0	164,7 $\pm$ 5,3	165,6 $\pm$ 1,5	164,6 $\pm$ 2,2
3	162,2 $\pm$ 5,2	163,0 $\pm$ 0,6	164,7 $\pm$ 0,5
6	162,2 $\pm$ 4,9	160,7 $\pm$ 1,9	161,7 $\pm$ 1,5
9	161,3 $\pm$ 6,1	159,2 $\pm$ 1,1	157,3 $\pm$ 1,1
12	152,3 $\pm$ 9,4	152,0 $\pm$ 2,2	151,9 $\pm$ 1,5
18	151,2 $\pm$ 3,2	152,0 $\pm$ 1,1	151,8 $\pm$ 1,7
24	150,2 $\pm$ 7,4	147,5 $\pm$ 0,8	149,3 $\pm$ 0,6
30	151,4 $\pm$ 0,9	152,2 $\pm$ 1,0	152,8 $\pm$ 0,5
Unguent combinat cu izohidrafural, metiluracil și benzocaină			
0	160,7 $\pm$ 5,3	160,1 $\pm$ 1,1	161,6 $\pm$ 0,7
3	158,5 $\pm$ 5,2	158,8 $\pm$ 0,7	158,2 $\pm$ 0,2
6	157,0 $\pm$ 4,9	158,1 $\pm$ 0,4	157,5 $\pm$ 0,2
9	156,2 $\pm$ 6,1	156,5 $\pm$ 0,3	156,8 $\pm$ 0,1
12	154,1 $\pm$ 9,4	154,3 $\pm$ 0,1	154,5 $\pm$ 0,5
18	152,0 $\pm$ 3,2	152,0 $\pm$ 0,2	152,1 $\pm$ 0,6
24	149,8 $\pm$ 7,4	149,2 $\pm$ 0,2	149,5 $\pm$ 0,3
30	151,0 $\pm$ 0,4	152,2 $\pm$ 0,3	151,2 $\pm$ 0,6
Unguent combinat cu izohidrafural și fluocinolon acetamid			
0	73,5 $\pm$ 6,4	73,8 $\pm$ 0,5	73,1 $\pm$ 0,1
3	71,0 $\pm$ 0,1	71,0 $\pm$ 0,2	71,0 $\pm$ 0,1
6	70,5 $\pm$ 0,4	70,2 $\pm$ 0,1	70,2 $\pm$ 0,1
9	69,7 $\pm$ 0,1	69,9 $\pm$ 0,1	69,9 $\pm$ 0,1
12	69,1 $\pm$ 0,1	69,1 $\pm$ 0,1	69,1 $\pm$ 0,1
18	68,9 $\pm$ 0,1	68,9 $\pm$ 0,1	68,9 $\pm$ 0,1
24	68,2 $\pm$ 0,1	68,2 $\pm$ 0,1	68,2 $\pm$ 0,1
30	69,4 $\pm$ 0,2	71,1 $\pm$ 0,1	71,1 $\pm$ 0,1

Identificare. Timp de 24 luni, pe cromatogramele celor trei serii ale unguentului combinat IHF+MTU au fost detectate ambele substanțe 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 (Fig. 4.6, Tabelul A 16.1).

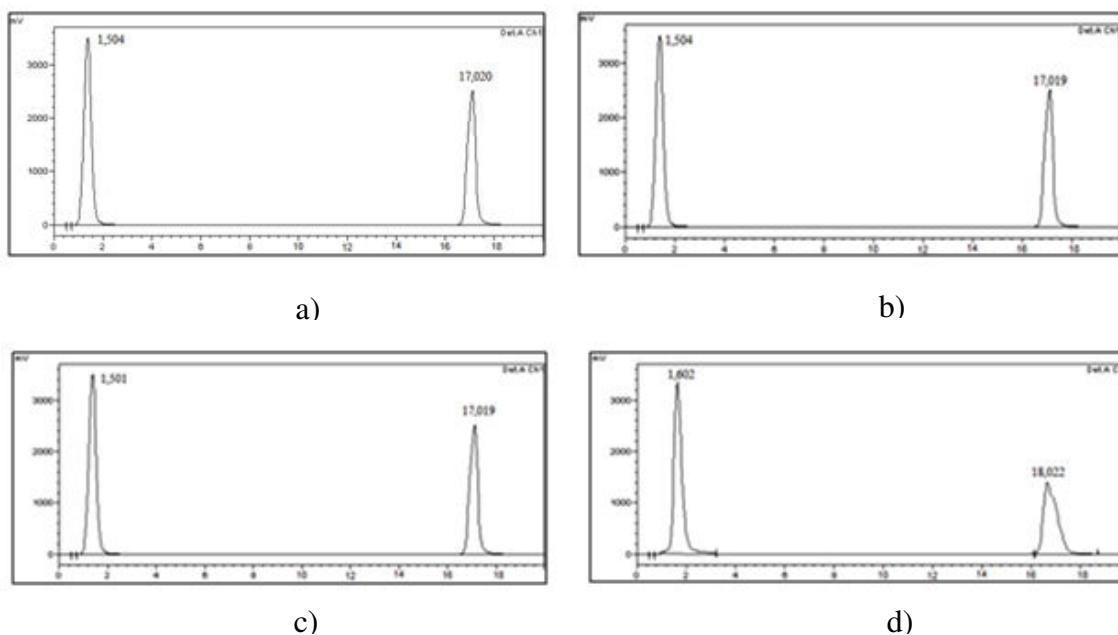


Fig. 4.6. Cromatogramele HPLC obținute la 0 (a), 9 (b), 24 (c) și 30 (d) luni de la depozitarea unguentului combinat cu conținut de izohidrafural și metiluracil (seria 01)

Unguentul combinat IHF+MTU+BNZ a corespuns după indicele „Identificare” timp de 24 luni, înregistrându-se picuri și valori ale timpului de retenție ale celor trei substanțe active apropiate soluțiilor substanțelor standard [154, 155]. La 30 luni de la depozitare s-a atestat modificări ale formei picurilor și valorilor timpului de retenție specifice substanțelor medicamentoase: metiluracil și benzocaină (Fig. 4.7, Tabelul A 16.2).

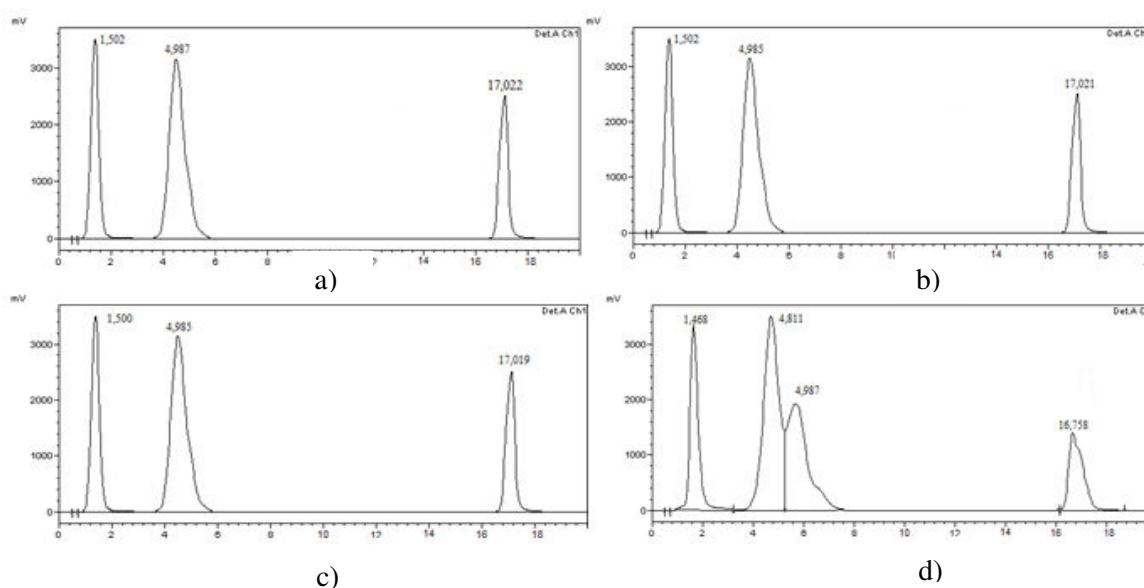


Fig. 4.7. Cromatogramele HPLC obținute la 0 (a), 9 (b), 24 (c) și 30 (d) luni de depozitare a unguentului combinat cu conținut de izohidrafural, metiluracil și benzocaină (seria 01)

Cromatogramele celor trei serii ale unguentului combinat IHF+FLAc au corespuns după parametrul de calitate „Identificare” timp de 24 luni. Astfel, au fost detectate ambele substanțe active, iar valorile timpului de retenție s-au inclus în limitele admisibile. La 30 luni de la depozitare s-au atestat modificări ale formei picurilor și valorilor timpului de retenție specifice fluocinolonului acetonid (Fig. 4.8, Tabelul A 16.3).

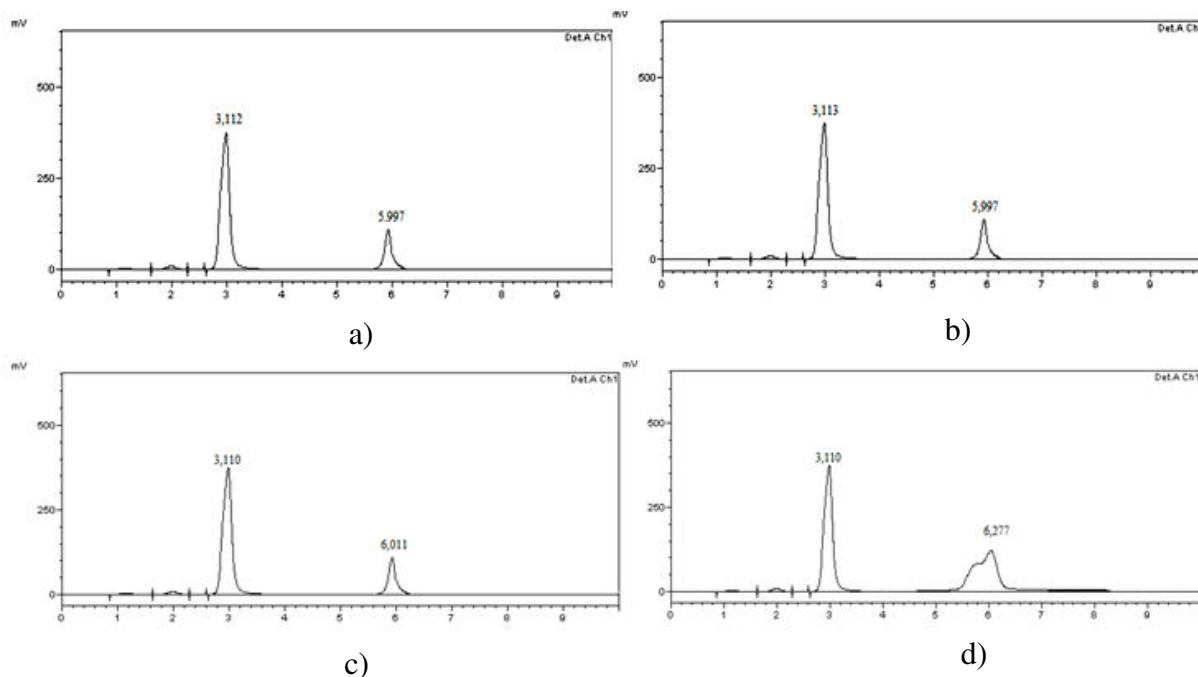


Fig. 4.8. Cromatogramele HPLC obținute la 0 (a), 9 (b), 24 (c) și 30 (d) luni de depozitare a unguentului combinat cu conținut de izohidrafural și fluocinolon acetonid (seria 01)

Dozare. Timp de 24 luni, pe cromatogramele celor trei serii ale unguentului combinat IHF+MTU au fost detectate ambele substanțe active în concentrații corespunzătoare normelor stabilite. La 30 luni de la depozitare s-a atestat micșorarea concentrației metiluracilului sub limitele admisibile (Tabelul A 16.1).

Timp de 24 luni, pe cromatogramele celor trei serii ale unguentului combinat IHF+MTU+BNZ, concentrația substanțelor active a fost în limitele admisibile. La 30 luni de la depozitare s-a atestat micșorarea conținutului cantitativ pentru metiluracil și benzocaină sub limitele admisibile (Tabelul A 16.2).

Timp de 24 luni, pe cromatogramele celor trei serii ale unguentului combinat IHF+FLAc, concentrația substanțelor active a fost în limitele admisibile. La 30 luni de la depozitare s-a atestat micșorarea conținutului cantitativ a fluocinolonului acetonid sub limitele admisibile (Tabelul A 16.3).

4.4. Evaluarea activității antibacteriene *in vitro* a unguentelor combinate

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* și *Proteus vulgaris*. Astfel, CMI este de 8 ori mai mare și respectiv egală cu unguentul martor, iar CMB este de 16 ori mai mare și respectiv de 2 ori mai mare. Unguentul combinat IHF+MTU inhibă creșterea, dar și posedă acțiune bactericidă față de *Klebsiella pneumonia*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium* și *Enterobacter cloacae* aproximativ la nivelul unguentului Izofural (Tabelul 4.8).

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 – 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 IHF+MTU+BNZ prezintă acțiune bactericidă și bacteriostatică față de *Klebsiella pneumonia*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium* și *Enterobacter cloacae* aproximativ la același nivel precum unguentul Izofural (Tabelul 4.8).

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 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 4.8).

Tabelul 4.8 Activitatea antibacteriană a unguentelor combinate ale izohidrafuralului și a unguentului Izofural

Unguent	Concentrația Minimă Bactericidă, $\mu\text{g/ml}$ Concentrația Minimă de Inhibiție, $\mu\text{g/ml}$							
	<i>Staphylococcus aureus</i> 209-P	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>
IHF+MTU	$\frac{0,97}{0,97}$	$\frac{62,50}{7,80}$	$\frac{3,90}{3,90}$	$\frac{62,50}{31,25}$	$\frac{31,25}{31,25}$	$\frac{7,80}{7,80}$	$\frac{83,33}{83,33}$	$\frac{83,33}{83,33}$
IHF+MTU+BNZ	$\frac{0,97}{0,97}$	$\frac{62,50}{7,80}$	$\frac{4,10}{3,90}$	$\frac{62,50}{31,25}$	$\frac{31,25}{31,25}$	$\frac{7,90}{7,80}$	$\frac{83,33}{83,33}$	$\frac{83,33}{83,33}$
IHF+FLAc	$\frac{1,30}{-}$	$\frac{83,33}{-}$	$\frac{83,33}{-}$	$\frac{83,33}{-}$	$\frac{20,83}{-}$	$\frac{15,60}{-}$	$\frac{83,33}{-}$	$\frac{41,66}{-}$
Izofural	$\frac{3,90}{3,90}$	$\frac{250,0}{15,60}$	$\frac{62,50}{31,25}$	$\frac{62,50}{31,25}$	$\frac{31,25}{31,25}$	$\frac{15,60}{7,80}$	$\frac{83,33}{83,33}$	$\frac{83,33}{83,33}$

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

Analiza acțiunii dermato-resorbitive a unguentului combinat IHF+MTU a arătat că, s-a absorbit ușor prin piele, în același timp semne de intoxicare nu au fost observate nici în timpul aplicării, nici pe parcursul supravegherii animalelor.

Starea generală a șobolanilor, pe parcursul întregii experiențe și pe parcursul a 14 zile de observație, a rămas fără modificări. Animalele au fost active, au consumat hrană și apă, ritmul și frecvența respirației nu s-au schimbat. Starea învelișului pielos și a mucoaselor vizibile la fel au rămas fără modificări precum la animalele din grupul control. Rezultatele determinării acțiunii local-iritante a unguentului combinat IHF și MTU denotă că, la locul aplicării turgorul și elasticitatea pielii animalelor nu s-a modificat, nu au fost semnalate nici fisuri sau exfoliere. Nu s-a observat durere la palpare, nu s-a determinat hiperemie și îngroșarea pielii (Tabelul 4.9).

Tabelul 4.9. Evaluarea activităților local-iritante și dermato-resorbitive ale unguentului combinat cu izohidrafural și metiluracil

Nr.	Simptom de toxicitate	Durata de observație					
		1 ore	24 ore	48 ore	72 ore	7 zile	14 zile
1.	Eritem	—	—	—	—	—	—
2.	Edem	—	—	—	—	—	—
3.	Anxietate	—	—	—	—	—	—
4.	Moliciune	—	—	—	—	—	—
5.	Convulsii	—	—	—	—	—	—
6.	Dispnee	—	—	—	—	—	—
7.	Salivație	—	—	—	—	—	—
8.	Discoordonarea mișcărilor	—	—	—	—	—	—
9.	Exoftalmie	—	—	—	—	—	—
10.	Paralizia membrelor	—	—	—	—	—	—

“—” lipsa simptomului de toxicitate

Determinarea acțiunii dermato-resorbitive a unguentului combinat IHF+MTU+BNZ denotă că, a fost absorbit ușor prin piele, iar semne de intoxicare nu au fost semnalate în momentul aplicării, dar și pe parcursul perioadei de supraveghere a animalelor.

Starea generală a șobolanilor, pe parcursul întregii experiențe și pe parcursul a 14 zile de observație, a rămas fără modificări. Precum șobolanii din grupul control, cei din grupurile experimentale au fost activi, au consumat hrană și apă, ritmul și frecvența respirației nu s-au modificat. Starea învelișului pielos și a mucoaselor vizibile nu au suferit schimbări (Tabelul 4.10).

Tabelul 4.10. Evaluarea activităților local-iritante și dermato-resorbitive ale unguentului combinat cu izohidrafural, metiluracil și benzocaină

Nr.	Simptom de toxicitate	Durata de observație					
		1 ore	24 ore	48 ore	72 ore	7 zile	14 zile
1.	Eritem	—	—	—	—	—	—
2.	Edem	—	—	—	—	—	—
3.	Anxietate	—	—	—	—	—	—
4.	Moliciune	—	—	—	—	—	—
5.	Convulsii	—	—	—	—	—	—
6.	Dispnee	—	—	—	—	—	—
7.	Salivație	—	—	—	—	—	—
8.	Discoordonarea mișcărilor	—	—	—	—	—	—
9.	Exoftalmie	—	—	—	—	—	—
10.	Paralizia membrelor	—	—	—	—	—	—

“—” lipsa simptomului de toxicitate

Rezultatele determinării acțiunii local-iritante a unguentului combinat IHF+MTU+BNZ arată că, turgorul și elasticitatea de la locul aplicării pe pielea șobolanilor nu s-a modificat, nu au fost semnalate fisuri, exfolieri, durere la palpare, hiperemie și îngroșarea pielii (Tabelul 4.9).

În urma evaluării acțiunii dermato-resorbitive a unguentului combinat IHF+FLAc, s-a observat că, unguentul a s-a absorbit bine prin piele, însă mai greu decât celelalte două unguente. Motivul a prezentat baza de unguent emulsivă comparativ cu cea hidrofilă, de polietilenglicol. Totodată, semne de intoxicare nu au fost sesizate nici în momentul aplicării și nici pe parcursul perioadei de 14 zile de supraveghere a șobolanilor.

Starea generală a animalelor, pe parcursul întregii experiențe și pe parcursul perioadei de observație, a rămas neschimbată. Animalele experimentate au fost active, au consumat hrană și apă, ritmul și frecvența respirației, starea învelișului pielos și a mucoaselor vizibile au rămas fără modificări (Tabelul 4.11).

Tabelul 4.11. Evaluarea activităților local-iritante și dermato-resorbtive ale unguentului combinat cu izohidrafural și fluocinolon acetamid

Nr.	Simptom de toxicitate	Durata de observație					
		1 ore	24 ore	48 ore	72 ore	7 zile	14 zile
1.	Eritem	—	—	—	—	—	—
2.	Edem	—	—	—	—	—	—
3.	Anxietate	—	—	—	—	—	—
4.	Moliciune	—	—	—	—	—	—
5.	Convulsii	—	—	—	—	—	—
6.	Dispnee	—	—	—	—	—	—
7.	Salivație	—	—	—	—	—	—
8.	Discoordonarea mișcărilor	—	—	—	—	—	—
9.	Exoftalmie	—	—	—	—	—	—
10.	Paralizia membrelor	—	—	—	—	—	—

“—” lipsa simptomului de toxicitate

În urma evaluării acțiunii local-iritante a unguentului IHF+FLAc s-a observat că, turgorul și elasticitatea la locul aplicării nu s-a modificat, nu au fost semnalate fisuri, exfolieri, durere la palpare, hiperemie și îngroșarea pielii (Tabelul 4.10).

4.6. Sinteza capitoului 4

Standardizarea unguentelor combinate a fost efectuată pentru trei serii ale unguentelor după parametrii de standardizare prevăzuți în Farmacopeea Română ed. X și Farmacopeea Europeană ed. 9.0: descriere, omogenitate, pH, sterilizare, dozare și stabilitate.

S-a determinat valoarea termenului de valabilitate pentru fiecare unguent prin metoda testării în timp real, în conformitate cu prevederile ghidurilor ICH.

Determinările au avut loc pentru 3 serii ale unguentelor combinate, care au fost ambalate în recipient din sticlă întunecată și depozitate la loc ferit de lumină, la temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ și umiditatea relativă de $60 \pm 5\%$. Unguentele combinate au fost examinate după următorii parametri de calitate: descriere, omogenitate, pH, vâscozitate, identificare, puritate și dozare. Periodicitatea testării a fost la 0, 3, 6, 9, 12, 18, 24 și 30 luni.

Astfel, cele trei unguente combinate au fost stabile pe o perioadă de 24 luni.

La 30 luni de la depozitare s-a observat o intensificare a culorii și pierderea omogenității. De asemenea s-au înregistrat valori necorespunzătoare identității și dozării metiluracilului, benzocainei și fluocinolonului acetamid.

A fost determinată activitatea antibacteriană *in vitro* a unguentelor prin metoda diluțiilor în serie în comparație cu unguentul Izofural pe culturi de microorganisme care pot cauza cel mai des infectarea plăgilor, arsurilor, dermatitelor și psoriazisului: *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Klebsiella*

pneumoniae, *Salmonella typhimurium*, *Enterobacter cloacae*. Activitatea bacteriostatică a fost apreciată în cazul lipsei creșterii microorganismelor în mediul nutritiv lichid, iar activitatea bactericidă a fost apreciată în baza lipsei creșterii microorganismelor după însămânțarea repetată pe mediul nutritiv solid – geloză peptonată din carne cu termostatare ulterioară timp de 24 ore. Pentru unguentul combinat IHF și FLAc, nu a fost posibil de a fi determinată concentrația minimă bacteriostatică, din motiv că, 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.

Toate cele trei unguente propuse în studiu au prezentat activitate bactericidă și bacteriostatică superioară produsului control. Unguentul combinat IHF+MTU a prezentat activitate bactericidă și bacteriostatică asemănător cu unguentul IHF+MTU+BNZ, dar mai pronunțată decât a unguentului Izofural. Unguentul combinat IHF+FLAc manifestă o activitate antimicrobiană mai pronunțată față de unguentul cu conținut de izohidrafural și puțin mai joasă decât unguentele combinate IHF+MTU și IHF+MTU+BNZ. Astfel, activitatea antibacteriană a unguentelor este dependentă și de excipienții utilizați. Unguentele pe bază de PEG-uri au prezentat o activitate mai mare, decât cele pe bază emulsivă.

Pentru determinarea acțiunilor dermato-resorbitive și local-iritante, au fost luate 12 grupe de șobolani albi cu masă corporală de aproximativ 200 de grame. În fiecare grup au fost incluși câte 4 șobolani masculi și femele. Grupul de control a fost constituit din 8 șobolani (4 masculi și 4 femele), nesupuși tratamentului.

Analiza acțiunii dermato-resorbitive a unguentelor combinate a arătat că, unguentele s-au absorbit ușor prin piele, în același timp semne de intoxicare nu au fost observate nici în timpul aplicării, nici pe parcursul supravegherii animalelor.

În urma evaluării acțiunii local-iritante a unguentelor combinate s-a observat că, turgorul și elasticitatea la locul aplicării nu s-a modificat, nu au fost semnalate fisuri, exfolieri, durere la palpare, hiperemie și îngroșarea pielii.

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 acetonid.
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 acetonid*.

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-resorbtive 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. UNCU, L., VÎSLOUH, O., **BOBROV, E.** și a. Studiul stabilității și determinarea termenului de valabilitate a unguentului “Izofural”. În: *Anale științifice ale Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Probleme medico-biologice și farmaceutice*. 2012, vol. 1, pp. 254-259. ISSN 1857-1719.
8. SHANKAR, M., RAMESH, B., ROOPA, K. D., NIRANJAN, B.M. Wound healing and it's importance – a review. In: *Der. Pharmacologia Sinica*. 2014, vol. 1, nr. 1, pp. 24-30. ISSN 0976-8688.
9. ПРИВОЛЬНЕВ, В.В., КАРАКУЛИНА, Е. В. Основные принципы местного лечения ран и раневой инфекций. В: *Клин. микробиол. антимикроб. химиотер.* 2011, том 13, № 3, с. 214-222. ISSN 1684-4386.
10. FAGBOMEDO, J., FEMI-OLA, T.O. Incidence of wound infections and the prevalence of multi-drug resistant *Staphylococcus aureus* in a Nigerian Hospital. In: *Academia Journal of Scientific Research*. 2017, vol. 5, nr. 9, pp. 316-322. ISSN 2315-7712.

11. SUSSMAN, G. Antimicrobial resistance relating to wound management and infection. In: *Wound Practice and Research*. 2016, vol. 24, nr. 4, pp. 254-257. ISSN 1837-6304.
12. AKDIS, C.A. et al. Diagnosis and treatment of atopic dermatitis in children and adults: European Academy of Allergology and Clinical Immunology/American Academy of Allergy, Asthma and Immunology/PRACTALL Consensus Report. In: *Allergy*. 2006, vol. 61, pp. 969-987. ISSN 1398-9995.
13. NUTTEN, S. Atopic dermatitis: global epidemiology and risk factors. In: *Ann. Nutr. Metab.* 2015, vol. 66, nr. 1, pp. 8-16. ISSN 0250-6807 (print), 1421-9697 (online).
14. WOLLENBERG, A. et al. ETFAD/EADV Eczema task force 2015 position paper on diagnosis and treatment of atopic dermatitis in adult and paediatric patients. In: *Journal of European Academy of Dermatology and Venereology*. 2016, vol. 30, pp. 729-747. ISSN 1468-3083.
15. BOGUNIEWICZ, M. et al. Atopic dermatitis yardstick: Practical recommendations for an evolving therapeutic landscape. In: *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 2018, vol. 120, pp. 10-22. ISSN 1081-1206.
16. MUȘET, G. și a. *Psoriazisul la adult*. Protocol clinic național. Chișinău, 2014. 40 p.
17. MROWIETZ, U., REICH, K. Psoriasis – new insights into pathogenesis and treatment. In: *Deutsches Ärzteblatt International*. 2009, vol. 106, nr. 1-2, pp. 11-19. ISSN 0012-1207.
18. 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.
19. 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.
20. BODRUG, N., BARBA, D., ISTRATI, V., BOTEZATU, A. *Eficacitatea terapiei cu ozon în medicină*. Chișinău: Centrul Editorial-Poligrafic Medicina, 2012. p. 92-106. ISBN 978-9975-113-42-7.
21. HARDING, K.G., MORRIS, H.L., PATEL, G.K. Healing chronic wounds. In: *BMJ*. 2002, vol. 324, pp. 160-163. ISSN 0959-8138 (print), 1756-1833 (web).
22. BOUR, A., BAZELIUC, I. *Plăgile: Elaborări metodice pentru studenții anului 2, facultatea Stomatologie*. Chișinău: Centrul Editorial-Poligrafic Medicina, 2011. 40p. ISSN 978-9975-915-99-1.
23. ALLEGIANZI, B. et al. Burden of endemic health-care-associated infection in developing countries: systematic review and meta-analysis. In: *Lancet*. 2011, vol. 377, pp. 228-241. ISSN 0140-6736.

24. ASAAD, A.M., BADR, S.A. Surgical site infections in developing countries: current burden and future challenges. In: *Journal of Clinical Microbiology*. 2016, vol. 5, nr. 6, pp. 136. ISSN 0095-1137.
25. *Report on the burden of endemic health care-associated infection worldwide*. WHO Document Services, Geneva, Sitzerland, 2011. 40 p. ISBN 978-92-4-150150-7.
26. BAHNAREL I. și a. *Supravegherea de stat a sănătății publice în Republica Moldova (Raport Național, 2017)*, Chișinău, 2018. 233 p. ISBN 978-9975-4027-9-8.
27. HEAL, C.F. et al. Does single application of topical chloramphenicol to high risk sutured wounds reduce incidence of wound infection after minor surgery? Prospective randomised placebo controlled double blind trial. In: *BMJ*. 2009, vol. 338, pp. 2812-2818. ISSN 0959-8138 (print), 1756-1833 (web).
28. FAIR, R.J., TOR, Y. Antibiotics and bacterial resistance in the 21st century. In: *Perspectives in Medicinal Chemistry*. 2014, vol. 6, pp. 25–64. ISSN 117391.
29. BANERJEE, S., ARGAEZ, C. *Topical antibiotics for infection prevention: a review of the clinical effectiveness and guidelines*. Ottawa: CADTH, 2017. 28 p. ISSN 1922-8147.
30. 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.
31. BOYKO, N.N. et al. Study of antimicrobial activity of medications for wound treatment. In: *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2015, vol. 3, pp. 350-355. ISSN 2042-7158.
32. ARYA, S.C., AGARWAL, N., AGARWAL, S., Nitrofurantoin: an effective and ignored antimicrobial. In: *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2006, 27(4), pp.354-5. ISSN 0924-8579.
33. GARG, T., RATH, G., GOYAL, A.K. Comprehensive review on additives of topical dosage forms for drug delivery. In: *Drug Delivery*. 2015, vol. 22, nr. 8, pp. 969-987. ISSN 1071-7544.
34. ROWE, R.C., SHESKEY, P.J., COOK, W.G., FENTON M.E. *Handbook of pharmaceutical excipients - 7th edition*. London: Pharmaceutical Press and American Pharmacists Association, 2009. ISBN 978-1-58212-135-2.
35. STROESCU, V. et al. *Farmacologie*. Ed. a IX-a. București: BIC ALL, 1999. ISBN 973-571-402-7.
36. Global report on psoriasis. WHO Document Services, Geneva, Sitzerland, 2016. 44 p. ISBN 978-92-4-1565-18-9.

37. FARKAS, F. et al. Disease activity together with depression contributes to work disability in psoriatic arthritis. In: *Annals of the Rheumatic Diseases. Conference: Annual European Congress of Rheumatology*, vol. 76, supp. 2, 14-17 june, 2017, p. 675. ISSN 1468-2060.
38. TEODORESCU, A.C. Tratamentul biologic pentru psoriazis și posibilele complicații infecțioase. În: *Revista Română de Boli Infecțioase*. 2012, vol.15, nr.4, pp. 279-284. ISSN 1454-3389.
39. MURPHY, G., REICH, K. In touch with psoriasis: topical treatments and current guidelines. In: *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. 2011, vol. 25, nr. 4, pp. 3-8. ISSN 1468-3083.
40. КОЛЯДЕНКО, В.Г., ЧЕРНЫШОВ, П.В. Комбинированные препараты группы бетаметазона в лечении аллергодерматозов. В: *Український журнал дерматології, венерології, косметології*. 2007, № 1, с. 31-34. ISSN 1727-5741 (print), 2522-1035 (online).
41. KERSCHER, M., WILLIAMS, S., LEHMANM, P. *Handbook of atopic eczema*. Berlin, New York: Springer, 2006, p. 477-491. ISBN 978-3-540-29856-4.
42. SEGAERT, S. et al. Optimizing anti-inflammatory and immunomodulatory effects of corticosteroid and vitamin D analogue fixed-dose combination therapy. In: *Dermatol. Ther. (Heidelb)*. 2017, vol. 7, pp. 265–279. ISSN 2190-9172.
43. STEINZ, K. et al. Bacterial soft tissue infection in psoriasis despite induction of epidermal antimicrobial peptides. In: *Experimental Dermatology*. 2014, vol. 23, pp. 853-864. ISSN 1600-0625.
44. BROOK, I. Secondary bacterial infections complicating skin lesions. In: *J. Med. Microbiol*. 2002, vol. 51, pp. 808-812. ISSN 0022-2615.
45. ELFATOIKI, F.Z. et al. Psoriasis and staphylococcus aureus skin colonization in Moroccan patients. In: *The Pan African Medical Journal*. 2016, pp. 23-33. ISSN 1937-8688.
46. WANG, X. et al. Classification and possible bacterial infection in out patients with eczema and dermatitis in China. A cross-sectional and multicenter study. In: *Medicine*. 2017, vol. 96, pp. 35-41. ISSN 1357-3039.
47. SALGADO, A.C.G.B. et al. Development, stability and *in vitro* permeation studies of gels containing mometasone furoate for the treatment of dermatitis of the scalp. In: *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2010, vol. 46, nr. 1, pp. 109-114. ISSN 2175-9790.

48. CARR, W.W. Topical calcineurin inhibitors for atopic dermatitis: review and treatment recommendations. In: *Pediatric Drugs*. 2013, vol. 15, pp. 303-310. ISSN 1174-5878 (print), 1179-2019 (online).
49. SIEGFRIE, E.C. Systematic review of published trials: long term safety of topical corticosteroids and topical calcineurin inhibitors in pediatric patients with atopic dermatitis. In: *BMC Pediatrics*. 2016, vol. 16, pp. 75-90. ISSN 1471-2431.
50. ȘARAMET, G. Combinațiile fixe de substanțe active, provocări ale industriei farmaceutice. În: *Univers Farmaceutic*. 2015, vol.1, nr. 3, pp. 20-21.
51. 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).
52. PRISACARI, V. și a. Unguent "Izofural" – preparat antibacterian nou. Comunicare I. Studiul activității antibacteriene. În: *Anale științifice ale Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”*, Probleme actuale de sănătate publică și management. 2010, vol. 2, ed. XI, p. 12-15. ISSN 1857-1719.
53. DIGHE, N.S. et al. Synthetic and pharmacological profile of furan. In: *Asian Journal of Biosciences*, 2014, vol. 1, nr.1, pp. 7-14. ISSN 1996-3351.
54. BABARA, D. Elaborarea tehnologiei și cercetarea biofarmaceutică a formelor medicamentoase cu izohidrafural. Teză de doctor în științe farmaceutice. Chișinău, 1997, 124 p.
55. АРАВИЙСКАЯ, Е.Р. и др. Комбинированные препараты в наружном лечении акне: современные данные. В: Вестник дерматологии и венерологии. 2012, № 3, с. 111-114. ISSN 2313-6294.
56. **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*. 2016, nr. 1(50), pp. 245-248. ISSN 1857-0011.
57. *PubChem*. National Institutes of Health (NIH), ©2004 [citată 30.07.2018]. Disponibil: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6-methyluracil>.
58. ПЕТРОВА, И.В. и др. Антиоксидантные свойства производных пиримидина. В: *Медицинский вестник Башкортостана*. 2013, том 8, № 4, с. 64-67. ISSN 1999-6209.
59. ОРЛОВА, Т. В. Современные ректальные, вагинальные и уретральные лекарственные формы. В: *Вестник ВГУ, серия: Химия. Биология. Фармация*. 2014, № 1, с. 126-133. ISSN 1609-0675.

60. **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.
61. **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).
62. **ОКОНЕНКО, Т.И., АНТРОПОВА, Г.А., АГАЕВА, А.А.** Провизор-врач. Ассортиментная политика и фармацевтическая опека больных с ранами различной этиологии и локации. В: *Современные проблемы науки и образования*. 2015, № 3. ISSN 2070-7428.
63. **КАМАНОВА, М.К. и др.** Технология приготовления композиционной мази “Азиметурацил ЛФ” состоящей из азитромицина и метилурацила. В: *Вестник КазНМУ*. 2013, №4(1), с. 348-350. ISSN 2524-0684 (print), 2524-0692 (online).
64. **ТАХА АЛЬ-БАНК, Е.З., РЫБАЧУК, В.Д.** Разработка состава и технологии суппозиторий с экстрактом календулы и метилурацилом для лечения геморроя. В: *Вестник, Южно-Казахстанской государственной фармацевтической академии*. 2017, том 80, №3, с. 33-34. ISSN 2306-6822.
65. *PubChem*. National Institutes of Health (NIH), ©2004 [citat 30.07.2018]. Disponibil: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/benzocaine>.
66. **TAUBER, M. et al.** Staphylococcus aureus density on lesional and nonlesional skin is strongly associated with disease severity in atopic dermatitis. In: *J. Allergy Clin. Immunol.* 2016, pp. 1272-1274. ISSN 0091-6749.
67. **KORTING, H.C. et al.** Modern topical glucocorticoids and anti-infectives for superinfected atopic eczema: do prednicarbate and didecyldimethylammoniumchloride form a rational combination? In: *Infection*. 1994, vol. 22, nr. 6, pp. 390-391. ISSN 0300-8126 (print), 1439-0973 (online).
68. *DrugBank* (version 5.1.1, ©2018 [citat 30.07.2018]. Disponibil: <https://www.drugbank.ca/drugs/DB00591>.
69. **ASIJA, R. et al.** Topical ointment: an updated review. In: *Journal of Drug Discovery and Therapeutics*, 2015, vol. 3, nr. 25, pp. 47-51. ISSN 2320-4230.
70. **СЕМКИНА, О.А. и др.** Вспомогательные вещества, используемые в технологии мягких лекарственных форм (мазей, гелей, линиментов, кремов) (обзор). В: *Химико-фармацевтический журнал*. 2005, том 39, № 9, с. 45-48. ISSN 0023-1134.

71. НИКИТИНА, Н.В., СТЕПАНЮК, С.Н. Разработка дерматологической мази с экстрактом почек *Populus nigra*. В: *Научные ведомости, серия Медицина. Фармация*, 2010, № 16 (87), с. 120-127. ISSN 2075-4728.
72. ПЕРЦЕВ, И.М. и др. Значение осмотических свойств мазей при их использовании медицинской практике. В: *Вестник Фармация*, 2002, том 2, № 30, с. 7-10. ISSN 2074-9457.
73. МАНДЖИГОЛАДЗЕ, Т.Ю., РОМАНЦОВА, Н.А. Определение осмотической активности исследуемых мазей с экстрактами робинии и солодки. В: *Здоровье и образование в XXI веке*, 2011, том 13, № 3, с. 366-367. ISSN 2226-7425 (print), 2412-9437.
74. БОЧАРОВА, И.Г., АВТИНА, Н.В., ЧЕСТНИКОВА, С.Э. К вопросу о разработке лекарственных форм для лечения воспалительных процессов верхнечелюстных пазух и экспериментальном обосновании их применения. В: *Курский научно-практический вестник "Человек и его здоровье"*. 2005, № 3, с.11-15. ISSN 1998-5746.
75. ГРАБАРСКАЯ, Е.А., ДАНИЛЕВСКАЯ, Н.В., ДЕЛЬЦОВ, А.А., ПРАВДА, А.А. Изучение ранозаживляющей активности новой многокомпонентной мази. В: *РВЖ, МДЖ*. 2015, № 3, с. 48-50. ISSN 5-18151450-8.
76. GRIGORYAN, A.Y. et al. Treatment of purulent wounds by using multicomponental ointments based on enterogel. In: *Сибирский медицинский журнал*. 2011, nr. 8, pp. 12-16. ISSN 1815-7572.
77. 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.
78. DINTE, E. et al. Compatibility studies between drugs and excipients in the preformulation phase of buccal mucoadhesive systems. In: *Farmacia*. 2013, vol. 61, nr. 4, pp. 703-712. ISSN 0014-8237.
79. BEZERRA, G. et al. Compatibility study between ferulic acid and excipients used in cosmetic formulations by TG/DTG, DSC and FTIR. In: *J Therm Anal Calorim*. 2017, 127(2), pp. 1683-91. ISSN 1388-6150 (print), 1588-2923 (electronic).
80. 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).

81. KAUR, R., SINHA, V.R. Use of thermal and non thermal techniques for assessing compatibility between mirtazapine and solid lipids. In: *J Pharm Biomed Anal.* 2018, vol. 161, pp. 144-158. ISSN 0731-7085 (print), 0731-7085 (electronic).
82. **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.* 2014, p. 60.
83. **DONICI, E.** Studiul compatibilității fizico-chimice a izohidrafuralului, metiluracilului și fluocinolonului acetonid prin metoda HPLC. În: *Volum de rezumate al Congresului Național de Farmacie din România cu participare internațională, ediția a XV-a – “Viziune și inovație în practica farmaceutică Orizont 2020”,* 24-27 septembrie, 2014, Iași, Romania, p. 313. ISBN 978-606-544-252-8.
84. **DONICI, E.** Studiul compatibilității izohidrafuralului în combinații prin metoda HPLC. În: Culegere de rezumate științifice a Conferinței științifice anuale a colaboratorilor și studenților a Instituției Publice Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”. 2014, p. 28. ISSN 1857-1719.
85. FULIAȘ, A. et al. Thermal behaviour of procaine and benzocaine. Part II: compatibility study with some pharmaceutical excipients used in solid dosage forms. In: *Chemistry Central Journal.* 2013, nr. 7, pp. 140-150. ISSN 1752-153X.
86. UNCU, L., **BOBROV, E.** și a. Studiul compatibilității izohidrafuralului și metiluracilului în aceeași formă farmaceutică. În: *Anale științifice ale Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Probleme medico-biologice și farmaceutice.* 2010, vol. 1, pp. 423-426. ISSN 1857-1719.
87. **DONICI, E.** The evaluation of some techniques of thermal analysis at the preformulation stage of combined drugs. In: *Abstract Book of the 7th International Medical Congress for Students and Young Doctors, May 3-5, 2018, Chisinau, Republic of Moldova,* p. 277. ISBN 978-9975-47-174-9.
88. RUS, L.M. et al. Compatibility studies of indapamide/pharmaceutical excipients used in tablet preformulation. In: *Farmacia.* 2012, nr. 60(1), pp. 92-101. ISSN 0014-8237.
89. RUS, L.M. et al. Development of meloxicam oral lyophilisates: role of thermal analysis and complementary techniques. In: *Farmacia.* 2019, nr. 67(1), pp. 56-67. ISSN 0014-8237.
90. **DONICI, E.**, GORODEȚCHI, E. Determinarea compatibilității substanțelor medicamentoase în combinații terapeutice prin spectroscopie IR. În: Culegere de rezumate științifice a Conferinței științifice anuale a colaboratorilor și studenților a Instituției Publice

Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”. 2014, p. 27. ISSN 1857-1719.

91. **DONICI, E.**, GORODEȚCHI, E. The IR spectrophotometry applications in the study of physical and chemical compatibility of some active substances. In: *Abstract Book of the 5th International Medical Congress for Students and Young Doctors, May 14-17, 2014*, Chisinau, Republic of Moldova, p. 245. ISBN 978-9975-47-174-9.
92. ZHANG, X. et al. A quantification of diffusion dialysis process: Single electrolyte system (hydrochloric acid solution). In: *Chemical Engineering Science*. 2015, nr. 135, pp. 547-552. ISSN 0009-2509.
93. MASTROPIETRO, D.J., NIMROOZI, R., OMIDIAN, H. Rheology in Pharmaceutical Formulations-A Perspective. In: *J. Develop. Drugs*. 2013, 2(2) p. 108. ISSN 2329-6631.
94. MUHEREI, M.A. Common versus Herschel-Bulkley drilling fluid models: effect of their rheological parameters on dynamic particle settling velocity. In: *American Scientific Research Journal for Engineering, Technology and Sciences*. 2016, vol. 16, nr. 1, pp. 155-177. ISSN 2313-4402.
95. КУХТЕНКО, Г.П. и др. Реологические исследования мягких лекарственных средств. В: *Медицина*. 2014, № 1, с. 6-9. ISSN 2306-6326.
96. TODERESCU, C.D. et al. Qualitative assessment of some hydrogels containing ketoprofen. In: *Studia Universitatis “Vasile Goldiș”, Seria Științele Vieții*. 2016, vol. 26, no. 3, pp.317- 321. ISSN 1584-2363.
97. LEUCUȚĂ, S.E. *Tehnologie farmaceutică industrială*. Cluj Napoca: Dacia, 2001. ISBN 973-35-1089-0.
98. LEUCUȚĂ, S.E. ș.a. *Tehnologie farmaceutică industrială. Procedee de laborator*. Ed. a II-a. Cluj Napoca: Editura Medicală Universitară “Iuliu Hațieganu”, 2010. ISBN 973-693-134-X.
99. UNCUI, L., **BOBROV, E.**, UNCUI, 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”, Probleme medico-biologice și farmaceutice*, 2010, vol. 1, ed. a XIII-a, pp. 259-262. ISSN 1857-1719.
100. **BOBROV, E.** et al. Pharmaceutical bioavailability of combined ointments with izohydrfural and methyluracil. In: *Abstract Book of the 4th International Medical Congress for Students and Young Doctors, May 17-19, 2012*, Chisinau, Republic of Moldova, p. 250-251. ISBN 978-9975-47-174-9.

101. **DONICI, E.,** PLEȘACOVA, E. Evaluarea cineticii de cedare in vitro a fluocinolonului acetamid din unguente combinate. În: *Revista farmaceutică a Moldovei. Materialele primului congres al Asociației Studenților Farmaciști din Republica Moldova consacrat Anului Nicolae Testemițanu*. 2017, nr. 1-2, pp. 36. ISSN 1812-5077.
102. Monografie farmaceutică – “<1724> Semisolid drug products – performance tests” [online]. *Pharmacopeia USP 32*. [citată 12.02.2017]. Disponibil: https://www.drugfuture.com/Pharmacopoeia/usp38/data/v38332/usp38nf33s2_c1724.html.
103. VÎSLOUH, O. ș.a. Aplicarea metodei HPLC în cadrul laboratorului analiză, standardizare și controlul medicamentelor a centrului științific în domeniul medicamentelor. *Revista farmaceutică a Moldovei*. 2014, nr. 3-4, pp. 56. ISSN 1812-5077.
104. TIHON, I., UNCULEA, L. Analiza izohidrafuralului prin Spectroscopie de Rezonanță Magnetică Nucleară. În: *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe Medicale*. 2010, nr. 1(24), pp. 119-123. ISSN 1857-0011.
105. Государственная Фармакопея Российской Федерации, из. XII, часть I, 2007, с. 588-589.
106. Государственная Фармакопея Республики Беларусь, из. II, т. 3, 2009, с. 728.
107. Farmacopea Română, ediția a X-a, Supliment 2009, Ed. medicală, 2009.
108. European Pharmacopoeia, the 9th edition, vol. 1, 2017.
109. Japanese Pharmacopoeia, the 17th edition, 2016, p. 946-947.
110. Monografie farmaceutică – “Fluocinolone Acetonide” [online]. *Pharmacopeia USP 32*. [citată 18.08.2018]. Disponibil: http://www.uspbpep.com/usp32/pub/data/v32270/usp32nf27s0_m33440.html.
111. Monografie farmaceutică – “Fluocinolone Acetonide Cream” [online]. *Pharmacopeia USP 32*. [citată 18.08.2018]. Disponibil: http://www.uspbpep.com/usp32/pub/data/v32270/usp32nf27s0_m33450.html.
112. Monografie farmaceutică – “Fluocinolone Acetonide Ointment” [online]. *Pharmacopeia USP 32*. [citată 18.08.2018]. Disponibil: http://www.uspbpep.com/usp32/pub/data/v32270/usp32nf27s0_m33460.html.
113. Monografie farmaceutică – “Fluocinolone Acetonide Topical Solution” [online]. *Pharmacopeia USP 32*. [citată 18.08.2018]. Disponibil: http://www.uspbpep.com/usp32/pub/data/v32270/usp32nf27s0_m33470.html.
114. Monografie farmaceutică – “Neomycin Sulfate and Fluocinolone Acetonide Cream” [online]. *Pharmacopeia USP 32*. [citată 18.08.2018]. Disponibil: http://www.uspbpep.com/usp32/pub/data/v32270/usp32nf27s0_m55945.html.

115. PARII, B. ș. a. Medicamente autohtone combinate – actualități și perspective. Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. 2010, nr. 1(24), pp. 33-36. ISSN 1875-0011.
116. GHICA, M.V. și a. Flow and thixotropic parameters for rheological characterization of hydrogels. In: *Molecules*. 2016, vol. 21, p. 786-803. ISSN 1420-3049.
117. LEUCUȚĂ, S.E., TOMUȚĂ, I. *Planuri experimentale și optimizarea formulării medicamentelor*. Cluj Napoca: Risoprint, 2011. ISBN 978-973-53-0630-4.
118. MITITELU, M., HÎNCU, L. Formularea unor unguente cu clorhidrat de ciprofloxacina 2%. In: *Craiova Medicală*. 2007, vol. 9, nr.1, pp. 56-59. ISSN 1454-6876.
119. CIOBANU, N., UNCULEA, L., **BOBROV, E.** și a. Elaborarea formulei unguentului combinat cu izohidrafural și metiluracil și a metodei de extracție a principiilor active din forma farmaceutică. În: *Anale științifice ale Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”*, Probleme medico-biologice și farmaceutice, 2010, vol. 1, pp. 420-423. ISSN 1857-1719.
120. **BOBROV, E.**, VÎSLOUH, O., SUVORCHINA, O. Elaboration of principle extractive method from skin ointment containing izohidrafural and methyluracil. In: *Abstract Book of the 3rd International Medical Congress for Students and Young Doctors, May 19-21, 2010*, Chisinau, Republic of Moldova, p. 103-104. ISBN 978-9975-47-174-9.
121. GHEORGHIȘ, T., **DONICI, E.** The development of the technology of preparation of a new, original, combined ointment containing izohidrafural, methyluracil and benzocaine. In: *Abstract Book of the 6th International Medical Congress for Students and Young Doctors, May 12-14, 2016*, Chisinau, Republic of Moldova, p. 339-340. ISBN 978-9975-47-174-9.
122. **DONICI, E.** și a. Elaborarea tehnologiei de preparare a unui unguent nou, combinat cu conținut de izohidrafural, metiluracil și floclonol acetonic. În: *Volum de rezumate al Congresului Național de Farmacie din România, Farmacia – centru al interdisciplinarității științelor vieții ed. a XVI-a*, 28 septembrie-01 octombrie, 2016, București, România, p.270. ISSN 2537-2823.
123. AHUJA, S., RASMUSSEN, H. HPLC method development for pharmaceuticals. Oxford: Elsevier, 2007. p. 513.
124. 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, [cit. 12.02.2017]. Disponibil: http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q2_R1/Step4/Q2_R1_Guideline.pdf.

125. OPREAN, R. et al. *Ghid de validare a procedurilor analitice cantitative*. Cluj Napoca: Editura Medicală Universitară "Iuliu Hațieganu", 2007. ISBN 973-693-207-9, 978-973-693-207-6.
126. TEHRANI, M.B., NAMADCHIAN, M., VATAN, S.F., SOURI, E. Derivative spectrophotometric method for simultaneous determination of clindamycin phosphate and tretinoin in pharmaceutical dosage form. In: *DARU Journal of Pharmaceutical sciences*. 2013, vol. 21, pp. 29-36. ISSN 2008-2231.
127. ИЛИЕВ, К.И., КОБЕЛЕВА, Т.А., СИЧКО, А.И. Химический анализ новой лекарственной формы "Анедиклозол". В: *Фармацевтические науки*. 2015, № 2, с. 323-329. ISSN 2227-6017 (online), 2303-9868 (print).
128. DIAS, L., MALLAYA, R., PATANI, K. Development and validation of new RP-HPLC method for estimation of mephenesin and ibuprofen. In: *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 2016, vol. 7, nr. 12, pp. 4971-4977. ISSN 0975-8232 (print), 2320-5148 (online).
129. SAINI, N. et al. Determination of benzocaine, clorbutol, p-dichlorobenzene and a-pinene in pharmaceutical preparation by gas chromatography with flame ionization detector. In: *International Journal of pharmaceutical and biological archives*. 2011, vol. 2, nr. 5, pp. 1529-1533. ISSN 0976-3333.
130. SAVCHENKO, L.P., IVANUSKAS, L., GEORGIYANTS, V.A. Development and validation of the UPLC method for the simultaneous assay of the compounding ointment components. In: *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 2018, 8(5), pp. 61-67. ISSN 2231-3354.
131. **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.
132. **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.
133. **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.

134. BHUYIAN, H.U., RASHID, H.A., ISLAM, A.F.M. Development and validation of method for determination of clobetasol propionate and salicylic acid from pharmaceutical dosage form by HPLC. In: *BJPR*. 2015, nr. 7(5), pp. 375-385. ISSN 2231-2919.
135. SALEM, A.E., MOHAMED, E.A., ELGHADBAN, H.M., ABDELGHANI, G.M. Potential combination topical therapy of anal fissure: development, evaluation and clinical study. In: *Drug Delivery*. 2018, vol. 25, nr. 1, pp. 1672-1682. ISSN 1071-7544 (print), 1521-0464 (online).
136. STANKOVIC, M., SAVIC, V., MARINKOVIC, V. Development of formulations for vaginal gel carrier in the pharmacy – a regulatory and quality aspect. In: *Acta facultatis medicae naissensis*. 2012, vol. 29, nr.1, pp. 23-30. ISSN 03516083.
137. VERMA, A. et al. Formulation, optimization and evaluation of clobetasol propionate gel. In: *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2013, vol. 5, nr. 4, pp. 666-674. ISSN 0975-1491.
138. GOYAL, G. et al. Development and characterization of niosomal gel for topical delivery of benzoyl peroxide. In: *Drug Delivery*. 2013, nr. 22, vol. 8, pp. 1027-1042. ISSN 1071-7544 (print), 1521-0464 (online).
139. KIM, K.T. et al. Microemulsion-based hydrogels for enhancing epidermal/dermal deposition of topically administered 20(S)-protopanaxadiol: *in vitro* and *in vivo* evaluation studies. In: *Journal of Ginseng Research*. 2018, nr. 42, pp. 512-523. ISSN 1226-8453.
140. PARNAMI, N.P., GARG, T., RATH, G., GOYAL, A.K. Development and characterization of nanocarriers for topical treatment of psoriasis by using combination therapy. In: *Artificial cells, nanomedicine, and Biotechnology*. 2014, nr. 42, vol. 6, pp. 406-412. ISSN 2169-1401 (print), 2169-141X (online).
141. BORA, A., DESHMUKH, S., SWAIN, K. Recent advances in semisolid dosage form. In: *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 2014, vol. 5, nr. 9, pp. 3596-3609. ISSN 0975-8232 (print), 2320-5148 (online).
142. MASTROPIETRO, D.J., NIMROOZI, R., OMIDIAN, H. Rheology in pharmaceutical formulations – a perspective. In: *Journal of Developing Drugs*. 2013, vol. 2, pp. 108-114. ISSN 2329-6631.
143. VIJAY, S., KUCHEKAR, B.S., SWATI, J. Development and optimization of site targeted topical delivery of norfloxacin emulgel. In: *JPN*. 2015, vol. 3, nr. 3, pp. 22-34. ISSN 2347-7857 (online), 2347-7849 (print).

144. CHAKOLE, C.M., SHENDE, M.A., KHADATKAR, S.N. Formulation and evaluation of novel combined halobetasol propionate and fusidic acid ointment. In: *International Journal of ChemTech Research*. 2009, vol.1, nr.1, pp. 103-116. ISSN 0974-4290.
145. BONACUCINA, G., MARTELLI, S., PALMIERI, G.F. Rheological, mucoadhesive and release properties of Carbopol gels in hydrophilic cosolvents. In: *International Journal of Pharmaceutics*. 2004, nr. 282, pp. 115-130. ISSN 0378-5173.
146. GHADA, E.Y. Formulation and evaluation of optimized clotrimazole emulgel formulations. In: *British Journal of Pharmaceutical Research*. 2014, 4(9), pp. 1014-1030. ISSN 2231-2919.
147. ICH Harmonised Tripartite Guideline *Q1A(R2): Stability Testing of New Drug Substances and Products* 2003.
148. ICH Harmonised Tripartite Guideline *Topic Q1C: Stability Testing For New Dosage Forms*, 2003.
149. THOMSON, K.S. et al. A Novel Topical Combination Ointment with Antimicrobial Activity against Methicillin-Resistant *Streptococcus aureus*, Gram-Negative Superbugs, Yeasts, and Dermatophytic Fungi. In: *Curr. Ther. Res. Clin. Exp.* 2016, nr. 83, pp. 8-12. ISSN 0011-393X (print), 1879-0313 (electronic).
150. SHUKR, M., METWALLY, G.F. Evaluation of topical gel bases formulated with various essential oils for antibacterial activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. In: *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 2013, 12(6), pp. 877-884. ISSN 1596-5996 (print), 1596-9827 (online).
151. GHANNADI, A. et al. Efficacy of a Combined Rosemary and Lavender Topical Ointment in the Treatment of Patients with Osteoarthritis of the Knee. In: *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*. 2013, 15(6), pp. 29-33. ISSN 2383-2894.
152. MORE, B.H., SAKHARWADE, S.N., TEMBHURNE, S.V., SAKARKAR, D.M. Evaluation for skin irritancy testing of developed formulations containing extract of *Butea monosperma* for its topical application. In: *International Journal of Toxicology and Applied Pharmacology*. 2013, 3(1), pp. 10-13. ISSN 0041-008X.
153. BALATA, G., NAHAS, H.M.E., RADWAN, S. Propolis organogel as a novel topical delivery system for treating wounds. In: *Drug delivery*. 2014, 21(1), pp. 56-61, ISSN 1071-7544 (print), 1521-0464 (online).
154. **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, p. 185-188.

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

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

ANEXE

Anexa 1. Avizul Comitetului de Etică a Cercetării USMF “Nicolae Testemițanu”

MINISTERUL SĂNĂTĂȚII AL REPUBLICII MOLDOVA

INSTITUȚIA PUBLICĂ
UNIVERSITATEA
DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
«NICOLAE TESTEMIȚANU»
DIN REPUBLICA MOLDOVA



MINISTRY OF HEALTH OF THE REPUBLIC OF MOLDOVA

PUBLIC INSTITUTION
NICOLAE TESTEMIȚANU
STATE UNIVERSITY
OF MEDICINE AND PHARMACY
OF THE REPUBLIC OF MOLDOVA

MD 2004, Chișinău, bd. Ștefan cel Mare și Sfânt, 165; tel. (+37322) 20-57-01; fax: (+37322) 24-23-44; rector@usmf.md; www.usmf.md

nr. 9
la nr. 9 din 04.11.2014

Aviz favorabil al Comitetului de Etică a Cercetării

La Proiectul științific de doctorat cu titlul „*Elaborarea, analiza și standardizarea formelor farmaceutice combinate cu conținut de Izohidrafural*”, realizat de Donici Elena; conducătorul științific : Uncu Livia - doctor în științe farmaceutice, conferențiar universitar; consultant științific: Prisăcari Viorel - doctor habilitat în științe medicale, profesor universitar.

Comitetul de Etică a Cercetării USMF „Nicolae Testemițanu” , examinând la ședința din 20 octombrie 2014 următoarele documente:

1. Forma de solicitare pentru evaluare etică a cercetării.
2. Protocolul proiectului.
3. Adnotarea la teza de doctor în științe farmaceutice.
4. CV-urile conducătorului științific, consultantului științific și al doctorandului.

A decis că proiectul de cercetare „*Elaborarea, analiza și standardizarea formelor farmaceutice combinate cu conținut de Izohidrafural*”, corespunde exigențelor etice.

Lista nominală a membrilor CEC prezenți în ședință: Spinei Larisa, Gramma Rodica, Bețiu Mircea, Diug Eugen, Rusu Natalia, Paulescu Andrei, Nacu Viorel, Tagadiuc Olga, Rojnoveanu Gheorghe, Gavriliuc Mihail.

Președintele
Comitetului de Etică a Cercetării

Mihail Gavriliuc

Anexa 2. Tabelul A 2. Lista medicamentelor combinate, dermatologice autorizate în Republica Moldova la 27.12.2017

<i>Nr. d/o</i>	<i>Denumirea comercială</i>	<i>Firma și țara producătoare</i>	<i>DCI</i>	<i>Forma(e) farmaceutică(e)</i>	<i>Data înregistrării</i>	<i>ATC</i>
1.	Acerbine	Pharmazeutische Fabrik Montavit Ges.m.b.H., Austria	Acidum malicum + Acidum benzoicum + Acidum salicylicum	Unguent, Aerosol cutanat	31.12.2013	D03AX
2.	Akriderm SC	Akrihin SAD, Rusia	Betamethasonum + Acidum salicylicum	Unguent	16.07.2013	D07XC01
3.	Akriderm GC	Akrihin SAD, Rusia	Betamethasonum + Clotrimazolum + Gentamicinum	Cremă	16.07.2013	D07CC01
4.	Akriderm Genta	Akrihin SAD, Rusia	Betamethasonum + Gentamicinum	Cremă	16.07.2013	D07CC01
5.	Anticlavus	Beta SRL, Republica Moldova	Viridum nitens + Acidum salicylicum	Soluție cutanată	20.03.2013	D11AF
6.	Baneocin	Sandoz GmbH, Austria	Bacitracinum + Neomycinum	Unguent	12.04.2016	D06AX
7.	Bepansept	Bayer S.R.L., România	Dexpanthenolum + Chlorhexidinum dihydrochloridum	Cremă	21.12.2015	D03AX03
8.	Bethagen	Bosnalijek, Pharmaceutical and Chemical Industry JSC, Bosnia și Herțegovina	Betamethasonum + Gentamicinum	Cremă	28.05.2014	D07CC01
9.	Betasalic	Kievmedpreparat SAP, Ucraina	Betamethasonum + Acidum salicylicum	Unguent	23.10.2012	D07XC01
10.	Cathejell cu lidocaina	Pharmazeutische Fabrik Montavit Ges.m.b.H., Austria	Lidocaini hydrochloridum + Chlorhexidini hydrochloridum	Gel	24.05.2013	N01BB52
11.	Cloromicol	Farmaprim SRL, Republica Moldova	Chloramphenicolum + Methyluracilum	Unguent	20.03.2013	D06C
12.	Cloromicol-S	Farmaprim SRL, Republica Moldova	Chloramphenicolum + Methyluracilum+Sulpha dimetoxinum+Trimecaini hydrochloridi	Unguent	16.09.2013	D06C
13.	Depantol	Nijfarm SA, Rusia	Dexpanthenol + Chlorhexidinum bigluconat	Cremă	27.01.2014	D08AC52
14.	Dermobacter	Laboratoire Innotech International, Franța	Benzalkonii chloridum + Chlorhexidinum	Soluție cutanată	09.09.2016	D08AC52
15.	Dioxizol-Darnita	Darnita SAP, Ucraina	Dioxydinum + Lidocaini hydrochloridum	Soluție cutanată	29.04.2014	D08AX
16.	Diprosalic	Schering-Plough Central East AGm Elveția	Betamethasonum + Acidum salicylicum	Unguent	17.09.2012	D07XC01
17.	Dixipantol	Farmaprim SRL, Republica Moldova	Dexpanthenol + Chlorhexidinum bigluconat	Cremă	09.08.2012	D08AC52
18.	Duofilm	GlaxoSmithKline Consumer Healthcare SRL, România	Acidum salicylicum + Acidum lacticum	Soluție cutanată	29.04.2014	D11AF
19.	Exocort	Farmaprim SRL, Republica Moldova	Hydrocortisonum + Oxytetracyclinum	Unguent	24.02.2014	D07CA01
20.	Fluocinolon N Atb	Antibiotice SA, SC, Romania	Fluocinoloni acetamidum + Neomycinum	Unguent	31.12.2013	D07CC02
21.	Fungoterbin NEO	Nijfarm SAD, Rusia	Terbinafinum + Ureum	Gel	31.12.2013	D01AE
22.	Glametazon	Farmaprim SRL, Republica Moldova	Betamethasonum + Acidum salicylicum	Unguent	28.02.2013	D07XC01
23.	Hioxizon	Nijfarm SAD, Rusia	Hydrocortisonum + Oxytetracyclinum	Unguent	24.05.2013	D07CA01
24.	Jojoderm	Farmaprim SRL, Republica Moldova	Zinci oxidum + Oleum seminis Simmondsiae chinensis	Unguent	28.05.2014	D02AB

<i>Nr. d/o</i>	<i>Denumirea comercială</i>	<i>Firma și țara producătoare</i>	<i>DCI</i>	<i>Forma(e) farmaceutică(e)</i>	<i>Data înregistrării</i>	<i>ATC</i>
25.	Klyntopic	Farmaprim SRL, Republica Moldova	Clindamycinum + Benzoyl peroxidum	Gel	22.01.2015	D10AF51
26.	Levobior	Universal-Farm SRL, Republica Moldova	Chloramphenicolium + BioR	Unguent	16.07.2013	D03AX
27.	Levomecol	Nijfarm SAD, Rusia	Chloramphenicolium + Methyluracilum	Unguent	22.12.2012	D06C
28.	Levosin	Nijfarm SAD, Rusia	Chloramphenicolium + Methyluracilum + Sulphadimetoxinum + Trimecaini hydrochloridum	Unguent	01.07.2013	D06C
29.	L-mecol	Universal-Farm SRL, Republica Moldova	Chloramphenicolium + Methyluracilum	Unguent	16.09.2013	D03AX
30.	Lorinden A	Valeant SRL, Rusia	Flumetasonum + Acidum salicylicum	Unguent	09.06.2017	D07XB30
31.	Mykoseptin	Zentiva k.s., Cehia	Acidum undecylenicum + Zinci undecylenas	Unguent	30.03.2017	D01AE04
32.	Nidoflor	Antibiotice SA, SC, România	Nystatinum + Neomycinum + Triamcinolonum	Cremă	25.06.2014	D07CB01
33.	Oflocain-Darnita	Darnita SAP, Ucraina	Ofloxacinum + Lidocainum	Unguent	28.05.2014	D06BX
34.	Oxycort	Jelfa SA, Polonia	Hydrocortisonum + Oxytetracyclinum	Unguent	23.10.2012	D07CA01
35.	Oxycort	Polfa SA, Tarchomin, Polonia	Hydrocortisonum + Oxytetracyclinum	Aerosol cutanat	31.10.2014	D07CA01
36.	Pantestin-Darnita	Darnita SAP, Ucraina	Dexpanthenolum + Myramistinum	Gel	09.06.2017	D03AX
37.	Pimafucort	LEO Pharma A/S, Danemarca	Natamycinum + Neomicinum + Hydrocortisonum	Unguent, Cremă	10.11.2015	D07CA01
38.	Polcortolon TC	Polfa SA, Tarchomin, Polonia	Tetracyclinum + Triamcinolonum	Aerosol cutanat	01.10.2014	D07CB01
39.	Stiderm Gel	Bilim Ilac Sanayi Ve Ticaret A.S., Turcia	Mepyraminum maleas + Lidocainum hydrochloridum + Dexpanthenolum	Gel	30.07.2015	D04AB01
40.	Travazol	Bilim Ilac Sanayi Ve Ticaret A.S., Turcia	Isoconazolum + Diflucortolonum	Cremă	10.11.2015	D01AC20
41.	Travocort	Bayer Pharma AG, Germania	Isoconazolum + Diflucortolonum	Cremă	23.07.2012	D01AC20
42.	Tricort-GC	Plethico Pharmaceuticals Ltd, India	Betamethasonum + Clotrimazolum + Gentamicinum	Cremă	01.07.2013	D07CC01
43.	Triderm	Schering-Plough Central East AG, Elvetia	Betamethasonum + Clotrimazolum + Gentamicinum	Unguent	09.06.2017	D07CC01
44.	Triderm	Schering-Plough Central East AG, Elvetia	Betamethasonum + Clotrimazolum + Gentamicinum	Cremă	09.09.2016	D07CC01
45.	Trimistin-Darnița	Darnita SAP, Ucraina	Triamcinolonum + Myramistinum	Unguent	25.11.2014	D07BB03
46.	Wishnevsky	Farmaprim SRL, Republica Moldova	Gudron de mesteacăn + Xeroform	Liniment	20.03.2013	D08AX
47.	Zineryt	LEO Pharma A/S, Danemarca	Erythromycinum + Zinci acetas	Soluție cutanată	22.12.2012	D10AF52

Anexa 3. Tabelul A 3. Rezultatele termooanalitice DSC ale substanțelor medicamentoase și excipienților individuali precum și în amestecuri binare

Probele		Domeniul de topire/fierbere (°C)	Temperatura maximă de topire/fierbere (°C)	Entalpia de topire (J/g)
Izohidrafural		255,56-260,37	257,28	805,03
Metiluracil		310,69-314,42	310,62	525,52
Fluocinolon acetomid		276,48-280,40	277,82	93,40
Benzocaină		88,22-90,01	89,25	85,47
PEG 400		243,32-251,81	247,63	983,0
PEG 1500		46,71-50,36	47,50	978,0
Propilenglicol		184,95-198,64	187,23	633,79
Alcool cetostearilic		44,16-49,01	46,97	327,49
Izohidrafural/Metiluracil 1:1=m/m	Izohidrafural Metiluracil	236,38-239,98	237,51	450,72
		277,59-300,25	294,66	110,15
Izohidrafural/Benzocaină 1:1=m/m	Izohidrafural Benzocaină	239,38-240,08	239,98	420,78
		88,14-90,25	89,66	110,47
Izohidrafural/Fluocinolon acetomid 1:1=m/m	Izohidrafural Fluocinolon acetomid	255,78-260,38	257,41	178,80
		—	—	—
Izohidrafural/PEG 400 1:1=m/m	Izohidrafural PEG 400	228,06-228,76	228,43	195,0
		—	—	—
Izohidrafural/PEG 1500 1:1=m/m	Izohidrafural PEG 1500	—	—	—
		45,14-49,82	48,01	875,0
Izohidrafural/Propilenglicol 1:1=m/m	Izohidrafural Propilenglicol	260,99-263,87	261,75	61,34
		149,66-153,73	150,37	107,31
Izohidrafural/Alcool cetostearilic 1:1=m/m	Izohidrafural Alcool cetostearilic	254,23-255,88	255,75	191,75
		45,66-48,73	47,37	107,31
Metiluracil/Benzocaină 1:1=m/m	Metiluracil Benzocaină	291,66-320,02	319,78	486,34
		87,94-90,05	89,96	87,63
Metiluracil/PEG 400 1:1=m/m	Metiluracil PEG 400	281,51-300,07	294,62	159,25
		—	—	—
Metiluracil/PEG 1500 1:1=m/m	Metiluracil PEG 1500	281,53-300,02	294,78	159,25
		45,14-49,82	48,01	875,0
Benzocaină/PEG 400 1:1=m/m	Benzocaină PEG 400	88,84-90,85	90,56	84,23
		243,84-250,28	247,23	895,05
Benzocaină/PEG 1500 1:1=m/m	Benzocaină PEG 1500	45,14-49,82	48,01	875,0
		—	—	—
Fluocinolon acetomid/Propilenglicol 1:1=m/m	Fluocinolon acetomid Propilenglicol	276,74-278,99	277,75	57,19
		119,66-161,73	157,37	107,31
Fluocinolon acetomid/Alcool cetostearilic 1:1=m/m	Fluocinolon acetomid Alcool cetostearilic	256-74-268,99	260,75	57,19
		44,16-49,01	46,97	327,49
Propilenglicol/Alcool cetostearilic 1:1=m/m	Propilenglicol Alcool cetostearilic	119,63-161,71	157,39	275,01
		45,64-48,72	47,38	341,22

Anexa 4. Caracteristicile spectrelor FTIR

Tabelul A 4.1. Caracteristicile spectrelor FTIR ale substanțelor medicamentoase și excipienților individuali

Gruparea funcțională	Tip de vibrație	Domeniul de absorbție, cm ⁻¹	Intensitatea și forma benzii de absorbție
Izohidrafural			
-NO ₂	N-O, de valență simetrică	1347,8 1555-1485	<i>m</i> [*] , îngustă 1 bandă <i>m</i> , îngustă și 2 benzi <i>m</i> , de lățime medie
NH-C=O	de valență	1681,9 3121,8	<i>i</i> [*] , îngustă <i>m</i> , îngustă
Metiluracil			
-CH ₃	de valență antisimetrică	2802-3091	<i>s</i> [*] , 5 benzi înguste
R-CO-NH-R ₁	de valență	1616-1707	<i>i</i> , 1 bandă îngustă <i>i</i> , 1 bandă lată
Benzocaină			
-NH ₂	de valență	3000-3400	4 benzi <i>m</i> , de lățime medie
-COOC ₂ H ₅	de valență	1679,0	<i>i</i> , 1 bandă îngustă
Fluocinolon acetonid			
C-H din ciclul steroidic	de valență	3388,7	<i>m</i> , lățime medie
-C=O	de valență antisimetrică	1667,7 1707,9	<i>i</i> , îngustă <i>m</i> , îngustă
C-F	de valență	908,0	<i>i</i> , îngustă
PEG 400			
O-H	de valență	3439,8	<i>m</i> , lată
C-H	de valență	2867,9	<i>m</i> , îngustă
C-O-C	de valență	1094,6	<i>m</i> , lată
PEG 1500			
O-H	de valență	3400,0	<i>m</i> , lată
C-H	de valență	2870,0	<i>m</i> , îngustă
C-O-C	de valență	1092,2	<i>i</i> , lată
Propilenglicol			
O-H	de valență	3307,9	<i>m</i> , lată
-OCH ₃	de valență	1038,6	<i>m</i> , îngustă
-CH ₃	de valență antisimetrică	2876-2971	<i>s</i> , 3 benzi înguste
Alcool cetostearilic			
O-H	de valență	3272,3 1060,7	<i>m</i> , lată <i>m</i> , îngustă
-CH ₃	de valență antisimetrică	2848-2956	<i>i</i> , 2 benzi înguste
-CH ₂ -	de valență	1463,0 719,5	<i>m</i> , îngustă <i>m</i> , îngustă

* *i* – intensă, *m* – medie, *s* – slabă.

Tabelul A 4.2. Caracteristicile spectrelor FTIR ale amestecurilor binare dintre substanță medicamentoasă/ substanță medicamentoasă

Proba	Grupa funcțională	Domeniul de absorbție, cm ⁻¹	Intensitatea și forma benzii de absorbție
Amestec izohidrafural/ metiluracil			
Izohidrafural	-NO ₂	1349,0 1555-1485	<i>m</i> [*] , îngustă 1 bandă <i>m</i> , îngustă și 2 benzi <i>m</i> , de lățime medie
	NH-C=O	1682,1 3121,6	<i>i</i> [*] , îngustă <i>m</i> , îngustă
Metiluracil	-CH ₃	2802-3091	<i>s</i> [*] , 5 benzi înguste
	R-CO-NH-R ₁	1709,8	<i>m</i> , 1 bandă lată
Amestec izohidrafural/ benzocaină			
Izohidrafural	-NO ₂	1348,0 1555-1485	<i>m</i> [*] , îngustă 1 bandă <i>m</i> , îngustă și 2 benzi <i>m</i> , de lățime medie
	NH-C=O	1681,1 3122,7	<i>i</i> [*] , îngustă <i>m</i> , îngustă
Benzocaină	-NH ₂	3000-3400	4 benzi <i>m</i> , de lățime medie
	-COOC ₂ H ₅	1679,0	<i>i</i> , 1 bandă îngustă
Amestec metiluracil/ benzocaină			
Metiluracil	-CH ₃	2802-3091	<i>s</i> [*] , 5 benzi înguste
	R-CO-NH-R ₁	1710,1	<i>m</i> , 1 bandă lată
Benzocaină	-NH ₂	3000-3400	4 benzi <i>m</i> , de lățime medie
	-COOC ₂ H ₅	1678,9	<i>i</i> , 1 bandă îngustă
Amestec izohidrafural/ fluocinolon acetonid			
Izohidrafural	-NO ₂	1555-1485	1 bandă <i>m</i> , îngustă și 2 benzi <i>m</i> , de lățime medie
	NH-C=O	1682,1 3121,2	<i>i</i> , îngustă <i>s</i> , îngustă
Fluocinolon acetonid	C-H din ciclul steroidic	3398,2	<i>m</i> , lățime medie
	-C=O	1668,3 1708,0	<i>i</i> , îngustă <i>m</i> , îngustă
	C-F	908,3	<i>i</i> , îngustă

* *i* – intensă, *m* – medie, *s* – slabă.

Tabelul A 4.3. Caracteristicile spectrelor FTIR ale amestecurilor binare dintre substanță medicamentoasă/ excipient

Proba	Grupa funcțională	Domeniul de absorbție, cm ⁻¹	Intensitatea și forma benzii de absorbție
Amestec izohidrafural/ PEG 400			
Izohidrafural	-NO ₂	1347,9 1555-1485	<i>m</i> [*] , îngustă 1 bandă <i>m</i> , îngustă și 2 benzi <i>m</i> , de lățime medie
	NH-C=O	1681,7 3121,8	<i>m</i> , îngustă <i>s</i> , îngustă
PEG 400	O-H	3428,8	<i>m</i> , lată
	C-H	2870,7	<i>m</i> , îngustă
	C-O-C	1094,8	<i>m</i> , lată
Amestec izohidrafural/ PEG 1500			
Izohidrafural	-NO ₂	1347,4 1555-1485	<i>m</i> [*] , îngustă 1 bandă <i>m</i> , îngustă și 2 benzi <i>m</i> , de lățime medie
	NH-C=O	1681,8 3121,8	<i>m</i> , îngustă <i>s</i> , îngustă
PEG 1500	O-H	3401,0	<i>m</i> , lată
	C-H	2870,2	<i>m</i> , îngustă
	C-O-C	1092,1	<i>m</i> , lată
Amestec izohidrafural/ propilenglicol			
Izohidrafural	-NO ₂	1347,2 1555-1485	<i>m</i> [*] , îngustă 1 bandă <i>m</i> , îngustă și 2 benzi <i>m</i> , de lățime medie
	NH-C=O	1681,8 3121,9	<i>m</i> , îngustă <i>s</i> , îngustă
Propilenglicol	O-H	3332,4	<i>m</i> , lată
	-OCH ₃	1040,8	<i>m</i> , îngustă
	-CH ₃	2876-2971	<i>s</i> , 3 benzi înguste
Amestec izohidrafural/ alcool cetostearilic			
Izohidrafural	-NO ₂	1347,9 1555-1485	<i>m</i> [*] , îngustă 1 bandă <i>m</i> , îngustă și 2 benzi <i>m</i> , de lățime medie
	NH-C=O	1682,3 3122,4	<i>m</i> , îngustă <i>s</i> , îngustă
Alcool cetostearilic	O-H	3277,2 1061,2	<i>m</i> , lată <i>m</i> , îngustă
	-CH ₃	2848-2956	<i>i</i> , 2 benzi înguste
	-CH ₂ -	1464,0 719,8	<i>m</i> , îngustă <i>m</i> , îngustă
Amestec metiluracil/ PEG 400			
Metiluracil	-CH ₃	2802-3091	<i>s</i> [*] , 2 benzi înguste
	R-CO-NH-R ₁	1616-1707	<i>m</i> [*] , 1 bandă îngustă <i>m</i> , 1 bandă lată

PEG 400	O-H	3429,0	<i>m</i> , lată
	C-H	2862,1	<i>m</i> , îngustă
	C-O-C	1096,4	<i>m</i> , lată
Amestec metiluracil/ PEG 1500			
Metiluracil	-CH ₃	2802-3091	<i>s</i> , 2 benzi înguste
	R-CO-NH-R ₁	1616-1707	<i>m</i> , 1 bandă îngustă <i>m</i> , 1 bandă lată
PEG 1500	O-H	3428,3	<i>m</i> , lată
	C-H	2860,1	<i>m</i> , îngustă
	C-O-C	1095,4	<i>m</i> , lată
Amestec benzocaină/ PEG 400			
Benzocaină	-NH ₂	3000-3400	4 benzi <i>m</i> , de lăţime medie
	-COOC ₂ H ₅	1678,7	<i>i</i> , 1 bandă îngustă
PEG 400	O-H	3427,0	<i>m</i> , lată
	C-H	2860,1	<i>m</i> , îngustă
	C-O-C	1096,7	<i>m</i> , lată
Amestec benzocaină/ PEG 1500			
Benzocaină	-NH ₂	3000-3400	4 benzi <i>m</i> , de lăţime medie
	-COOC ₂ H ₅	1679,1	<i>i</i> , 1 bandă îngustă
PEG 1500	O-H	3428,8	<i>m</i> , lată
	C-H	2859,7	<i>m</i> , îngustă
	C-O-C	1093,4	<i>m</i> , lată
Amestec fluocinolon acetamid/ propilenglicol			
Fluocinolon acetamid	C-H din ciclul steroidic	3388,7	<i>m</i> , lăţime medie
	-C=O	1667,7 1707,9	<i>i</i> [*] , îngustă <i>m</i> , îngustă
	C-F	908,0	<i>i</i> , îngustă
Propilenglicol	O-H	3332,4	<i>m</i> , lată
	-OCH ₃	1040,8	<i>m</i> , îngustă
	-CH ₃	2876-2971	<i>s</i> , 3 benzi înguste
Amestec fluocinolon acetamid/ alcool cetostearilic			
Fluocinolon acetamid	C-H din ciclul steroidic	3388,3	<i>m</i> , lăţime medie
	-C=O	1668,0 1707,8	<i>i</i> [*] , îngustă <i>m</i> , îngustă
	C-F	908,2	<i>i</i> , îngustă
Alcool cetostearilic	-CH ₃	2848-2956	<i>i</i> , 2 benzi înguste
	-CH ₂ -	1465,4 720,0	<i>m</i> , îngustă <i>m</i> , îngustă

* *i* – intensă, *m* – medie, *s* – slabă.

Tabelul A 4.4. Caracteristicile spectrelor FTIR ale amestecurilor binare dintre excipient/ excipient

Proba	Gruparea funcțională	Domeniul de absorbție, cm ⁻¹	Intensitatea și forma benzii de absorbție
Amestec propilenglicol/ alcool cetostearilic			
Propilenglicol	O-H	3302,1	<i>m</i> , lată
	-OCH ₃	1040,2	<i>m</i> , îngustă
	-CH ₃	2876-2971	<i>s</i> , 3 benzi înguste
Alcool cetostearilic	-CH ₃	2848-2956	<i>i</i> , 2 benzi înguste
	-CH ₂ -	1462,6 719,3	<i>m</i> , îngustă <i>m</i> , îngustă

* *i* – intensă, *m* – medie, *s* – slabă.

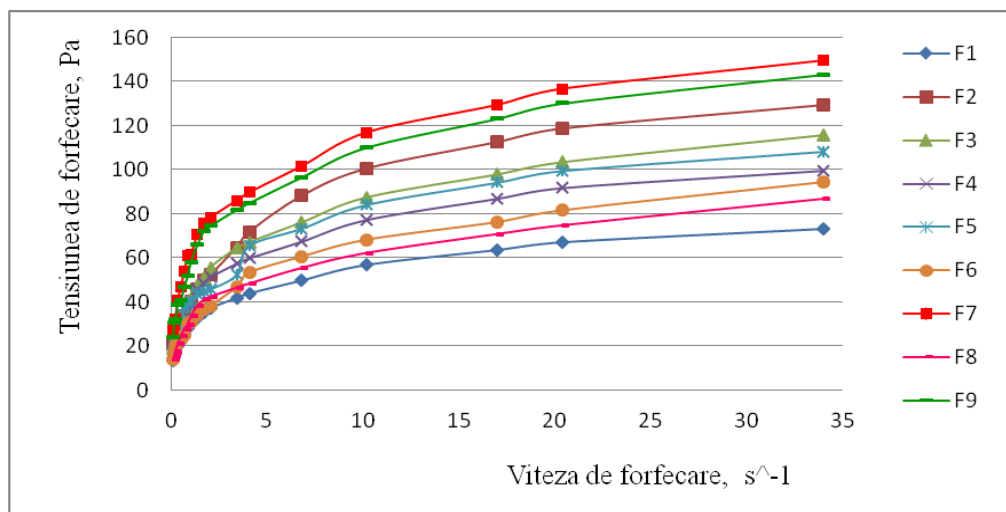
Anexa 5. Determinarea parametrilor reologici pentru formulările unguentului combinat cu conținut de izohidrafural și metiluracil

Tabelul A 5.1. Rezultatele determinării tensiunii de forfecare în funcție de viteza de forfecare la 22±0,1°C

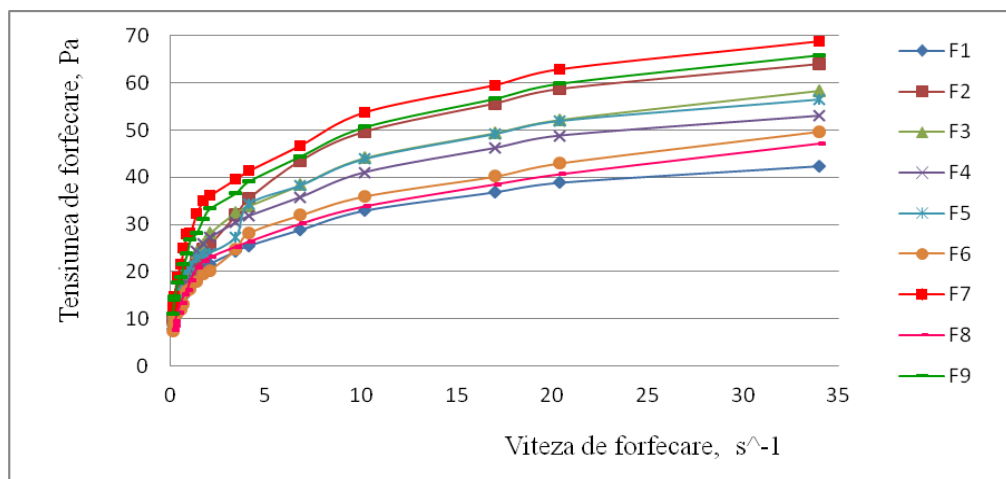
γ	τ asc.F1	τ asc.F2	τ asc.F3	τ asc.F4	τ asc.F5	τ asc.F6	τ asc.F7	τ asc.F8	τ asc.F9
0,102	13,616	20,821	19,325	18,462	17,051	14,075	27,193	13,866	24,231
0,17	14,781	21,949	21,187	21,094	21,624	16,823	29,641	15,592	30,563
0,204	16,451	23,996	22,852	22,43	24,163	19,896	32,145	17,484	31,902
0,34	19,743	27,357	27,916	24,242	26,131	21,503	40,862	20,951	38,486
0,51	22,491	30,682	29,689	29,688	30,403	22,889	47,032	24,612	40,983
0,68	25,482	33,493	32,276	31,075	37,908	25,121	54,113	27,737	46,964
0,85	28,332	38,038	37,632	33,262	39,198	30,173	60,893	29,699	51,662
1,02	30,041	40,335	41,763	38,256	40,278	31,056	61,384	33,505	58,081
1,36	32,423	45,665	47,551	45,576	43,887	34,025	70,364	38,197	65,823
1,7	35,131	49,979	50,702	48,584	44,983	36,897	75,876	41,014	72,263
2,04	37,325	52,165	55,612	51,258	45,802	38,383	78,387	42,371	74,654
3,4	41,925	64,735	64,358	57,298	52,281	46,856	85,947	46,458	81,856
4,08	44,023	71,869	67,092	59,831	65,555	53,431	89,746	48,376	85,044
6,8	49,825	88,152	75,965	67,349	73,293	60,665	101,524	55,418	96,642
10,2	56,881	100,625	87,358	77,214	84,102	68,308	116,821	62,228	110,163
17	63,596	112,638	97,773	86,838	94,215	76,302	129,257	70,788	123,198
20,4	67,071	118,796	103,317	91,698	99,498	81,614	136,547	74,728	130,144
34	73,118	129,465	115,573	99,565	108,223	94,373	149,348	86,729	143,236

Tabelul A 5.2. Rezultatele determinării tensiunii de forfecare în funcție de viteza de forfecare la $37\pm0,1^{\circ}\text{C}$

γ	τ asc.F1	τ asc.F2	τ asc.F3	τ asc.F4	τ asc.F5	τ asc.F6	τ asc.F7	τ asc.F8	τ asc.F9
0,102	7,884	10,285	9,764	9,820	8,917	7,416	12,524	7,552	11,149
0,17	8,559	10,842	10,705	11,220	11,307	8,864	13,65	8,492	14,061
0,204	9,526	11,853	11,546	11,931	12,635	10,483	14,804	9,523	14,678
0,34	11,432	13,514	14,105	12,895	13,664	11,329	18,817	11,411	17,707
0,51	13,023	15,156	15,001	15,791	15,898	12,060	21,659	13,405	18,856
0,68	14,755	16,545	16,307	16,529	19,822	13,236	24,921	15,107	21,608
0,85	16,405	18,79	19,013	17,693	20,497	15,897	28,042	16,176	23,769
1,02	17,395	19,924	21,102	20,349	21,061	16,362	28,268	18,249	26,723
1,36	18,774	22,557	24,025	24,243	22,949	17,927	32,405	20,804	28,284
1,7	20,342	24,688	25,618	25,843	23,523	19,440	34,943	22,339	31,247
2,04	21,613	25,768	28,097	27,265	23,951	20,223	36,1	23,078	33,348
3,4	24,276	31,977	32,517	30,478	27,339	24,687	39,581	25,304	36,661
4,08	25,491	35,501	33,899	31,825	34,279	28,151	41,33	26,349	39,127
6,8	28,851	43,545	38,381	35,824	38,325	31,963	46,754	30,184	44,464
10,2	32,936	49,706	44,139	41,071	43,978	35,989	53,799	33,893	50,684
17	36,825	55,64	49,421	46,190	49,266	40,201	59,526	38,556	56,682
20,4	38,837	58,682	52,211	48,776	52,029	43,000	62,883	40,702	59,877
34	42,338	63,952	58,393	52,960	56,592	49,722	68,778	47,238	65,901



a



b

Fig. A 5.1. Reogramele tensiunii de forfecare în funcție de viteza de forfecare la $22 \pm 0,1^{\circ}C$ (a) și la $37 \pm 0,1^{\circ}C$ (b)

Tabelul A 5.3. Rezultatele determinării vâscozității în funcție de viteza de forfecare la 22±0,1⁰C

Viteza de forfecare, s ⁻¹	Vâscozitatea, cP*10 ²								
	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9
0,102	139,34	198,79	193,67	176,51	188,31	165,44	232,54	158,33	211,34
0,17	110,29	157,34	153,35	139,71	149,05	130,95	184,06	125,32	167,28
0,204	66,19	94,34	92,00	83,85	89,45	78,59	110,46	75,21	100,39
0,34	53,32	76,07	74,12	67,55	72,07	63,31	88,99	60,59	80,88
0,51	36,27	51,75	50,41	45,95	49,02	43,06	60,53	41,22	55,01
0,68	31,07	44,33	43,19	39,36	41,99	36,90	51,86	35,31	47,13
0,85	27,42	39,12	38,11	34,73	37,05	32,56	45,76	31,16	41,59
1,02	22,36	31,89	31,07	28,31	30,21	26,54	37,30	25,40	33,90
1,36	17,95	25,81	25,15	22,92	24,46	21,48	30,19	20,56	27,45
1,7	17,97	25,61	24,95	22,74	24,26	21,31	29,77	20,40	27,23
2,04	16,62	23,72	23,10	21,06	22,47	19,74	27,57	18,89	25,21
3,4	12,28	17,53	17,07	15,56	16,61	14,59	20,38	13,96	18,63
4,08	10,72	15,29	14,89	13,58	14,48	12,72	17,78	12,18	16,26
6,8	9,86	14,06	13,70	12,49	13,32	11,71	16,35	11,20	14,96
10,2	7,89	11,26	10,97	10,01	10,67	9,38	13,09	8,97	11,97
17	7,37	10,53	10,52	9,34	9,96	8,75	12,23	8,38	11,18
20,4	5,27	7,51	7,32	6,67	7,11	6,25	8,73	5,98	7,98
34	4,79	6,82	6,65	6,06	6,47	5,68	7,94	5,44	7,25

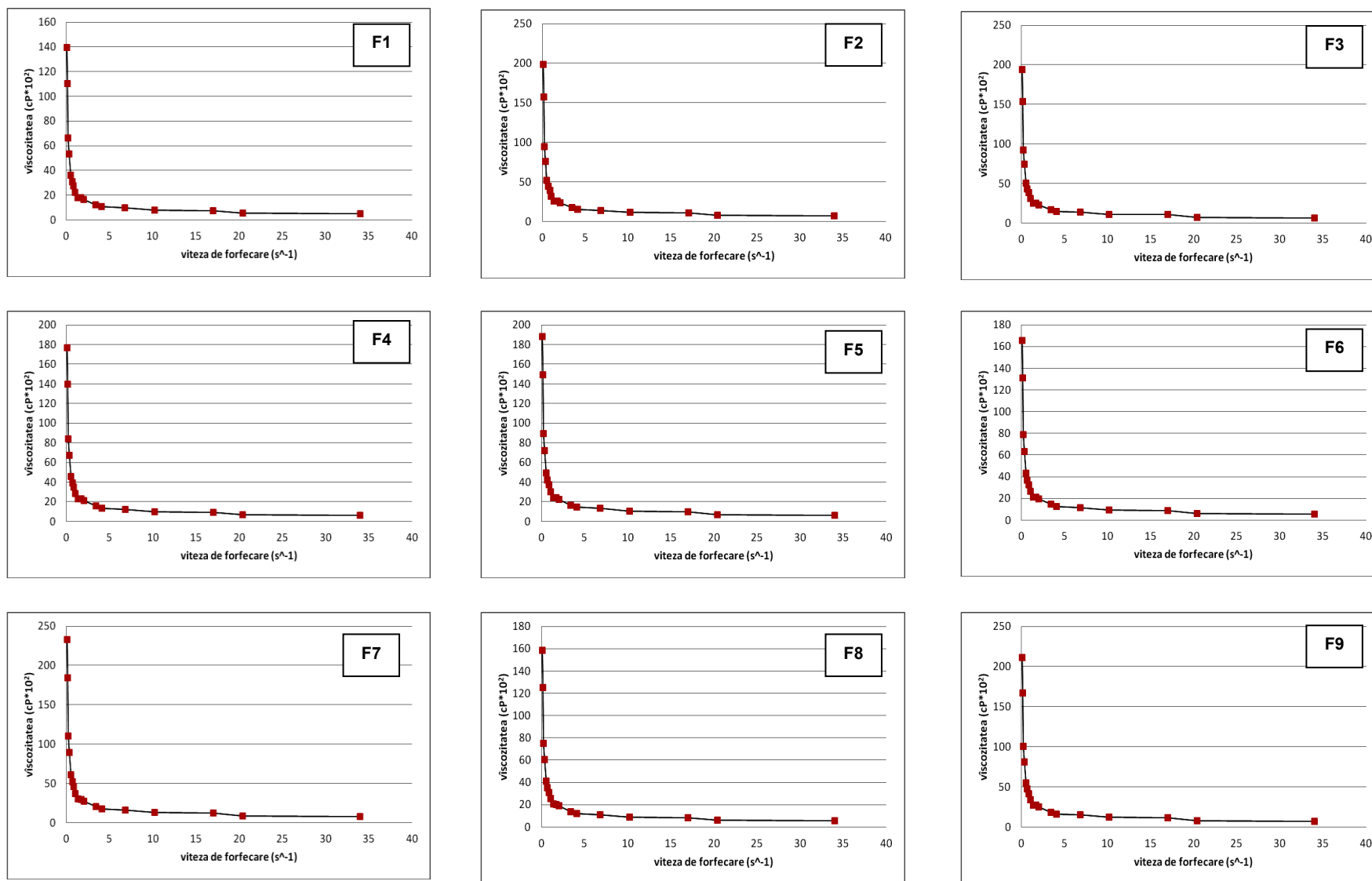


Fig. A 5.2. Reogramele vâscozității în funcție de viteza de forfecare la $22 \pm 0,1^\circ\text{C}$

Tabelul A 5.4. Rezultatele determinării vâscozității în funcție de viteza de forfecare la 37±0,1⁰C

Viteza de forfecare, s ⁻¹	Vâscozitatea, cP*10 ²								
	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9
0,102	81,96	113,56	101,93	101,41	108,81	93,47	135,22	87,96	122,16
0,17	64,87	89,91	80,71	80,29	86,16	73,99	107,03	69,62	96,69
0,204	38,93	53,91	48,42	48,19	51,71	44,40	64,23	41,78	58,03
0,34	31,37	43,47	39,01	38,82	41,66	35,77	51,75	33,66	46,75
0,51	21,33	29,57	26,53	26,41	28,34	24,33	35,20	22,90	31,80
0,68	18,28	25,33	22,73	22,62	24,27	20,85	30,16	19,62	27,24
0,85	16,13	22,35	20,06	19,96	21,42	18,40	26,61	17,31	24,04
1,02	13,15	18,22	16,35	16,27	17,46	15,00	21,69	14,11	19,60
1,36	10,56	14,75	13,24	13,17	14,14	12,14	17,56	11,42	15,87
1,7	10,57	14,63	13,13	13,07	14,02	12,04	17,31	11,33	15,74
2,04	9,78	13,55	12,16	12,10	12,99	11,15	16,03	10,49	14,57
3,4	7,23	10,02	8,98	8,94	9,60	8,24	11,85	7,76	10,77
4,08	6,30	8,74	7,84	7,80	8,37	7,19	10,34	6,77	9,40
6,8	5,80	8,04	7,21	7,18	7,70	6,62	9,51	6,22	8,65
10,2	4,64	6,43	5,77	5,75	6,17	5,30	7,61	4,98	6,92
17	4,34	6,02	5,54	5,37	5,76	4,94	7,11	4,66	6,46
20,4	3,10	4,29	3,85	3,83	4,11	3,53	5,08	3,32	4,61
34	2,82	3,90	3,50	3,48	3,74	3,21	4,62	3,02	4,19

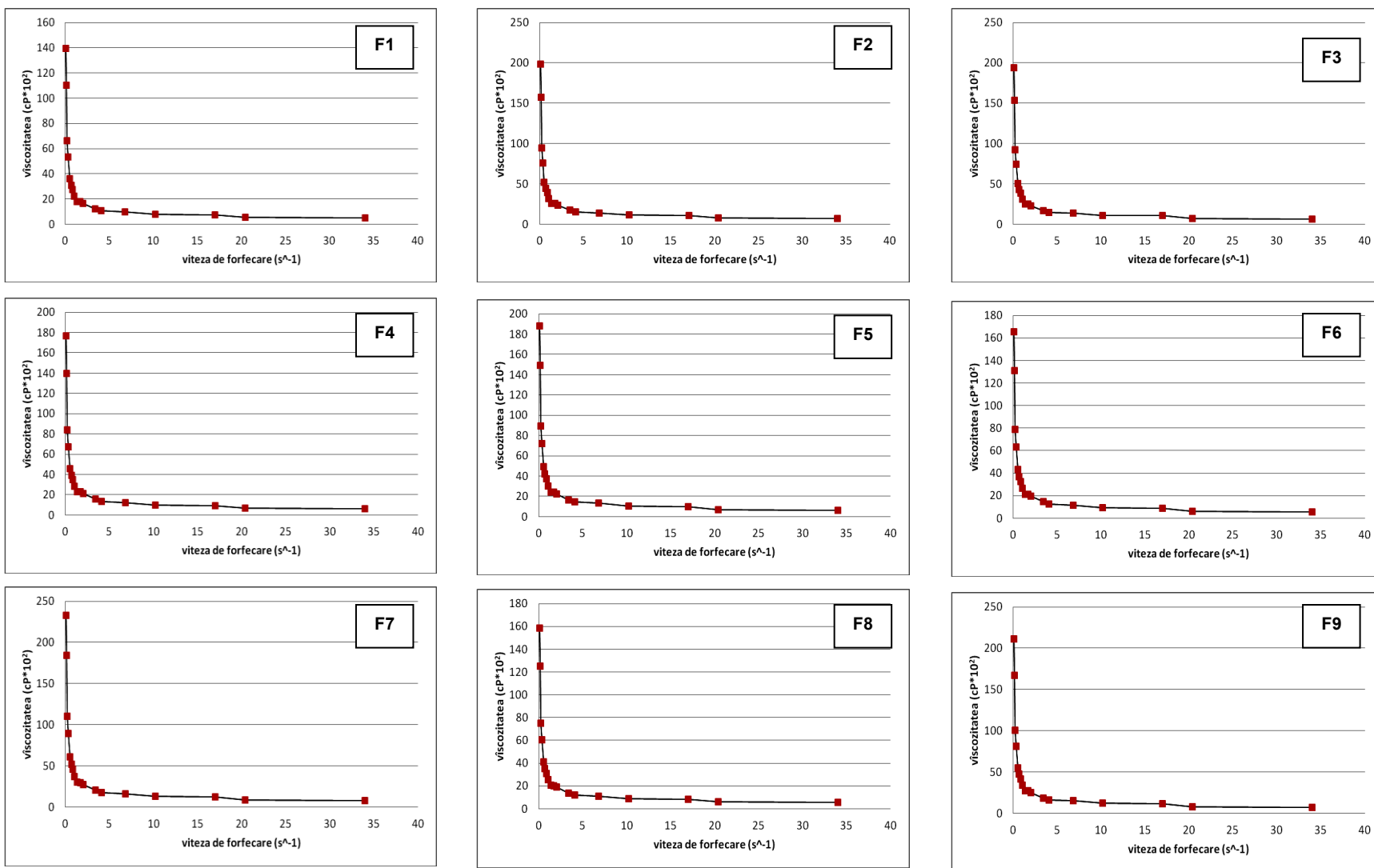


Fig. A 5.3. Reogramele vâscozității în funcție de viteza de forfecare la $37 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$

Anexa 6. Activitatea osmotică a formulărilor unguentului combinat cu conținut de izohidrafural și metiluracil

Tabelul A 6.1. Rezultatele cântăririlor efectuate la determinarea activității osmotice

Masa cântărită, g	Formulările unguentului								
	F 1	F 2	F 3	F 4	F 5	F 6	F 7	F 8	F 9
M	0,10121	0,10224	0,10025	0,10114	0,10087	0,10028	0,10102	0,10117	0,10047
M ₀	10,20345	10,20448	10,20536	10,20312	10,20174	10,20037	10,20211	10,20108	10,20041
M ₁	10,24146	10,29274	10,26114	10,26251	10,26241	10,24112	10,27188	10,24129	10,27218
M ₂	10,27962	10,36231	10,33015	10,32142	10,32319	10,28019	10,34251	10,28798	10,35067
M ₃	10,32011	10,43014	10,39126	10,38541	10,38536	10,31749	10,41182	10,33017	10,43216
M ₄	10,36781	10,49745	10,46758	10,45368	10,44687	10,35687	10,48792	10,38761	10,50263
M ₅	10,40178	10,55614	10,50141	10,51962	10,50128	10,40118	10,52147	10,40078	10,55691
M ₆	10,40808	10,56040	10,50718	10,50765	10,50782	10,40297	10,56713	10,40454	10,56011

Notă: M – masa unguentului; M₀ – masa dispozitivului de dializă împreună cu masa unguentului la începutul experimentului; M₁ – M₆ – masele dispozitivului de dializă împreună cu masa unguentului după 1, 2, 3, 4, 5 și 6 ore de dializă.

Tabelul A 6.2. Rezultatele activității osmotice a formulărilor unguentului combinat

Timpul de expunere, ore	Activitatea osmotică, %								
	F 1	F 2	F 3	F 4	F 5	F 6	F 7	F 8	F 9
1	37,56	86,33	55,64	58,72	60,15	40,64	69,07	39,74	71,43
2	75,26	154,37	124,48	116,97	120,40	79,60	138,98	85,90	149,56
3	115,27	220,72	185,44	180,24	182,04	116,79	207,59	127,60	230,67
4	162,40	286,55	261,57	247,74	243,02	156,06	282,92	184,37	300,81
5	195,96	343,96	295,31	312,93	296,96	200,25	316,14	197,39	354,83
6	202,18	348,12	301,07	301,10	303,44	202,03	361,33	201,11	358,02

Anexa 7. Optimizarea formulărilor unguentului combinat cu conținut de izohidrafural și metiluracil cu ajutorul Modde 13 software (Sartorius Stedim Data Analytics AB, Umea, Sweden)

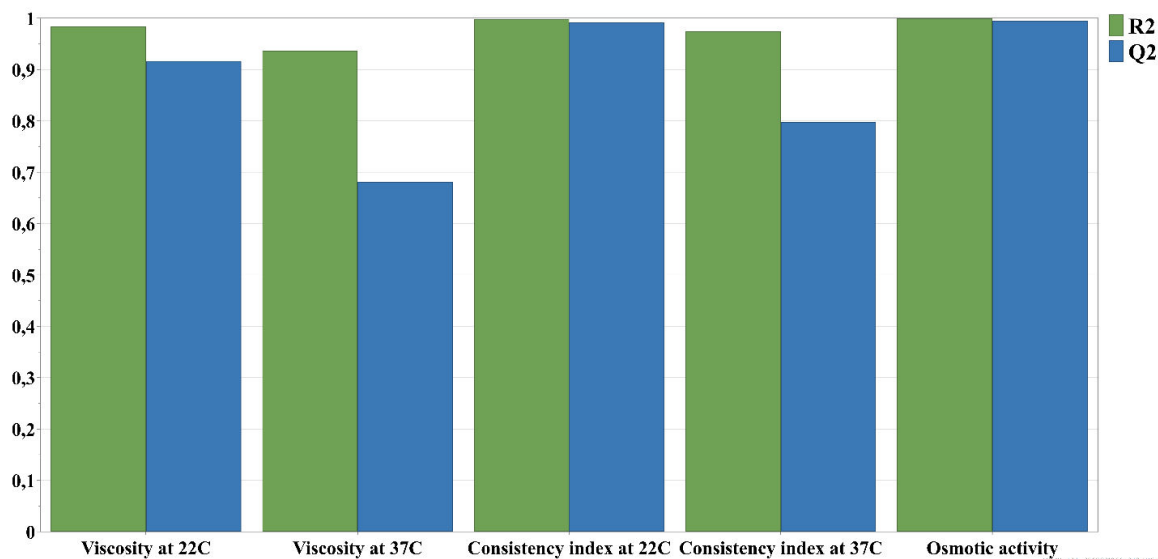


Fig. A 7.1. Rezultatele fitării răspunsurilor variabilelor dependente

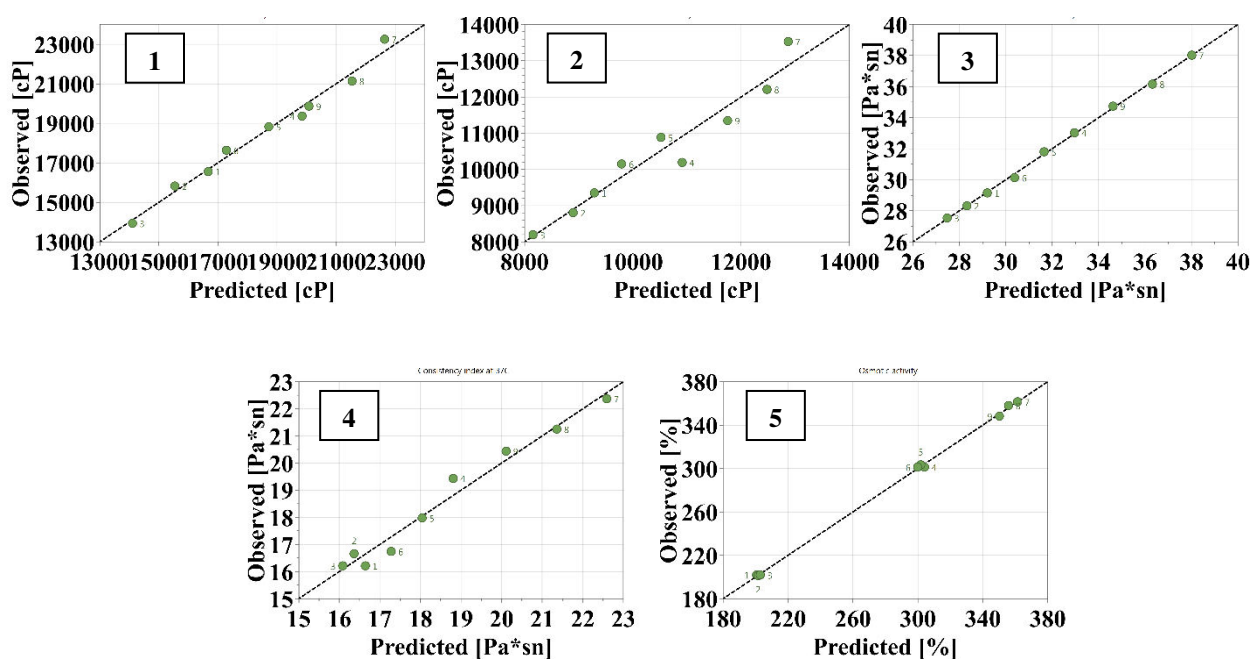


Fig. A 7.2. Curbele reziduale ale răspunsurilor observate față de răspunsurile estimate
1 – vâscozitatea la cea mai mică viteză de forfecare la $22\pm 0,1^{\circ}\text{C}$, 2 – vâscozitatea la cea mai mică viteză de forfecare la $37\pm 0,1^{\circ}\text{C}$, 3 – indice de consistență la $22\pm 0,1^{\circ}\text{C}$, 4 – indice de consistență la $37\pm 0,1^{\circ}\text{C}$, 5 – activitatea osmotică.

Tabelul A 7.1. Rezultatele ANOVA pentru răspunsurile variabilelor dependente

Rezultatul obținut	Grad de libertate	Suma pătratelor	Media pătratelor (varianță)	Coefficient Fisher	p	Deviația standard
Vâscozitatea la cea mai mică viteză de forfecare la 22 ⁰ C						
Total	9	3,14236e+09	3,49151e+08	59,7644	0,001	
Constant	1	3,07755e+09	3,07755e+09			
Total corectat	8	6,48087e+07	8,10109e+06			2846,24
Regresie	4	6,37422e+07	1,59355e+07			3991,94
Rezidual	4	1,06656e+06	266640			516,372
Vâscozitatea la cea mai mică viteză de forfecare la 37 ⁰ C						
Total	9	1,01808e+09	1,1312e+08	14,8617	0,011	
Constant	1	9,9536e+08	9,9536e+08			
Total corectat	8	2,27172e+07	2,83965e+06			1685,13
Regresie	4	2,1285e+07	5,32124e+06			2306,78
Rezidual	4	1,4322e+06	358050			598,373
Indicele de consistență la 22 ⁰ C						
Total	9	9381,93	1042,44	797,473	0,001	
Constant	1	9274,97	9274,97			
Total corectat	8	106,956	13,3695			3,65644
Regresie	4	106,822	26,7056			5,16775
Rezidual	4	0,133951	0,0334878			0,182997
Indicele de consistență la 37 ⁰ C						
Total	9	3153,77	350,419	37,5778	0,002	
Constant	1	3109,55	3109,55			
Total corectat	8	44,2222	5,52777			2,35112
Regresie	4	43,0759	10,769			3,28161
Rezidual	4	1,14631	0,286578			0,53533
Activitatea osmotică						
Total	9	775389	86154,4	1429,74	0,001	
Constant	1	738631	738631			
Total corectat	8	36757,9	4594,74			67,7845
Regresie	4	36732,2	9183,06			95,8283
Rezidual	4	25,6916	6,4229			2,53434

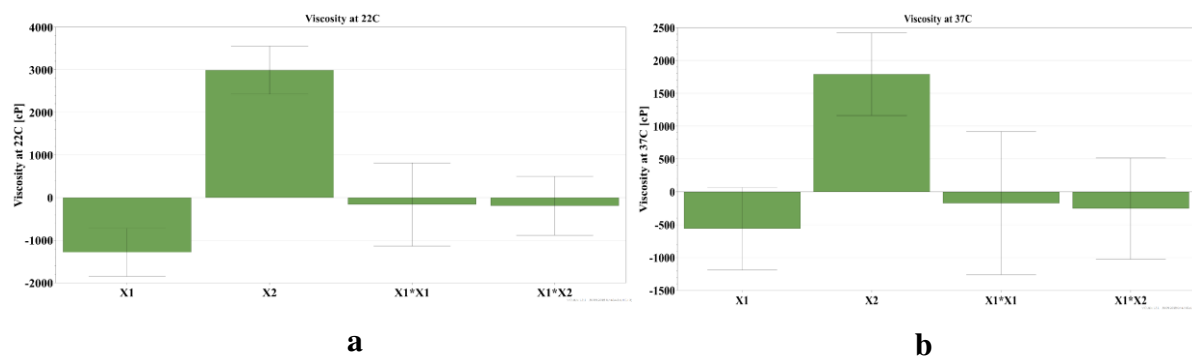


Fig. A 7.3. Influența factorilor de formulare asupra vâscozității la $22\pm0,1^{\circ}\text{C}$ (a) și la $37\pm0,1^{\circ}\text{C}$ (b)

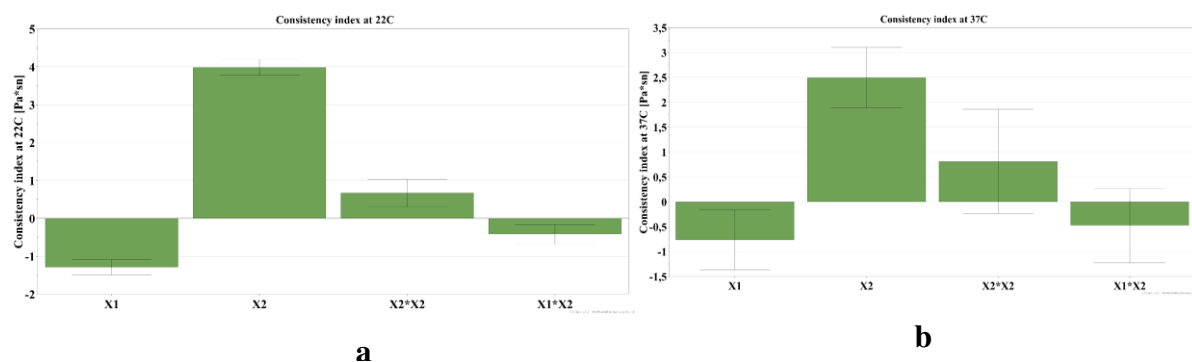


Fig. A 7.4. Influența factorilor de formulare asupra indicelui de consistență la $22\pm0,1^{\circ}\text{C}$ (a) și la $37\pm0,1^{\circ}\text{C}$ (b)

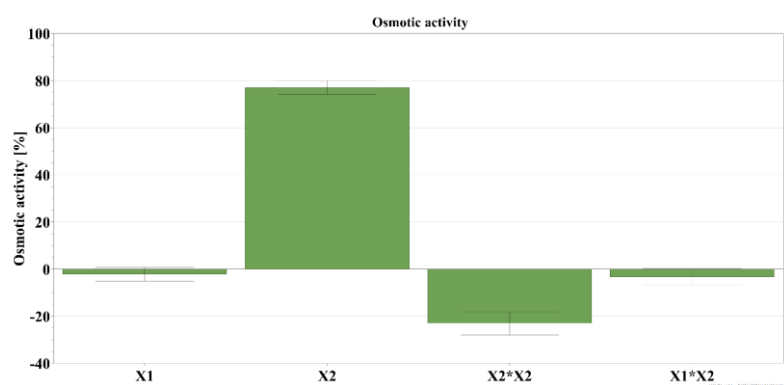
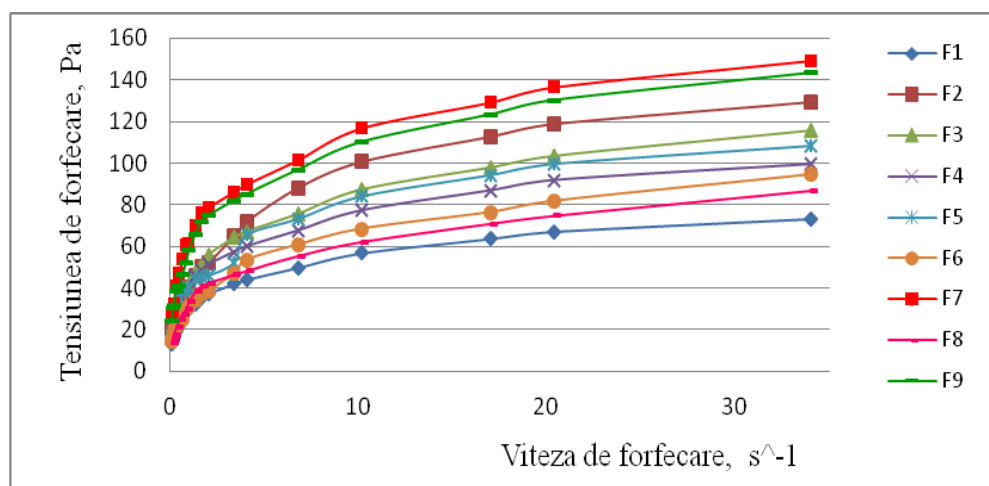
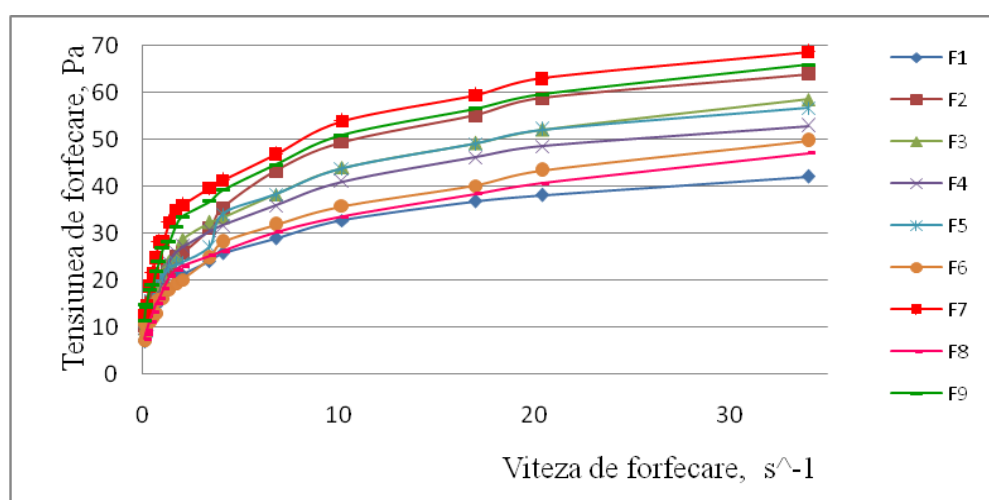


Fig. A 7.5. Influența factorilor de formulare asupra activității osmotice

Anexa 8. Determinarea parametrilor reologici pentru formulările unguentului combinat cu conținut de izohidrafural, metiluracil și benzocaină



a



b

Fig. A 8.1. Reogramele tensiunii de forfecare în funcție de viteza de forfecare la 22±0,1°C (a) și la 37±0,1°C (b)

Tabelul A 8.1. Rezultatele determinării tensiunii de forfecare în funcție de viteza de forfecare la 22±0,1°C

γ	τ asc.F1	τ asc.F2	τ asc.F3	τ asc.F4	τ asc.F5	τ asc.F6	τ asc.F7	τ asc.F8	τ asc.F9
0,102	13,235	20,795	19,221	18,457	17,014	14,116	27,164	13,986	24,135
0,17	14,665	22,054	21,167	21,006	21,714	16,123	29,036	15,456	30,426
0,204	16,157	24,634	22,963	22,147	24,063	19,968	32,117	17,423	31,897
0,34	19,227	27,210	27,958	24,165	26,036	21,463	40,963	20,967	38,354
0,51	22,005	30,715	29,758	29,705	30,306	22,936	47,117	24,758	40,875
0,68	25,521	33,552	32,114	31,116	38,996	25,203	54,003	27,635	46,689
0,85	28,306	38,004	37,536	33,116	39,203	30,104	60,968	29,745	51,775
1,02	30,004	40,306	41,856	38,226	40,154	31,004	61,114	33,589	58,113
1,36	32,326	45,711	47,457	45,603	43,996	34,117	70,147	38,245	65,968
1,7	35,107	50,05	50,806	48,634	45,025	36,964	75,896	41,136	72,147
2,04	37,306	52,123	55,756	51,236	45,906	38,364	78,456	42,457	74,756
3,4	41,895	64,854	64,256	57,306	52,122	46,996	85,974	46,365	81,968
4,08	44,011	71,996	67,114	59,965	65,365	53,436	89,657	48,289	85,114
6,8	49,745	88,105	75,568	67,564	73,135	60,756	101,364	55,406	96,756
10,2	56,756	100,743	87,245	77,236	84,007	68,406	116,746	62,157	110,102
17	63,672	112,745	97,789	86,785	94,136	76,336	129,123	70,869	123,236
20,4	67,114	118,836	103,322	91,754	99,503	81,745	136,475	74,689	130,117
34	73,236	129,339	115,514	99,454	108,136	94,446	149,236	86,687	143,206

Tabelul A 8.2. Rezultatele determinării tensiunii de forfecare în funcție de viteza de forfecare la $37\pm0,1^{\circ}\text{C}$

γ	τ asc.F1	τ asc.F2	τ asc.F3	τ asc.F4	τ asc.F5	τ asc.F6	τ asc.F7	τ asc.F8	τ asc.F9
0,102	7,004	10,306	9,741	9,798	8,895	7,326	12,521	7,475	11,325
0,17	8,124	10,954	10,687	11,425	11,254	8,875	13,526	8,526	14,325
0,204	9,427	11,975	11,445	11,875	12,536	10,526	14,745	9,412	14,854
0,34	11,136	13,625	14,036	12,756	13,567	11,263	18,758	11,235	17,965
0,51	13,004	15,034	15,165	15,754	15,754	12,014	21,569	13,324	18,995
0,68	14,568	16,417	16,206	16,425	19,968	13,123	24,863	15,065	21,854
0,85	16,324	18,698	19,117	17,457	20,506	15,896	28,114	16,234	23,965
1,02	17,479	19,568	21,056	20,311	21,011	16,265	28,367	18,124	26,856
1,36	18,203	22,423	24,147	24,123	22,875	17,968	32,365	20,754	28,356
1,7	20,776	24,756	25,235	25,985	23,462	19,414	34,869	22,236	31,451
2,04	21,234	25,869	28,745	27,124	23,875	20,125	36,045	23,114	33,498
3,4	24,103	31,124	32,325	30,501	27,225	24,726	39,632	25,236	36,854
4,08	25,758	35,457	33,456	31,758	34,145	28,114	41,302	26,254	39,256
6,8	28,996	43,235	38,234	35,869	38,236	31,869	46,865	30,235	44,587
10,2	32,745	49,425	44,003	41,011	43,869	35,857	53,885	33,574	50,854
17	36,856	55,132	49,147	46,214	49,117	40,144	59,426	38,426	56,526
20,4	38,123	58,754	52,036	48,587	52,045	43,365	62,968	40,635	59,524
34	42,147	63,885	58,478	52,857	56,635	49,706	68,635	47,117	65,904

Tabelul A 8.3. Rezultatele determinării vâscozității în funcție de viteza de forfecare la 22±0,1°C

Viteza de forfecare, s ⁻¹	Vâscozitatea, cP*10 ²								
	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9
0,102	126,67	180,72	176,06	160,46	171,19	150,4	211,4	143,94	192,13
0,17	100,26	143,04	139,41	127,01	135,5	119,05	167,33	113,93	152,07
0,204	60,17	85,76	83,64	76,23	81,32	71,45	100,42	68,37	91,26
0,34	48,47	69,16	67,38	61,41	65,52	57,55	80,9	55,08	73,53
0,51	32,97	47,04	45,83	41,77	44,56	39,15	55,03	37,47	50,01
0,68	28,25	40,3	39,26	35,78	38,17	33,55	47,15	32,1	42,85
0,85	24,93	35,56	34,65	31,57	33,68	29,6	41,6	28,33	37,81
1,02	20,32	28,99	28,25	25,74	27,46	24,13	33,91	23,09	30,82
1,36	16,32	23,47	22,86	20,84	22,24	19,53	27,45	18,69	24,95
1,7	16,34	23,28	22,68	20,67	22,05	19,37	27,06	18,55	24,75
2,04	15,11	21,56	21	19,15	20,43	17,95	25,06	17,17	22,92
3,4	11,17	15,93	15,52	14,15	15,1	13,26	18,53	12,69	16,94
4,08	9,74	13,9	13,54	12,35	13,16	11,56	16,16	11,07	14,78
6,8	8,96	12,78	12,45	11,35	12,11	10,65	14,86	10,18	13,6
10,2	7,17	10,24	9,97	9,09	9,7	8,53	11,9	8,15	10,88
17	6,7	9,57	9,56	8,49	9,05	7,95	11,12	7,62	10,16
20,4	4,79	6,83	6,65	6,06	6,46	5,68	7,94	5,44	7,25
34	4,35	6,2	6,05	5,51	5,88	5,16	7,22	4,95	6,59

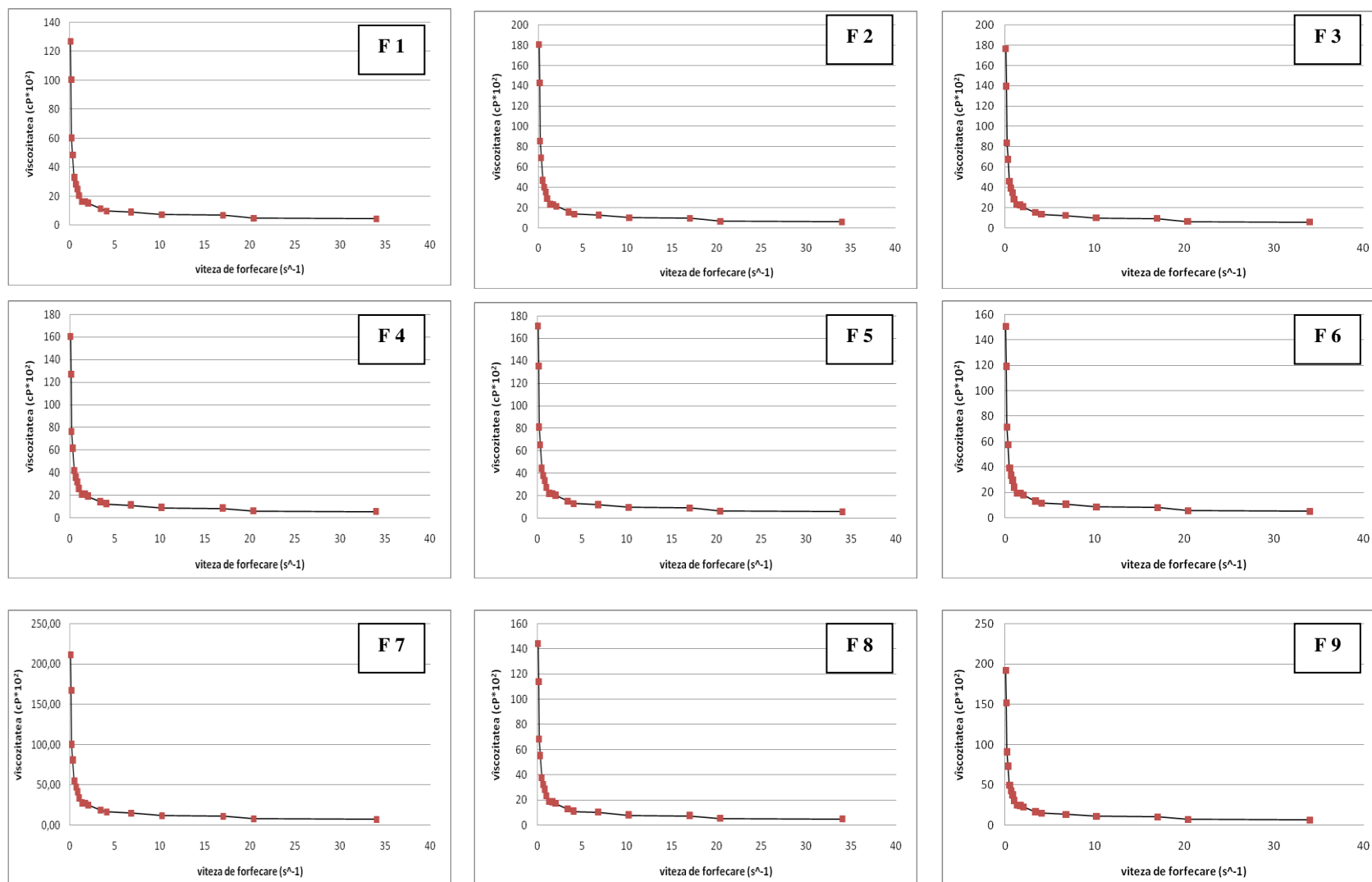


Figura A 8.2. Reogramele vâscozității în funcție de viteza de forfecare la $22 \pm 0,1^\circ\text{C}$

Tabelul A 8.4. Rezultatele determinării vâscozității în funcție de viteza de forfecare la 37±0,1°C

Viteza de forfecare, s ⁻¹	Vâscozitatea, cP*10 ²								
	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9
0,102	74,51	103,24	92,66	92,19	98,92	84,97	122,93	79,96	111,05
0,17	58,97	81,74	73,37	72,99	78,33	67,26	97,30	63,29	87,90
0,204	35,39	49,01	44,02	43,81	47,01	40,36	58,39	37,98	52,75
0,34	28,52	39,52	35,46	35,29	37,87	32,52	47,05	30,60	42,50
0,51	19,39	26,88	24,12	24,01	25,76	22,12	32,00	20,82	28,91
0,68	16,62	23,03	20,66	20,56	22,06	18,95	27,42	17,84	24,76
0,85	14,66	20,32	18,24	18,15	19,47	16,73	24,19	15,74	21,85
1,02	11,95	16,56	14,86	14,79	15,87	13,64	19,72	12,83	17,82
1,36	9,60	13,41	12,04	11,97	12,85	11,04	15,96	10,38	14,43
1,7	9,61	13,30	11,94	11,88	12,75	10,95	15,74	10,30	14,31
2,04	8,89	12,32	11,05	11,00	11,81	10,14	14,57	9,54	13,25
3,4	6,57	9,11	8,16	8,13	8,73	7,49	10,77	7,05	9,79
4,08	5,73	7,95	7,13	7,09	7,61	6,54	9,40	6,15	8,55
6,8	5,27	7,31	6,55	6,53	7,00	6,02	8,65	5,65	7,86
10,2	4,22	5,85	5,25	5,23	5,61	4,82	6,92	4,53	6,29
17	3,95	5,47	5,04	4,88	5,24	4,49	6,46	4,24	5,87
20,4	2,82	3,90	3,50	3,48	3,74	3,21	4,62	3,02	4,19
34	2,56	3,55	3,18	3,16	3,40	2,92	4,20	2,75	3,81

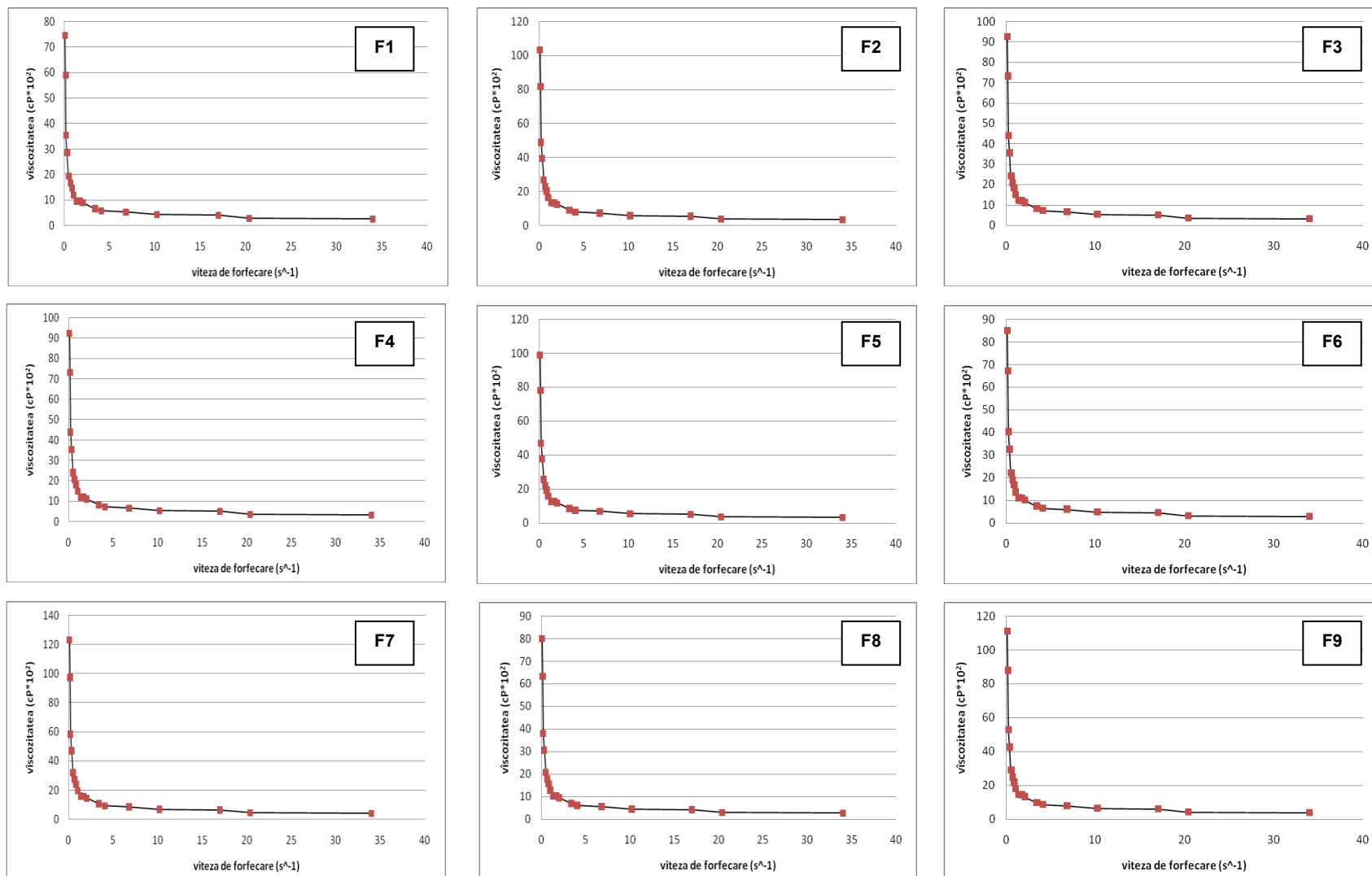


Figura A 8.3. Reogramele vâscozității în funcție de viteza de forfecare la 37±0,1°C

Anexa 9. Activitatea osmotică a formulărilor unguentului combinat cu conținut de izohidrafural, metiluracil și benzocaină

Tabelul A 9.1. Rezultatele cântăririlor efectuate la determinarea activității osmotice

Masa cântărită, g	Formulările unguentului								
	F 1	F 2	F 3	F 4	F 5	F 6	F 7	F 8	F 9
M	0,10012	0,10022	0,10017	0,10014	0,10032	0,10015	0,10021	0,10027	0,10016
M ₀	10,20236	10,20246	10,20241	10,20238	10,20256	10,20239	10,20245	10,20251	10,20240
M ₁	10,23865	10,28478	10,25374	10,25972	10,2625	10,24371	10,26973	10,24125	10,27292
M ₂	10,27859	10,35495	10,3243	10,32025	10,32119	10,28267	10,34278	10,28977	10,35366
M ₃	10,31468	10,42411	10,38386	10,38399	10,38225	10,31982	10,41406	10,32818	10,43193
M ₄	10,36259	10,48814	10,46318	10,44186	10,44749	10,35868	10,4845	10,35299	10,48997
M ₅	10,39471	10,52442	10,48703	10,46994	10,48141	10,39984	10,53729	10,39041	10,52775
M ₆	10,40485	10,55190	10,50270	10,50405	10,50747	10,40484	10,56338	10,40407	10,56410

Notă: M – masa unguentului; M₀ – masa dispozitivului de dializă împreună cu masa unguentului la începutul experimentului; M₁ – M₆ – masele dispozitivului de dializă împreună cu masa unguentului după 1, 2, 3, 4, 5 și 6 ore de dializă.

Tabelul A 9.2. Rezultatele activității osmotice a formulărilor unguentului combinat

Timpul de expunere, ore	Activitatea osmotică, %								
	F 1	F 2	F 3	F 4	F 5	F 6	F 7	F 8	F 9
1	36,25	82,14	51,24	57,26	59,75	41,26	67,14	38,64	70,41
2	76,14	152,16	121,68	117,71	118,25	80,16	140,04	87,03	151,02
3	112,19	221,16	181,14	181,36	179,12	117,25	211,17	125,33	229,16
4	160,04	285,05	260,33	239,15	244,15	156,06	281,46	150,07	287,11
5	192,12	321,25	284,14	267,19	277,96	197,15	334,14	187,39	324,83
6	202,25	348,67	299,78	301,25	303,94	202,15	360,17	201,02	361,12

Anexa 10. Optimizarea unguentului combinat cu conținut de izohidrafural, metiluracil și benzocaină cu ajutorul Design Expert software (versiunea 8.0.7)

Tabelul A 10.1. Rezultatele fitării răspunsurilor variabilelor dependente

Variabilele dependente	R ²	R ² aj.	Suma pătratelor	Deviația standard	p	N	df
Indicele de consistență la 22 ⁰ C	0,9916	0,9954	9,852E-005	2,397E-004	<0,0001	9	2
Indicele de consistență la 37 ⁰ C	0,8373	0,9095	3,293E-004	1,999E-003	0,0003	9	2
Vâscozitatea la cea mai mică viteză de forfecare la 22 ⁰ C	0,9925	0,9182	5,011E-010	4,808E-006	0,0424	9	2
Vâscozitatea la cea mai mică viteză de forfecare la 37 ⁰ C	0,8913	0,9291	8,868E-010	4,075E-006	0,0002	9	2
Activitatea osmotică	0,9970	0,9993	6,512E-007	2,578E-005	0,0002	9	2

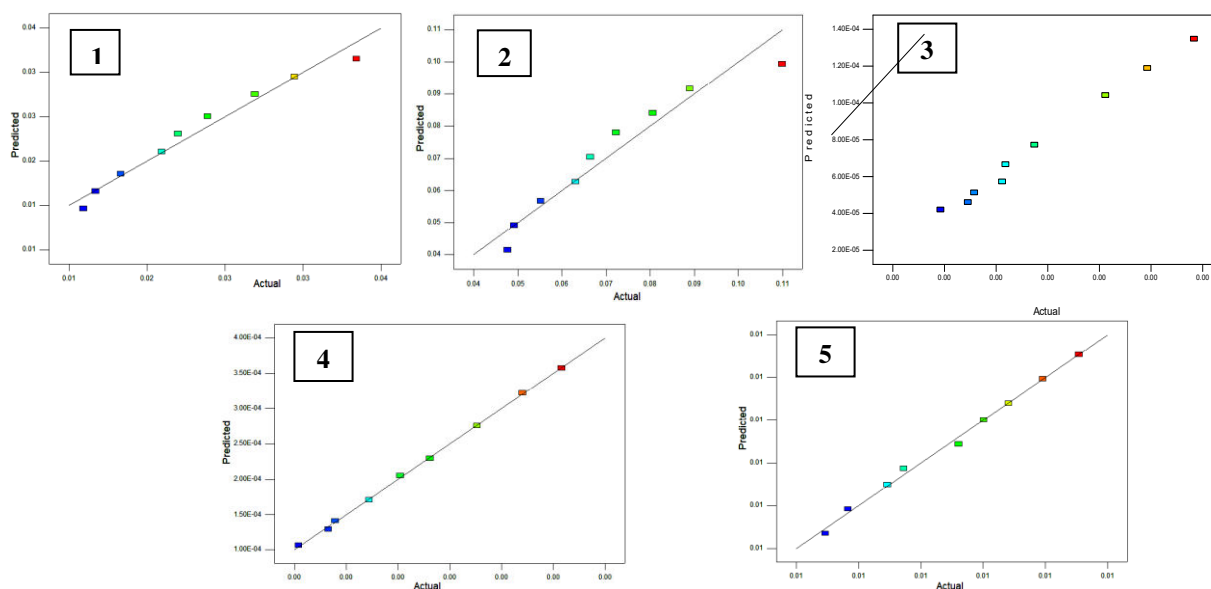


Fig. A 10.1. Curbele reziduale ale răspunsurilor observate față de răspunsurile estimate
1 – indice de consistență la 22±0,1⁰C, **2** – indice de consistență la 37±0,1⁰C, **3** – vâscozitatea la cea mai mică viteză de forfecare la 22±0,1⁰C, **4** – vâscozitatea la cea mai mică viteză de forfecare la 37±0,1⁰C, **5** – activitatea osmotică după 6 ore.

Tabelul A 10.2. Rezultatele ANOVA pentru răspunsurile variabilelor dependente

Rezultatul obținut	Grad de libertate	Suma pătratelor	Media pătratelor	Coeficient Fisher	P	Deviația standard
Indicele de consistență la temperatura de 22 ⁰ C						
PEG 400	1	8,995e-006	8,995e-006	156,62	0,0001	2,397e-004
PEG 1500	1	8,953e-005	8,953e-005			
Rezidual	6	3,446e-007	1,398e-006			
Corectat	8	9,887e-005				
Indicele de consistență la temperatura de 37 ⁰ C						
PEG 400	1	2,557e-005	2,557e-005	41,20	0,0003	1,999e-003
PEG 1500	1	3,037e-004	3,037e-004			
Rezidual	6	2,398e-005	3,996e-006			
Corectat	8	3,532e-004				
Vâscozitatea la cea mai mică viteză de forfecare la temperatura de 22 ⁰ C						
PEG 400	1	9,316e-011	9,316e-011	66,64	0,0001	2,109e-006
PEG 1500	1	4,995e-010	4,995e-010			
Rezidual	6	2,668e-011	4,447e-012			
Corectat	8	9,231e-009				
Vâscozitatea la cea mai mică viteză de forfecare la temperatura de 37 ⁰ C						
PEG 400	1	1,464e-010	1,464e-010	97,98	0,0002	4,075e-006
PEG 1500	1	1,627e-009	1,627e-009			
Rezidual	6	9,965e-011	1,661e-011			
Corectat	8	1,873e-009				
Activitatea osmotică după 6 ore, %						
PEG 400	1	1,734e-009	1,734e-009	69,34	0,0001	2,578e-005
PEG 1500	1	6,902e-006	6,902e-006			
Rezidual	3	1,993e-009	6,645e-010			
Corectat	8	7,559e-006				

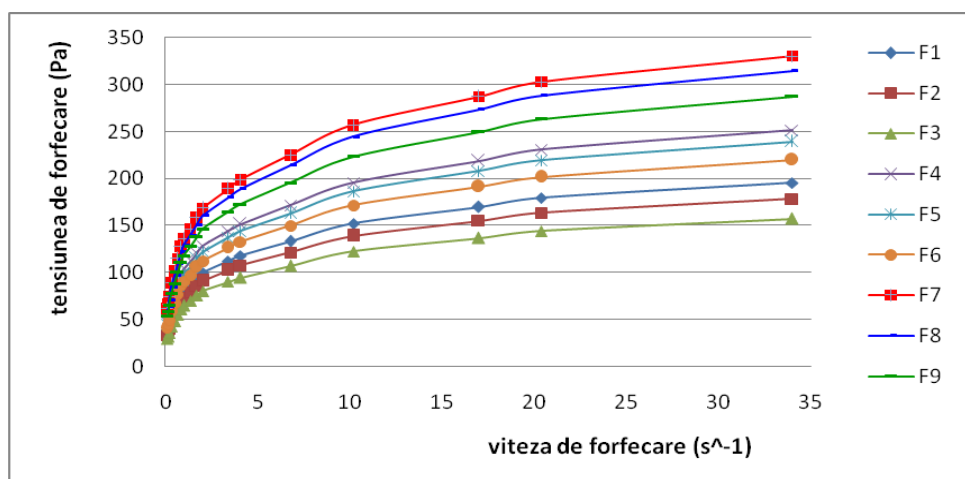
Anexa 11. Determinarea parametrilor reologici pentru formulările unguentului combinat cu conținut de izohidrafural și fluocinolon acetonid

Tabelul A 11.1. Rezultatele determinării tensiunii de forfecare în funcție de viteza de forfecare la 22±0,1⁰C

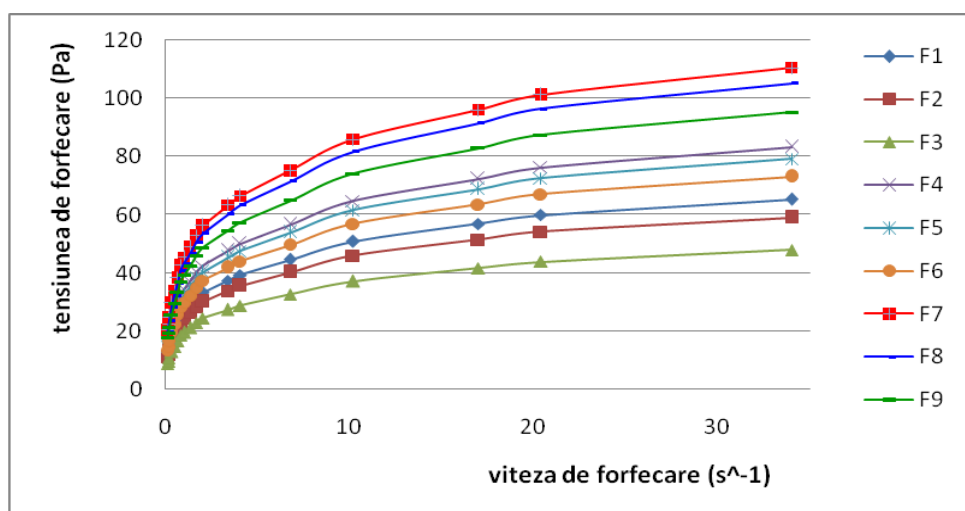
$\dot{\gamma}$	τ asc.F1	τ asc.F2	τ asc.F3	τ asc.F4	τ asc.F5	τ asc.F6	τ asc.F7	τ asc.F8	τ asc.F9
0,102	36,382	33,223	29,274	46,839	44,552	40,984	61,476	58,549	53,456
0,17	39,495	36,066	31,779	50,847	48,363	44,491	66,736	63,558	58,031
0,204	43,957	40,14	35,371	56,591	53,828	49,518	74,276	70,739	64,587
0,34	52,753	48,173	42,447	67,916	64,599	59,426	89,141	84,895	77,511
0,51	60,096	54,878	48,356	77,369	73,591	67,698	101,547	96,711	88,302
0,68	68,088	62,176	54,786	87,658	83,377	76,701	115,051	109,573	100,042
0,85	75,703	69,132	60,914	97,462	92,702	85,279	127,919	121,828	111,231
1,02	80,273	73,301	64,588	103,341	98,294	90,423	135,635	129,176	117,941
1,36	86,634	79,112	69,709	111,535	106,088	97,593	146,392	139,419	127,293
1,7	93,871	85,721	75,532	120,851	114,949	105,744	158,616	151,063	137,924
2,04	99,732	91,073	80,249	128,398	122,127	112,348	168,522	160,498	146,538
3,4	112,024	102,297	90,139	144,222	137,179	126,194	189,291	180,278	164,598
4,08	117,629	107,416	94,649	151,439	144,043	132,509	198,764	189,299	172,834
6,8	133,132	121,573	107,124	171,398	163,027	149,973	224,961	214,248	195,613
10,2	151,986	138,791	122,294	195,671	186,115	171,212	256,818	244,588	223,315
17	169,929	155,174	136,731	218,77	208,086	191,424	287,136	273,463	249,678
20,4	179,214	163,653	144,203	230,724	219,456	201,884	302,826	288,405	263,321
34	195,371	178,408	157,204	251,526	239,242	220,085	330,128	314,407	287,061

Tabelul A 11.2. Rezultatele determinării tensiunii de forfecare în funcție de viteza de forfecare la $37\pm 0,1^{\circ}\text{C}$

γ	τ asc.F1	τ asc.F2	τ asc.F3	τ asc.F4	τ asc.F5	τ asc.F6	τ asc.F7	τ asc.F8	τ asc.F9
0,102	12,168	11,002	8,917	15,501	14,732	13,606	20,566	19,581	17,747
0,17	13,209	11,943	9,608	16,828	15,994	14,771	22,326	21,257	19,266
0,204	14,701	13,292	10,774	18,729	17,796	16,439	24,849	23,658	21,442
0,34	17,643	15,952	12,931	22,477	21,357	19,728	29,821	28,392	25,733
0,51	20,099	18,172	14,729	25,605	24,331	22,474	33,972	32,344	29,315
0,68	22,772	20,589	16,688	29,011	27,566	25,463	38,491	36,646	33,214
0,85	25,319	22,892	18,555	32,255	30,649	28,311	42,794	40,744	36,928
1,02	26,847	24,274	19,675	34,202	32,499	30,022	45,378	43,204	39,158
1,36	28,975	26,197	21,234	36,913	35,074	32,399	48,973	46,628	42,261
1,7	31,395	28,386	23,008	39,996	38,004	35,105	53,064	50,523	45,791
2,04	33,355	30,158	24,444	42,493	40,377	37,297	56,378	53,677	48,652
3,4	37,466	33,875	27,457	47,731	45,354	41,894	63,326	60,293	54,646
4,08	39,341	35,572	28,831	50,119	47,623	43,992	66,495	63,309	57,381
6,8	44,526	40,258	32,634	56,724	53,909	49,788	75,258	71,653	64,942
10,2	50,831	45,959	37,251	64,758	61,533	56,838	85,916	81,801	74,141
17	56,832	51,385	41,649	72,403	68,797	63,549	96,059	91,458	82,892
20,4	59,938	54,192	43,925	76,359	72,556	67,021	101,308	96,455	87,421
34	65,341	59,078	47,885	83,243	79,098	73,063	110,441	105,151	95,303



a



b

Fig. A 11.1. Reogramele tensiunii de forfecare în funcție de viteza de forfecare la $22 \pm 0,1^{\circ}C$ (a) și la $37 \pm 0,1^{\circ}C$ (b)

Tabelul A 11.3. Rezultatele determinării vâscozității în funcție de viteza de forfecare la 22±0,1°C

Viteza de forfecare, s⁻¹	Vâscozitatea, cP*10²								
	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9
0,102	97,684	84,317	73,152	160,202	156,998	133,502	259,527	203,457	193,844
0,17	77,318	66,737	57,921	126,801	124,265	105,668	205,418	161,037	153,429
0,204	46,403	40,015	34,749	76,101	74,579	63,418	123,284	96,648	92,082
0,34	37,382	32,267	27,995	61,307	60,084	51,089	99,317	77,862	74,181
0,51	25,427	21,948	19,042	41,701	40,867	34,751	67,556	52,963	50,458
0,68	21,783	18,802	16,312	35,724	35,012	29,774	57,873	45,369	43,226
0,85	19,225	16,592	14,395	31,524	30,887	26,274	51,069	40,035	38,144
1,02	15,674	13,525	11,734	25,698	25,184	21,415	41,631	32,636	31,095
1,36	14,584	10,948	9,499	20,802	20,396	17,335	33,699	26,419	25,174
1,7	12,598	10,863	9,424	20,639	20,223	17,195	33,229	26,212	24,973
2,04	11,654	10,059	8,727	19,112	18,732	15,927	30,774	24,272	23,126
3,4	8,612	7,434	6,449	14,124	13,844	11,774	22,741	17,937	17,091
4,08	7,512	6,485	5,626	12,322	12,076	10,268	19,838	15,649	14,912
6,8	6,912	5,965	5,176	11,336	11,109	9,447	18,251	11,397	13,717
10,2	5,533	4,776	4,143	9,074	8,896	7,568	14,609	9,524	10,982
17	4,169	3,465	3,074	6,477	8,307	5,064	10,648	6,766	10,257
20,4	3,692	3,185	2,165	4,052	5,931	3,043	6,744	4,686	7,323
34	1,356	1,894	0,511	2,504	5,394	1,287	1,861	2,995	6,654

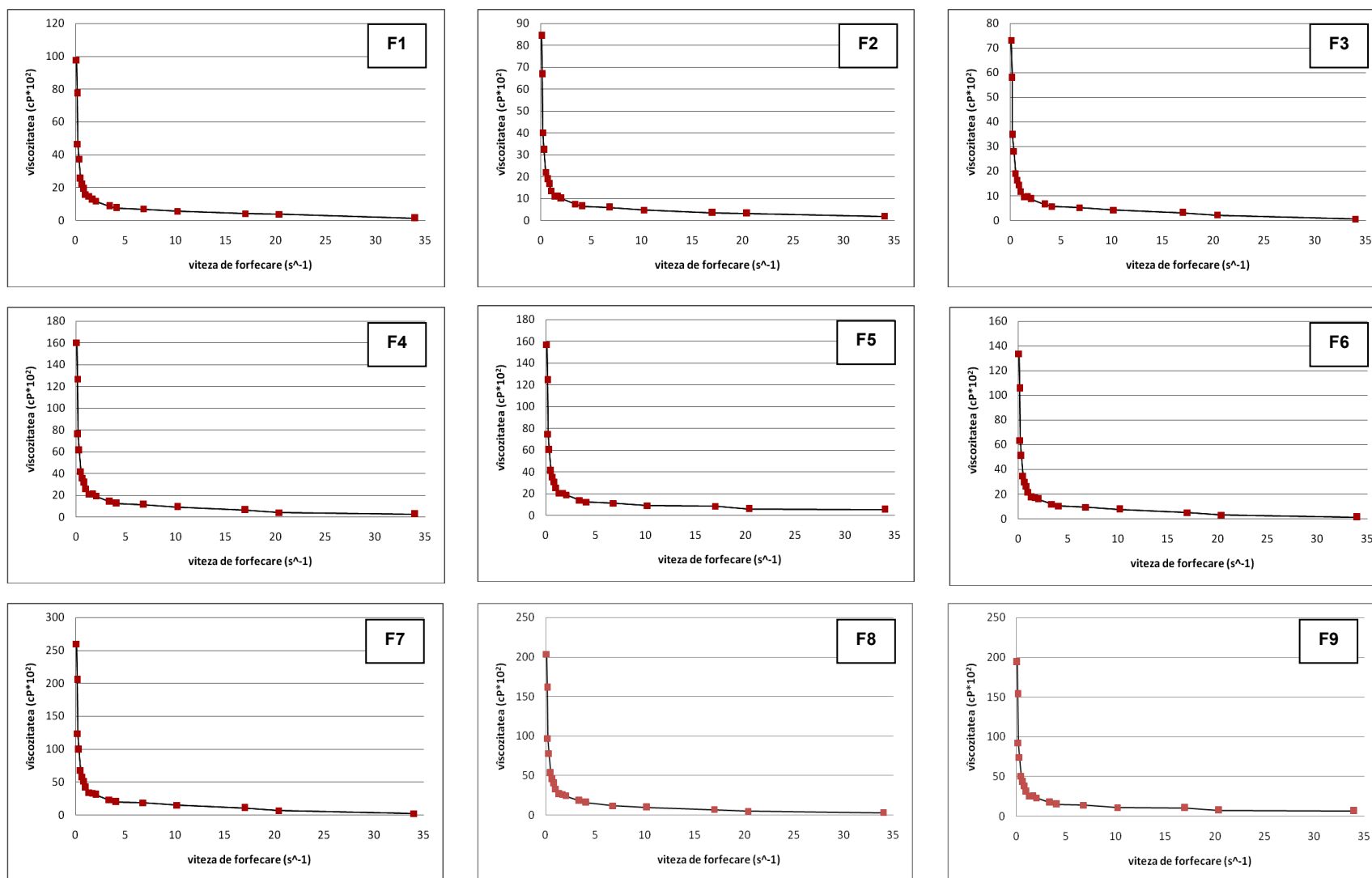


Fig. A 11.2. Reogramele vâscozității în funcție de viteza de forfecare la $22 \pm 0.1^\circ\text{C}$

Tabelul A 11.4. Rezultatele determinării vâscozității în funcție de viteza de forfecare la 37±0,1°C

Viteza de forfecare, s ⁻¹	Vâscozitatea, cP*10 ²								
	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9
0,102	36,179	31,229	27,93	58,147	49,445	43,298	96,121	75,354	71,794
0,17	28,636	24,717	21,452	46,024	39,136	34,271	76,081	59,634	56,826
0,204	17,186	14,822	12,871	27,622	23,488	20,568	45,661	35,796	34,104
0,34	13,864	11,951	10,369	22,253	18,922	16,569	36,784	28,838	27,474
0,51	9,417	8,125	7,053	15,136	12,871	11,281	25,021	19,616	18,688
0,68	8,068	6,945	6,041	12,967	11,027	9,655	21,434	16,803	16,011
0,85	7,121	6,145	5,331	11,441	9,731	8,521	18,914	14,828	14,127
1,02	5,805	5,091	4,346	9,327	7,931	6,945	15,419	12,087	11,517
1,36	4,661	4,055	3,518	7,554	6,421	5,622	12,481	9,785	9,345
1,7	4,677	4,001	3,491	7,491	6,369	5,578	12,307	9,708	9,249
2,04	4,136	3,726	3,232	6,938	5,899	5,165	11,398	8,991	8,565
3,4	3,199	2,74	2,389	5,127	4,361	3,817	8,423	6,643	6,331
4,08	2,789	2,402	2,084	4,473	3,803	3,335	7,347	5,796	5,523
6,8	2,561	2,029	1,917	4,114	3,499	3,064	6,76	5,332	5,081
10,2	2,041	1,769	1,534	3,295	2,803	2,458	5,411	4,268	4,067
17	1,214	1,152	1,472	3,077	2,616	2,011	4,055	3,187	2,799
20,4	1,011	1,021	1,024	2,194	1,868	1,633	3,609	2,874	2,712
34	0,243	0,722	0,931	1,998	1,699	1,488	3,282	2,514	2,464

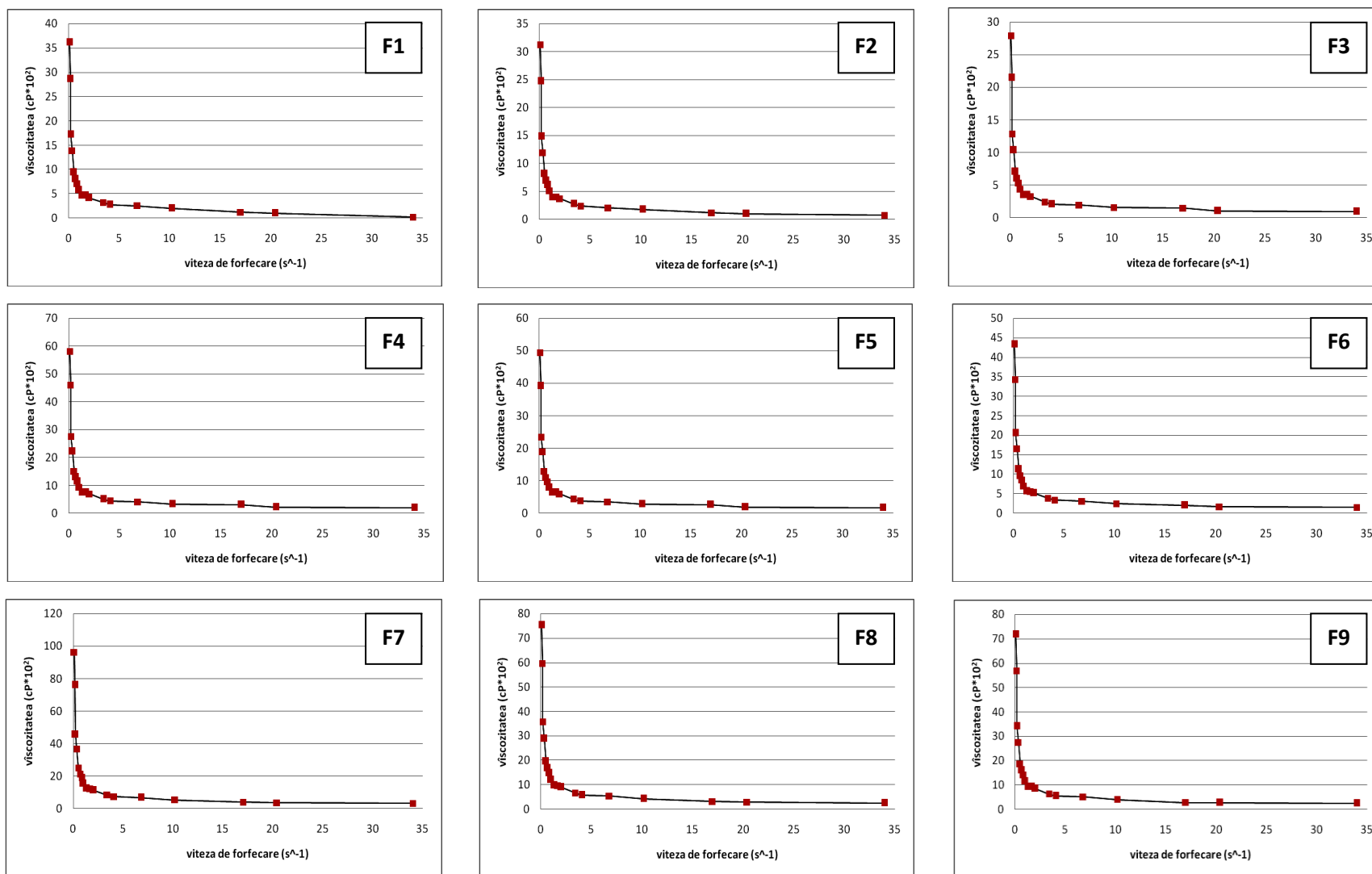


Figura A 11.3. Reogramele vâscozității în funcție de viteza de forfecare la $37\pm0,1^{\circ}\text{C}$

Anexa 12. Cinetica de cedare in vitro a izohidrafuralului și fluocinolonului acetonid din formulările experimentale

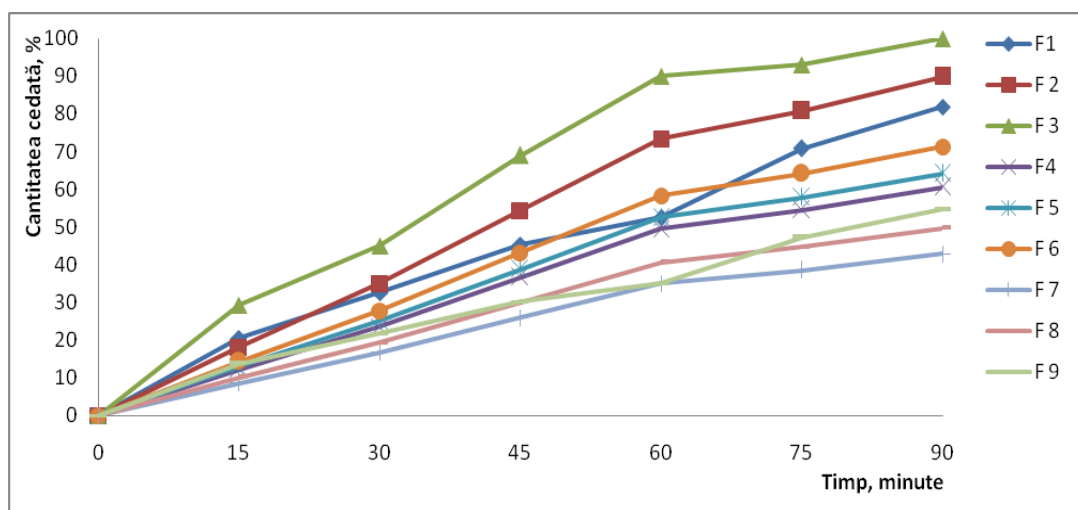
Tabelul A 12.1. Rezultatele cedării izohidrafuralului din formulările experimentale

Formularea	Timp, minute	Absorbanța	Concentrația, $\mu\text{g/ml}$	Cantitatea cedată, mg	Cantitatea cedată, %
F 1	15	0,3821	12,838	2,054	20,54
	30	0,5795	20,331	3,253	32,53
	45	0,7893	28,300	4,528	45,28
	60	0,9071	32,775	5,244	52,44
	75	1,2097	44,269	7,083	70,83
	90	1,3912	51,163	8,186	81,86
F 2	15	0,3415	11,294	1,807	18,07
	30	0,6194	21,850	3,496	34,96
	45	0,9384	33,963	5,434	54,34
	60	1,2522	45,881	7,341	73,41
	75	1,3743	50,519	8,083	80,83
	90	1,5229	56,163	8,986	89,86
F 3	15	0,5258	18,294	2,927	29,27
	30	0,7840	28,100	4,496	44,96
	45	1,1794	43,119	6,899	68,99
	60	1,5249	56,238	8,998	89,98
	75	1,5742	58,113	9,298	92,98
	90	1,6896	62,494	9,999	99,97
F 4	15	0,2445	7,610	1,218	12,18
	30	0,4318	14,724	2,356	23,56
	45	0,6467	22,886	3,662	36,62
	60	0,8582	30,917	4,947	49,47
	75	0,9405	34,042	5,447	54,47
	90	1,0406	37,845	6,055	60,55
F 5	15	0,2565	8,067	1,291	12,91
	30	0,4551	15,607	2,497	24,97
	45	0,6829	24,259	3,881	38,81
	60	0,9070	32,772	5,244	52,44
	75	0,9942	36,085	5,774	57,74
	90	1,1004	40,116	6,419	64,19
F 6	15	0,2801	8,963	1,434	14,34
	30	0,5007	17,341	2,775	27,75
	45	0,7538	26,954	4,313	43,13
	60	1,0029	36,414	5,826	58,26
	75	1,0998	40,094	6,415	64,15
	90	1,2177	44,573	7,132	71,32
F 7	15	0,1857	5,378	0,860	8,60
	30	0,3181	10,405	1,665	16,65
	45	0,4700	16,173	2,588	25,88
	60	0,6194	21,848	3,496	34,96
	75	0,6775	24,057	3,849	38,49
	90	0,7483	26,744	4,279	42,79
F 8	15	0,2084	6,240	0,998	9,98
	30	0,3620	12,072	1,931	19,31
	45	0,5382	18,764	3,002	30,02
	60	0,7116	25,349	4,056	40,56
	75	0,7790	27,911	4,466	44,66
	90	0,8611	31,029	4,965	49,65
F 9	15	0,2695	8,558	1,369	13,69
	30	0,4010	13,554	2,169	21,69
	45	0,5409	18,867	3,019	30,19
	60	0,6194	21,850	3,496	34,96
	75	0,8212	29,513	4,722	47,22
	90	0,9422	34,108	5,457	54,57

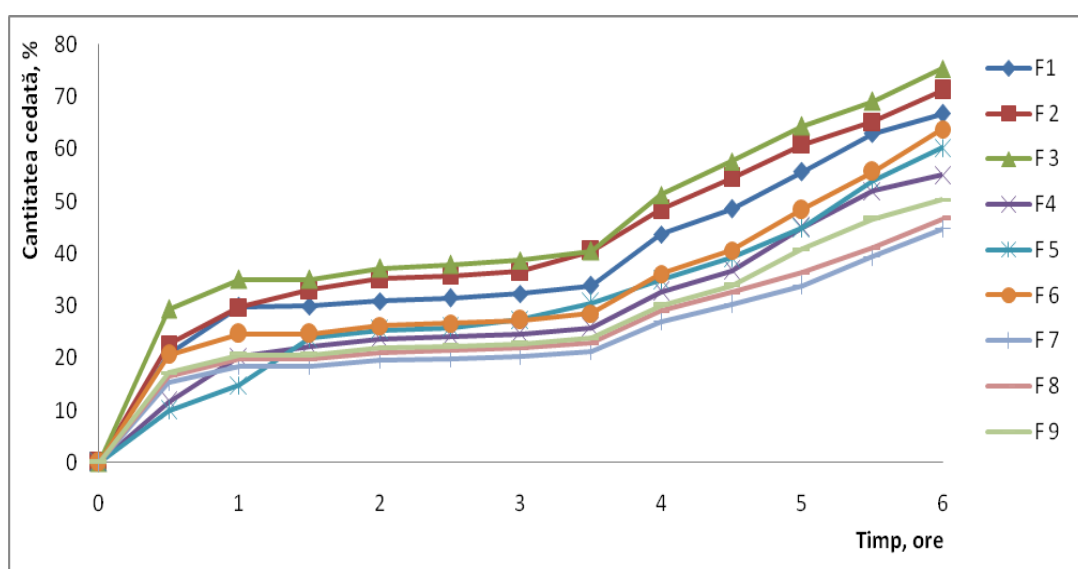
Tabelul A 12.2. Rezultatele cedării fluocinolonului acetonid din formulările experimentale

Formulara	Timp, ore	Absorbanța	Concentrația, $\mu\text{g/ml}$	Cantitatea cedată, mg	Cantitatea cedată, %
F 1	0,5	0,4830	16,669	2,667	26,67
	1,0	0,5683	19,909	3,185	31,85
	1,5	0,5688	19,926	3,188	31,88
	2,0	0,6016	21,173	3,388	33,87
	2,5	0,6114	21,543	3,447	34,46
	3,0	0,6244	22,039	3,526	35,26
	3,5	0,6510	23,047	3,688	36,87
	4,0	0,8118	29,157	4,665	46,65
	4,5	0,9077	32,796	5,247	52,47
	5,0	1,0092	36,651	5,864	58,64
	5,5	1,0790	39,305	6,289	62,88
	6,0	1,1745	42,933	6,869	68,69
F 2	0,5	0,4988	17,269	2,763	27,63
	1,0	0,5872	20,625	3,300	33,00
	1,5	0,5877	20,644	3,303	33,03
	2,0	0,6217	21,938	3,510	35,10
	2,5	0,6318	22,319	3,571	35,71
	3,0	0,6453	22,831	3,653	36,53
	3,5	0,6728	23,875	3,820	38,20
	4,0	0,8395	30,206	4,833	48,33
	4,5	0,9387	33,975	5,436	54,36
	5,0	1,0440	37,975	6,076	60,76
	5,5	1,1163	40,719	6,515	65,15
	6,0	1,2153	44,481	7,117	71,17
F 3	0,5	0,5258	18,294	2,927	29,27
	1,0	0,6194	21,850	3,496	34,96
	1,5	0,6199	21,869	3,499	34,99
	2,0	0,6560	23,238	3,718	37,18
	2,5	0,6667	23,644	3,783	37,83
	3,0	0,6810	24,188	3,870	38,70
	3,5	0,7101	25,294	4,047	40,47
	4,0	0,8867	32,000	5,120	51,20
	4,5	0,9918	35,994	5,759	57,59
	5,0	1,1033	40,225	6,436	64,36
	5,5	1,1799	43,138	6,902	69,02
	6,0	1,2848	47,119	7,539	75,39
F 4	0,5	0,3509	11,650	1,864	18,64
	1,0	0,4106	13,919	2,227	22,27
	1,5	0,4109	13,931	2,229	22,29
	2,0	0,4338	14,800	2,368	23,68
	2,5	0,4407	15,063	2,410	24,10
	3,0	0,4498	15,406	2,465	24,65
	3,5	0,4684	16,113	2,578	25,78
	4,0	0,5808	20,381	3,261	32,61
	4,5	0,6477	22,925	3,668	36,68
	5,0	0,7187	25,619	4,099	40,99
	5,5	0,7675	27,475	4,396	43,96
	6,0	0,8344	30,013	4,802	48,02
F 5	0,5	0,3718	12,444	1,991	19,91
	1,0	0,4355	14,863	2,378	23,78
	1,5	0,4358	14,875	2,380	23,80
	2,0	0,4603	15,806	2,529	25,29
	2,5	0,4675	16,081	2,573	25,73
	3,0	0,4774	16,456	2,633	26,33
	3,5	0,4972	17,206	2,753	27,53
	4,0	0,6173	21,769	3,483	34,83

Formulara	Timp, ore	Absorbanța	Concentrația, $\mu\text{g/ml}$	Cantitatea cedată, mg	Cantitatea cedată, %
	4,5	0,6889	24,488	3,918	39,18
	5,0	0,7646	27,363	4,378	43,78
	5,5	0,8168	29,344	4,695	46,95
	6,0	0,8882	32,056	5,129	51,29
F 6	0,5	0,3833	12,881	2,061	20,61
	1,0	0,4493	15,388	2,462	24,62
	1,5	0,4496	15,400	2,464	24,64
	2,0	0,4750	16,363	2,618	26,18
	2,5	0,4825	16,650	2,664	26,64
	3,0	0,4926	17,031	2,725	27,25
	3,5	0,5131	17,813	2,850	28,50
	4,0	0,6375	22,538	3,606	36,06
	4,5	0,7116	25,350	4,056	40,56
	5,0	0,7899	28,325	4,532	45,32
	5,5	0,8441	30,381	4,861	48,61
	6,0	0,9178	33,181	5,309	53,09
F 7	0,5	0,2977	9,631	1,541	15,41
	1,0	0,3469	11,500	1,840	18,40
	1,5	0,3473	11,513	1,842	18,42
	2,0	0,3662	12,231	1,957	19,57
	2,5	0,3718	12,444	1,991	19,91
	3,0	0,3793	12,731	2,037	20,37
	3,5	0,3946	13,313	2,130	21,30
	4,0	0,4876	16,844	2,695	26,95
	4,5	0,5429	18,944	3,031	30,31
	5,0	0,6015	21,169	3,387	33,87
	5,5	0,6420	22,706	3,633	36,33
	6,0	0,6971	24,800	3,968	39,68
F 8	0,5	0,3163	10,338	1,654	16,54
	1,0	0,3691	12,344	1,975	19,75
	1,5	0,3695	12,356	1,977	19,77
	2,0	0,3899	13,131	2,101	21,01
	2,5	0,3958	13,356	2,137	21,37
	3,0	0,4039	13,663	2,186	21,86
	3,5	0,4203	14,288	2,286	22,86
	4,0	0,5202	18,081	2,893	28,93
	4,5	0,5796	20,338	3,254	32,54
	5,0	0,6425	22,725	3,636	36,36
	5,5	0,6858	24,369	3,899	38,99
	6,0	0,7450	26,619	4,259	42,59
F 9	0,5	0,3272	10,750	1,720	17,20
	1,0	0,3821	12,838	2,054	20,54
	1,5	0,3825	12,850	2,056	20,56
	2,0	0,4035	13,650	2,184	21,84
	2,5	0,4100	13,894	2,223	22,23
	3,0	0,4183	14,213	2,274	22,74
	3,5	0,4355	14,863	2,378	23,78
	4,0	0,5391	18,800	3,008	30,08
	4,5	0,6010	21,150	3,384	33,84
	5,0	0,6663	23,631	3,781	37,81
	5,5	0,7114	25,344	4,055	40,55
	6,0	0,7730	27,681	4,429	44,29



a



b

Fig. A 12.1. Profilurile de cedare *in vitro* ale izohidrafuralului (a) și ale fluocinolonului acetonid (b) din formulările experimentale

Anexa 13. Optimizarea unguentului combinat cu conținut de izohidrafural și fluocinolon acetamid cu ajutorul Design Expert software (versiunea 8.0.7)

Tabelul A 13.1. Rezultatele fitării răspunsurilor variabilelor dependente

Variabilele dependente	R ²	R ² aj.	Suma pătratelor	Deviația standard	p	N	df
Indice de consistență la 22°C	0,9185	0,9605	2,746E-003	1,183E-003	< 0,0001	9	2
Indice de consistență la 37°C	0,9327	0,9103	3,054E-003	6,059E-003	0,0003	9	2
Vâscozitatea la cea mai mică viteză de forfecare la 22°C	0,9925	0,9182	5,011E-010	4,808E-006	0,0424	9	2
Vâscozitatea la cea mai mică viteză de forfecare la 37°C	0,9994	0,9983	8,530E-010	3,606E-006	0,0091	9	2
Cedarea izohidrafuralului după 90 minute	0,9955	0,9941	1,588E-005	1,089E-004	< 0,0001	9	2
Cedarea fluocinolonului acetamid după 6 ore	0,9978	0,9941	1,451E-006	2,520E-004	0,0396	9	2

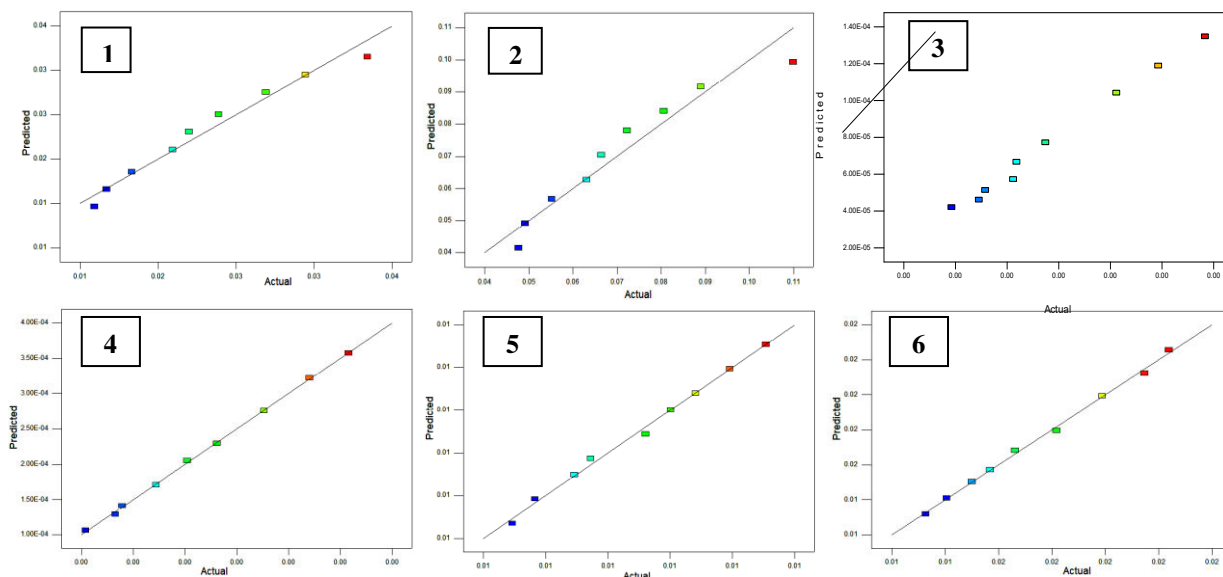
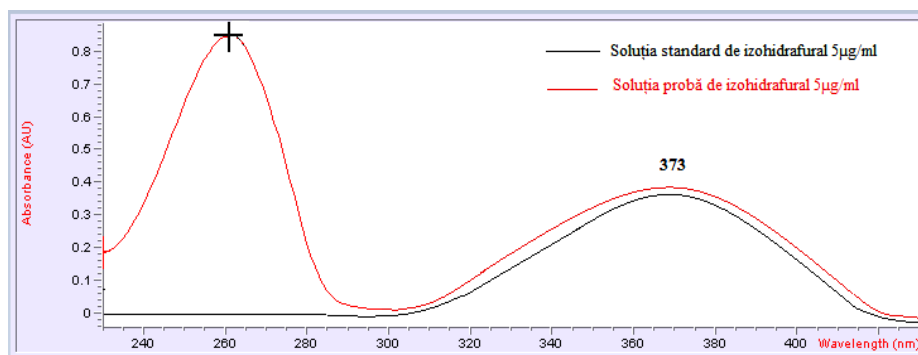


Figura A 13.1. Curbele reziduale ale răspunsurilor observate față de răspunsurile estimate
1 – indice de consistență la 22±0,1°C, **2** – indice de consistență la 37±0,1°C, **3** – vâscozitatea la cea mai mică viteză de forfecare la 22±0,1°C, **4** – vâscozitatea la cea mai mică viteză de forfecare la 37±0,1°C, **5** – cedarea izohidrafuralului după 90 minute, **6** – cedarea fluocinolonului acetamid după 6 ore

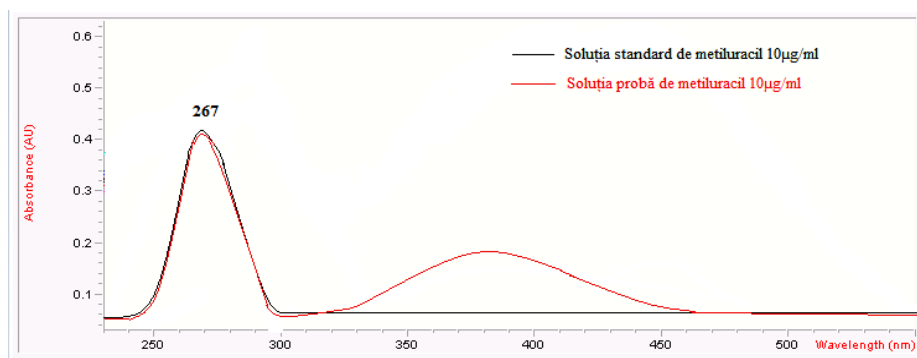
Tabelul A 13.2. Rezultatele ANOVA pentru răspunsurile variabilelor dependente

Rezultatul obținut	Grad de libertate	Suma pătratelor	Media pătratelor	Coefficient Fisher	P	Deviația standard
Indicele de consistență la temperatura de 22 ⁰ C						
Propilenglicol	1	2,337e-005	2,373e-005	98,17	0,0001	1,183e-003
Alcool cetostearilic	1	2,512e-004	2,512e-004			
Rezidual	6	8,391e-006	1,398e-006			
Total corectat	8	2,830e-004				
Indicele de consistență la temperatura de 37 ⁰ C						
Propilenglicol	1	3,513e-004	3,513e-004	41,59	0,0003	6,059e-003
Alcool cetostearilic	1	2,702e-003	2,702e-003			
Rezidual	6	2,203e-004	3,671e-005			
Total corectat	8	3,274e-003				
Vâscozitatea la cea mai mică viteză de forfecare la temperatura de 22 ⁰ C						
Propilenglicol	1	5,974e-010	5,974e-010	79,27	0,0022	4,808e-006
Alcool cetostearilic	1	7,950e-009	7,950e-009			
Rezidual	3	6,935e-011	2,312e-011			
Total corectat	8	9,231e-009				
Vâscozitatea la cea mai mică viteză de forfecare la temperatura de 37 ⁰ C						
Propilenglicol	1	5,154e-009	5,154e-009	98,17	0,0001	3,606e-005
Alcool cetostearilic	1	5,580e-008	5,580e-008			
Rezidual	3	3,901e-011	1,300e-011			
Total corectat	8	6,238e-008				
Cedarea izohidrafuralului după 90 minute						
Propilenglicol	1	1,940e-006	1,940e-006	69,34	0,0001	1,089e-004
Alcool cetostearilic	1	1,394e-005	1,394e-005			
Rezidual	6	7,118e-008	1,186e-008			
Total corectat	8	1,595e-005				
Cedarea fluocinolonului acetonid după 6 ore						
Propilenglicol	1	7,540e-006	7,540e-006	69,54	0,0004	2,520e-004
Alcool cetostearilic	1	7,647e-005	7,647e-005			
Rezidual	3	1,906e-007	6,352e-008			
Total corectat	8	8,580e-005				

Anexa 14. Analiza calității unguentelor combinate prin metoda spectrofotometrică UV-VIS



a



b

Fig. A 14.1. Spectrele de absorbție UV-VIS ale soluțiilor standard și probă de izohidrafural 5 µg/ml (a) și ale soluțiilor standard și probă de metiluracil 10 µg/ml (b) din unguentul combinat IHF și MTU

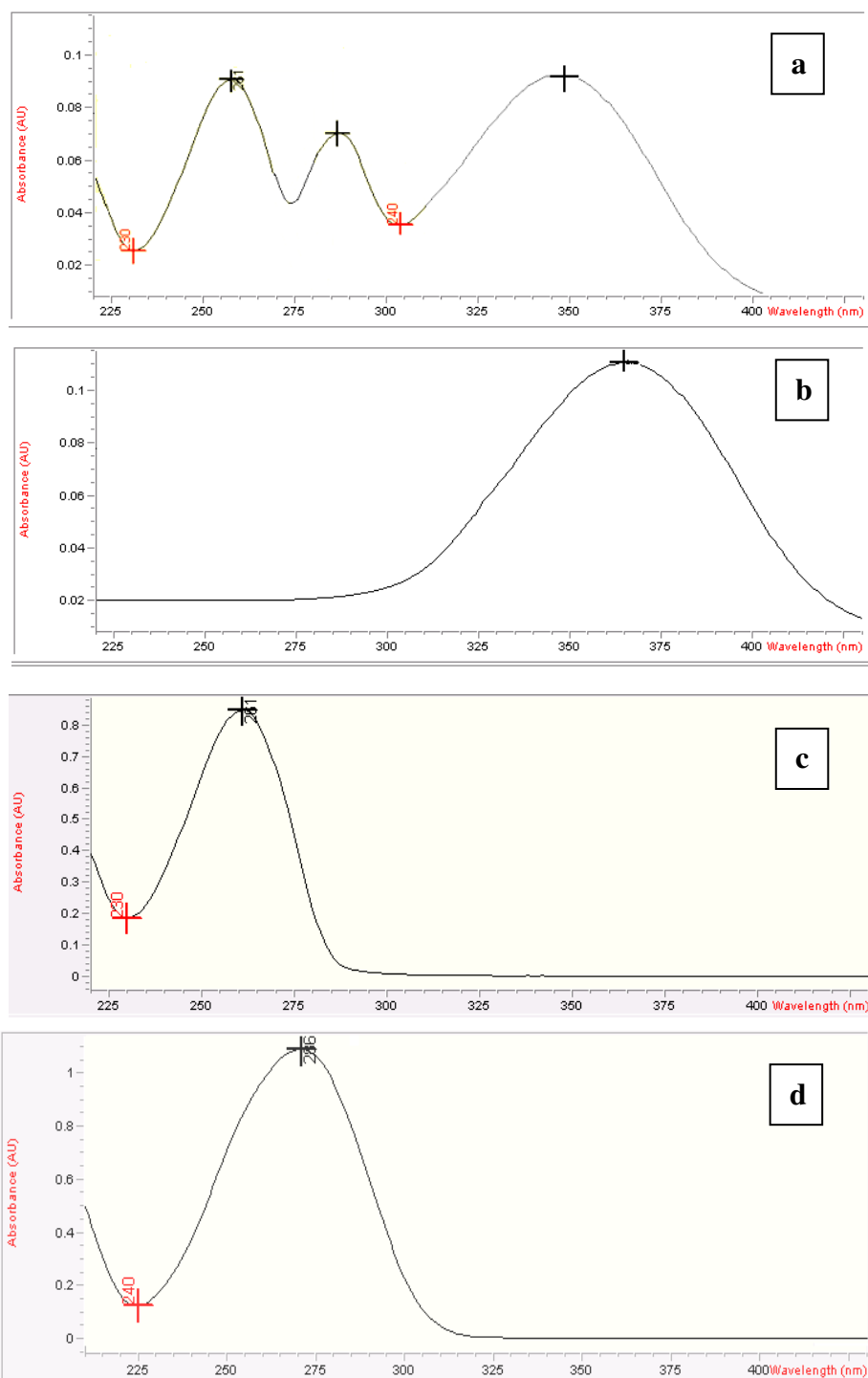
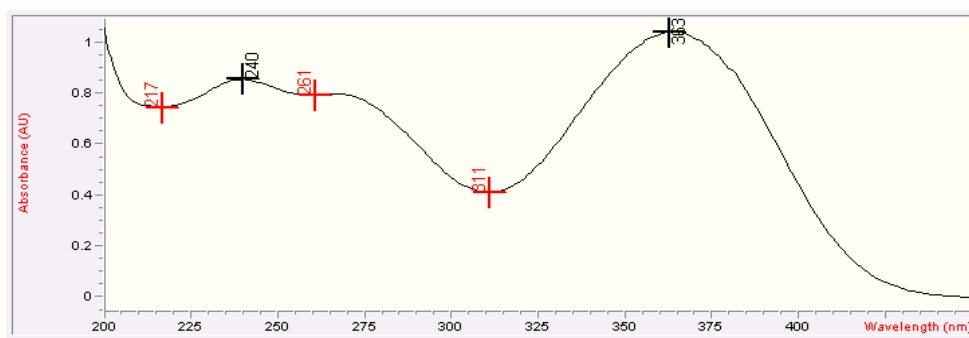
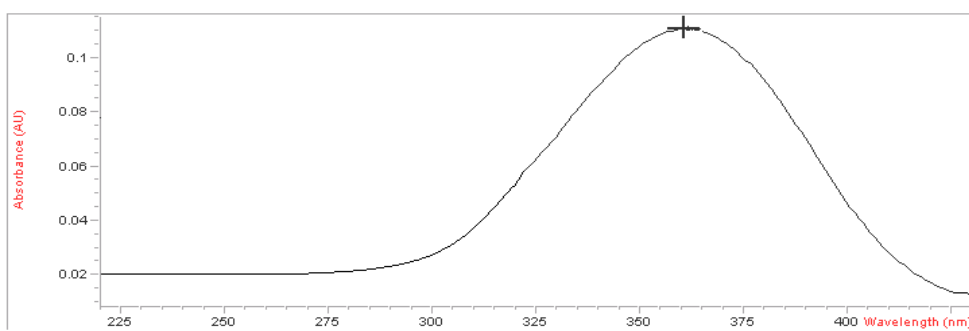


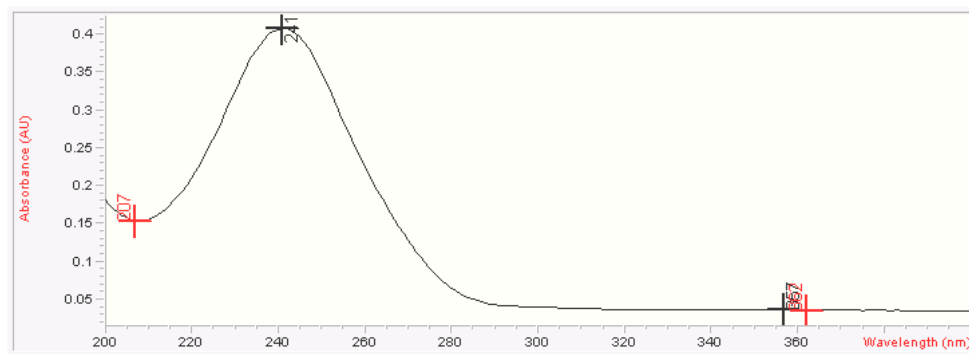
Fig. A 14.2. Spectrele de absorbție UV-VIS ale soluției probă de izohidrafural 8 $\mu\text{g/ml}$, metiluracil 16 $\mu\text{g/ml}$ și benzocaină 10 $\mu\text{g/ml}$ (a) și ale soluțiilor standard de izohidrafural 8 $\mu\text{g/ml}$ (b), metiluracil 16 $\mu\text{g/ml}$ (c) și benzocaină 10 $\mu\text{g/ml}$ (d)



a



b



c

Fig.A 14.3. Spectrele de absorbție UV-VIS ale soluției probă de izohidrafural 8 $\mu\text{g/ml}$ și fluocinolon acetone 10 $\mu\text{g/ml}$ (a) și ale soluțiilor standard de izohidrafural 8 $\mu\text{g/ml}$ (b) și fluocinolon acetone 10 $\mu\text{g/ml}$ (c)

Tabelul A 14.1. Determinarea ecuației regresiei liniare de dozare a IHF din unguentul combinat IHF+MTU

Seria	X_{ij} , μg/ml	Y_{ij}	$X_{ij} - X_{med}$	$(X_{ij} - X_{med})^2$	$Y_{ij} - Y_{med}$	$(Y_{ij} - Y_{med})^2$	$(X_{ij} - X_{med})^* (Y_{ij} - Y_{med})$
1	0	0	0	0	0	0	0
	2	0,1901	-7,833	61,361	-0,806	0,650	6,314
	5	0,4599	-4,833	23,361	-0,536	0,288	2,592
	7	0,6822	-2,833	8,028	-0,314	0,099	0,890
	10	0,9987	0,167	0,028	0,003	0,000	0,000
	15	1,5359	5,167	26,694	0,540	0,291	2,789
	20	2,1002	10,167	103,361	1,106	1,223	11,241
	Xmed = 9,833	Ymed = 0,995		Suma = 222,833		Suma = 2,546	Suma = 23,809
2	0	0	0	0	0	0	0
	2	0,1902	-7,833	61,361	-0,805	0,649	6,309
	5	0,4621	-4,833	23,361	-0,525	0,276	2,539
	7	0,6825	-2,833	8,028	-0,305	0,093	0,864
	10	0,9985	0,167	0,028	0,011	0,000	0,002
	15	1,5356	5,167	26,694	0,540	0,292	2,790
	20	2,1046	10,167	103,361	1,109	1,230	11,275
	Xmed = 9,833	Ymed = 0,996		Suma = 222,833		Suma = 2,553	Suma = 23,840
3	0	0	0	0	0	0	0
	2	0,1901	-7,833	61,361	-0,804	0,647	6,301
	5	0,4601	-4,833	23,361	-0,535	0,286	2,584
	7	0,6789	-2,833	8,028	-0,316	0,100	0,895
	10	0,9991	0,167	0,028	0,004	0,000	0,001
	15	1,5374	5,167	26,694	0,543	0,295	2,804
	20	2,1012	10,167	103,361	1,107	1,224	11,250
	Xmed = 9,833	Ymed = 0,994		Suma = 222,833		Suma = 2,552	Suma = 23,835

Tabelul A 14.2. Determinarea ecuației regresiei liniare de dozare a MTU din unguentul combinat IHF+MTU

Seria	X_{ij} , μg/ml	Y_{ij}	$X_{ij} - X_{med}$	$(X_{ij} - X_{med})^2$	$Y_{ij} - Y_{med}$	$(Y_{ij} - Y_{med})^2$	$(X_{ij} - X_{med}) * (Y_{ij} - Y_{med})$
1	0	0	0	0	0	0	0
	2	0,10267	-7,833	61,361	-0,447	0,200	3,503
	5	0,27542	-4,833	23,361	-0,274	0,075	1,327
	7	0,40121	-2,833	8,028	-0,149	0,022	0,421
	10	0,56251	0,167	0,028	0,013	0,000	0,002
	15	0,84152	5,167	26,694	0,292	0,085	1,507
	20	1,11591	10,167	103,361	0,566	0,320	5,755
	Xmed = 9,833	Ymed = 0,550		Suma = 222,833		Suma = 0,703	Suma = 12,514
2	0	0	0	0	0	0	0
	2	0,10288	-7,833	61,361	-0,446	0,199	3,492
	5	0,27142	-4,833	23,361	-0,277	0,077	1,340
	7	0,40121	-2,833	8,028	-0,147	0,022	0,418
	10	0,56315	0,167	0,028	0,015	0,000	0,002
	15	0,84224	5,167	26,694	0,294	0,086	1,517
	20	1,11091	10,167	103,361	0,562	0,316	5,716
	Xmed = 9,833	Ymed = 0,549		Suma = 222,833		Suma = 0,700	Suma = 12,485
3	0	0	0	0	0	0	0
	2	0,10339	-7,833	61,361	-0,447	0,200	3,505
	5	0,27841	-4,833	23,361	-0,272	0,074	1,317
	7	0,40012	-2,833	8,028	-0,151	0,023	0,427
	10	0,56281	0,167	0,028	0,012	0,000	0,002
	15	0,83952	5,167	26,694	0,289	0,083	1,492
	20	1,12051	10,167	103,361	0,570	0,325	5,792
	Xmed = 9,833	Ymed = 0,551		Suma = 222,833		Suma = 0,705	Suma = 12,534

Tabelul A 14.3. Rezultatele parametrilor de liniaritate ale metodelor de dozare a IHF și MTU din unguentul combinat IHF+MTU

Determinările		Parametrul de liniaritate		
		Covariația, S_{xy}	Panta, a	Intercepția, b
Izohidrafural	1	4,762	0,10685	-0,0562
	2	4,768	0,10699	-0,0564
	3	4,767	0,10697	-0,0574
	Media	4,766	0,10694	-0,0567
	Deviația standard	0,0032	0,000076	0,00064
	Deviația standard relativă, %	0,067	0,071	1,135
Metiluracil	1	2,506	0,05615	-0,00237
	2	2,497	0,05603	-0,00232
	3	2,507	0,05625	-0,00231
	Media	2,502	0,05614	-0,00233
	Deviația standard	0,00503	0,00011	0,000032
	Deviația standard relativă, %	0,201	0,196	1,378

Tabelul A 14.4. Rezultatele determinării preciziei metodelor spectrofotometrice UV-VIS de dozare a IHF și MTU din unguentul combinat

Repetabilitatea				Precizia intermediară							
				Ziua 1				Ziua 2			
Izohidrafural		Metiluracil		Izohidrafural		Metiluracil		Izohidrafural		Metiluracil	
A	C, g	A	C, g	A	C, g	A	C, g	A	C, g	A	C, g
0,39779	0,09967	0,69151	3,98918	0,42214	0,10547	0,69272	3,99616	0,42187	0,10539	0,69217	3,99326
0,40125	0,10052	0,69012	3,98116	0,41964	0,10485	0,69233	3,99391	0,42369	0,10585	0,69233	3,99419
0,42136	0,10555	0,69272	3,99616	0,42346	0,10580	0,69218	3,99304	0,43011	0,10745	0,69375	4,00238
0,42113	0,10554	0,68903	3,97487	0,41766	0,10435	0,69214	3,99281	0,41888	0,10464	0,69125	3,98796
0,42135	0,10536	0,69842	4,02904	0,42245	0,10555	0,69302	3,99789	0,42238	0,10552	0,69113	3,98726
0,41752	0,10459	0,69854	4,02973	0,42237	0,10553	0,69721	4,02206	0,42237	0,10552	0,69227	3,99384

Tabelul A 14.5. Evaluarea statistică a rezultatelor determinării preciziei metodelor spectrofotometrice UV-VIS de dozare a IHF și MTU din unguentul combinat

Numărul măsurărilor	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
Valoarea medie	$\bar{X}$	0,41340	0,10354	0,69339	4,00002	0,42129	0,10526	0,69327	3,99931	0,42322	0,10573	0,69215	3,99315
Abaterea standard	S^2	0,000119	0,000007	0,000017	0,000569	0,000005	0,0000003	0,000004	0,0001280	0,000014	0,000001	0,000001	0,000030
	S	0,0109	0,00270	0,00414	0,02386	0,002184	0,0005456	0,001961	0,0113154	0,00374	0,00093	0,000944	0,005447
Abaterea medie pătratică	S_x	0,00445	0,00110	0,00169	0,00974	0,000891	0,0002227	0,000801	0,0046195	0,00153	0,00038	0,000385	0,002224
Deviația standard relativă	RSD	1,63786	1,61184	0,59641	0,59641	0,518341	0,5183407	0,282934	0,2829338	0,8827	0,8827	0,136416	0,136416
Probabilitate	P	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95
Coeficientul Student	T	2,57058	2,5706	2,57058	2,5706	2,570582	2,5705818	2,570582	2,5705818	2,57058	2,57058	2,570582	2,570582
Interval de încredere	$\Delta\bar{X}$	0,01144	0,00284	0,00434	0,02504	0,00229	0,00057	0,00206	0,01187	0,00392	0,00098	0,00099	0,00572
Rezultatul final	$\bar{X} + \Delta\bar{X}$	0,42484	0,10637	0,69773	4,02506	0,42358	0,10583	0,69533	4,01119	0,42714	0,10671	0,69314	3,99887
	$\bar{X} - \Delta\bar{X}$	0,4020	0,1007	0,6891	3,9750	0,4190	0,1047	0,6912	3,9874	0,4193	0,1047	0,6912	3,9874

Tabelul A 14.6. Determinarea ecuației regresiei liniare de dozare a IHF din unguentul combinat IHF+MTU+BNZ

Seria	X_{ij} , μg/ml	Y_{ij}	$X_{ij} - X_{med}$	$(X_{ij} - X_{med})^2$	$Y_{ij} - Y_{med}$	$(Y_{ij} - Y_{med})^2$	$(X_{ij} - X_{med})^*$ $(Y_{ij} - Y_{med})$
1	0	0	0	0	0	0	0
	2	0,2265	-3,000	9,000	-0,360	0,135	1,103
	4	0,4699	-1,000	1,000	-0,127	0,015	0,124
	6	0,6822	1,000	1,000	0,085	0,008	0,088
	8	0,9987	3,000	9,000	0,402	0,164	1,213
	$X_{med} =$ 5,000	$Y_{med} =$ 0,594		Suma = 20,000		Suma = 0,322	Suma = 2,592
2	0	0	0	0	0	0	0
	2	0,2254	-3,000	9,000	-0,369	0,136	1,107
	4	0,4721	-1,000	1,000	-0,122	0,015	0,122
	6	0,6825	1,000	1,000	0,088	0,008	0,088
	8	0,9978	3,000	9,000	0,403	0,163	1,210
	$X_{med} =$ 5,000	$Y_{med} =$ 0,594		Suma = 20,000		Suma = 0,322	Suma = 2,528
3	0	0	0	0	0	0	0
	2	0,2231	-3,000	9,000	-0,372	0,138	1,115
	4	0,4761	-1,000	1,000	-0,119	0,014	0,119
	6	0,6819	1,000	1,000	0,087	0,008	0,087
	8	0,9981	3,000	9,000	0,403	0,163	1,210
	$X_{med} =$ 5,000	$Y_{med} =$ 0,595		Suma = 20,000		Suma = 0,322	Suma = 2,531

Tabelul A 14.7. Rezultatele parametrilor de liniaritate pentru dozarea IHF din unguentul combinat IHF+MTU+BNZ

Determinările	Parametrul de liniaritate		
	Covariația, S_{XY}	Panta, a	Intercepția, B
1	0,843	0,12645	-0,0379
2	0,843	0,12638	-0,0375
3	0,844	0,12654	-0,0379
Media	0,843	0,12646	-0,0378
Deviația standard	0,00058	0,00008	0,00023
Deviația standard relativă, %	0,068	0,064	0,611

Tabelul A 14.8. Rezultatele determinării preciziei metodei spectrofotometrice UV-VIS de dozare a IHF din unguentul combinat IHF+MTU+BNZ

Repetabilitatea		Precizia intermediară			
		Ziua 1		Ziua 2	
A	C, g	A	C, g	A	C, g
0,57779	0,09909	0,58832	0,10086	0,57824	0,09914
0,58125	0,09966	0,57929	0,09931	0,57841	0,09916
0,58016	0,09945	0,57876	0,09923	0,57834	0,09916
0,58113	0,09964	0,58434	0,10019	0,57863	0,09921
0,58135	0,09950	0,57827	0,09914	0,57811	0,09912
0,58752	0,10073	0,57833	0,09917	0,57240	0,09816

Tabelul A 14.9. Evaluarea statistică a rezultatelor determinării preciziei metodei spectrofotometrice UV-VIS de dozare a IHF din unguentul combinat IHF+MTU+BNZ

Numărul de măsurări	N	6	6	6	6	6	6
Valoarea medie	$\bar{X}$	0,58153	0,09968	0,58122	0,09965	0,57736	0,09899
Abaterea standard	S^2	0,00001	0,0000003	0,000017	0,0000005	0,0000059	0,00000017
	S	0,00322	0,00056	0,004170	0,000712	0,002434	0,000409
Abaterea medie pătratică	S_x	0,00131	0,00023	0,001702	0,0002907	0,000994	0,0001670
Deviația standard relativă	RSD	0,55463	0,55953	0,717586	0,7146629	0,421523	0,41316224
Probabilitate	P	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95
Coeficientul Student	T	2,57058	2,5706	2,5706	2,5705818	2,5706	2,57058183
Interval de încredere	$\Delta\bar{X}$	0,00338	0,00059	0,00438	0,00075	0,00255	0,00043
Rezultatul final	$\bar{X} + \Delta\bar{X}$	0,58492	0,10026	0,58560	0,10040	0,57991	0,09942
	$\bar{X} - \Delta\bar{X}$	0,5781	0,0991	0,5768	0,0989	0,5748	0,0986

Tabelul A 14.10. Determinarea ecuației regresiei liniare de dozare a IHF din unguentul combinat IHF+FLAc

Seria	X_{ij} , μg/ml	Y_{ij}	$X_{ij} - X_{med}$	$(X_{ij} - X_{med})^2$	$Y_{ij} - Y_{med}$	$(Y_{ij} - Y_{med})^2$	$(X_{ij} - X_{med})^*$ $(Y_{ij} - Y_{med})$
1	0	0	0	0	0	0	0
	4	0,07504	-12,167	148,028	-0,306	0,094	3,723
	8	0,16141	-8,167	66,694	-0,220	0,048	1,794
	10	0,21035	-6,167	38,028	-0,171	0,029	1,053
	15	0,34758	-1,167	1,361	-0,033	0,001	0,039
	20	0,48153	3,833	14,694	0,100	0,010	0,385
	40	1,0104	23,833	568,028	0,629	0,396	14,999
	Xmed =	Ymed =		Suma =		Suma =	Suma =
	16,167	0,381		836,833		0,578	21,993
2	0	0	0	0	0	0	0
	4	0,07326	-12,167	148,028	-0,308	0,095	3,752
	8	0,16236	-8,167	66,694	-0,219	0,048	1,791
	10	0,21145	-6,167	38,028	-0,170	0,029	1,050
	15	0,35045	-1,167	1,361	-0,031	0,001	0,036
	20	0,48127	3,833	14,694	0,100	0,010	0,382
	40	1,01127	23,833	568,028	0,630	0,396	15,005
	Xmed =	Ymed =		Suma =		Suma =	Suma =
	16,167	0,382		836,833		0,579	22,017
3	0	0	0	0	0	0	0
	4	0,07447	-12,167	148,028	-0,307	0,094	3,740
	8	0,16119	-8,167	66,694	-0,221	0,049	1,802
	10	0,21136	-6,167	38,028	-0,171	0,029	1,051
	15	0,34878	-1,167	1,361	-0,033	0,001	0,039
	20	0,48088	3,833	14,694	0,099	0,010	0,380
	40	1,01454	23,833	568,028	0,633	0,400	15,079
	Xmed =	Ymed =		Suma =		Suma =	Suma =
	16,167	0,382		836,833		0,583	22,091

**Tabelul A 14.11. Determinarea ecuației regresiei liniare de dozare a FLAc din
unguentul combinat IHF+FLAc**

Seria	X_{ij} , μg/ml	Y_{ij}	$X_{ij} - X_{med}$	$(X_{ij} - X_{med})^2$	$Y_{ij} - Y_{med}$	$(Y_{ij} - Y_{med})^2$	$(X_{ij} - X_{med}) * (Y_{ij} - Y_{med})$
1	0	0	0	0	0	0	0
	2	0,07376	-6,333	40,111	-0,228	0,052	1,442
	4	0,1371	-4,333	18,778	-0,164	0,027	0,712
	6	0,21825	-2,333	5,444	-0,083	0,007	0,194
	8	0,2912	-0,333	0,111	-0,010	0,000	0,003
	10	0,3655	1,667	2,778	0,064	0,004	0,107
	20	0,7225	11,667	136,111	0,421	0,177	4,913
	Xmed = 8,333	Ymed = 0,301		Suma = 203,333		Suma = 0,267	Suma = 7,371
2	0	0	0	0	0	0	0
	2	0,07351	-6,333	40,111	-0,227	0,052	1,440
	4	0,13687	-4,333	18,778	-0,164	0,027	0,711
	6	0,21887	-2,333	5,444	-0,082	0,007	0,191
	8	0,28921	-0,333	0,111	-0,012	0,000	0,004
	10	0,36534	1,667	2,778	0,065	0,004	0,108
	20	0,72122	11,667	136,111	0,420	0,177	4,904
	Xmed = 8,333	Ymed = 0,301		Suma = 203,333		Suma = 0,266	Suma = 7,357
3	0	0	0	0	0	0	0
	2	0,07387	-6,333	40,111	-0,231	0,053	1,464
	4	0,13821	-4,333	18,778	-0,167	0,028	0,723
	6	0,22016	-2,333	5,444	-0,085	0,007	0,198
	8	0,30112	-0,333	0,111	-0,004	0,000	0,001
	10	0,3653	1,667	2,778	0,060	0,004	0,101
	20	0,73121	11,667	136,111	0,426	0,182	4,973
	Xmed = 8,333	Ymed = 0,305		Suma = 203,333		Suma = 0,274	Suma = 7,459

Tabelul A 14.12. Rezultatele parametrilor de liniaritate pentru dozarea IHF și FLAc din unguentul combinat IHF+FLAc

Determinările		Parametrul de liniaritate		
		Covariația, S_{XY}	Panta, a	Intercepția, b
Izohidrafural	1	4,399	0,02628	-0,0438
	2	4,403	0,02631	-0,0437
	3	4,418	0,02640	-0,0449
	Media	4,407	0,02633	-0,04413
	Deviația standard	0,01	0,00062	0,00067
	Deviația standard relativă, %	0,227	0,237	1,509
Fluocinolon acetonid	1	1,474	0,03625	-0,000696
	2	1,471	0,03618	-0,000695
	3	1,492	0,03668	-0,000710
	Media	1,479	0,03637	-0,000700
	Deviația standard	0,0114	0,00027	0,000008
	Deviația standard relativă, %	0,768	0,7444	1,1975

Tabelul A 14.13. Rezultatele determinării preciziei metodei spectrofotometrice UV-VIS de dozare a substanțelor active din unguentul combinat IHF+FLAc

Repetabilitatea				Precizia intermediară							
				Ziua 1				Ziua 2			
Izohidrafural		Fluocinolon acetonid		Izohidrafural		Fluocinolon acetonid		Izohidrafural		Fluocinolon acetonid	
A	C, g	A	C, g	A	C, g	A	C, g	A	C, g	A	C, g
0,15902	0,09998	0,37702	0,02503	0,15905	0,09999	0,37708	0,02524	0,15903	0,10000	0,36503	0,02499
0,15905	0,09996	0,37225	0,02524	0,15903	0,09999	0,37624	0,02519	0,15912	0,09997	0,36502	0,02499
0,15917	0,09999	0,36748	0,02460	0,15902	0,09994	0,36941	0,02473	0,15906	0,09996	0,36502	0,02501
0,15903	0,09999	0,37082	0,02482	0,15908	0,09997	0,37012	0,02478	0,15901	0,09999	0,36502	0,02502
0,15904	0,09996	0,37129	0,02485	0,15905	0,10000	0,37029	0,02479	0,15905	0,09997	0,36501	0,02499
0,15904	0,09995	0,37177	0,02489	0,15903	0,09995	0,37077	0,02482	0,15901	0,09999	0,36501	0,02499

Tabelul A 14.14. Evaluarea statistică a rezultatelor determinării preciziei metodei spectrofotometrice UV-VIS de dozare a substanțelor active din unguentul combinat IHF+FLAc

Numărul de măsurări	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
Valoarea medie	$\bar{X}$	0,15906	0,09997	0,37177	0,02491	0,15904	0,09997	0,37232	0,02492	0,15905	0,09998	0,36502	0,02500
Abaterea standard	S^2	3,096E-09	2,33E-10	9,47E-06	4,60E-08	4,66E-10	5,87E-10	1,16E-05	5,14E-08	1,707E-09	3,067E-10	5,67E-11	1,06E-10
	S	5,564E-05	0,00002	0,0031	0,0002	2,16E-05	2,424E-05	0,0034	0,0002	4,13E-05	1,75E-05	7,53E-06	1,03E-05
Abaterea medie pătratică	S_x	2,271E-05	6,24E-06	0,0013	0,00009	8,82E-06	0,0000099	0,001389	0,0000925	1,69E-05	7,15E-06	3,07E-06	4,2E-06
Deviația standard relativă	RSD	0,034985	0,01530	0,8276	0,86	0,013583	0,02424	0,9136	0,91	0,025975	0,017517	0,002062	0,041119
Probabilitate	P	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95
Coeficientul Student	t	2,57058	2,5706	2,57058	2,5706	2,570582	2,57058	2,570582	2,5705818	2,570582	2,570582	2,570582	2,570582
Interval de încredere	$\Delta\bar{X}$	5,839E-05	0,00002	0,003228	0,00023	0,00002	0,00003	0,00357	0,00024	0,00004	0,00002	0,00001	0,00001
Rezultatul final	$\bar{X} + \Delta\bar{X}$	0,15912	0,09999	0,37500	0,02513	0,15907	0,10000	0,37589	0,02516	0,15909	0,10000	0,36503	0,02501
	$\bar{X} - \Delta\bar{X}$	0,1590	0,1000	0,3685	0,0247	0,1590	0,0999	0,3687	0,0247	0,1590	0,1000	0,3650	0,0250

Anexa 15. Analiza calității unguentelor combinate prin metoda HPLC

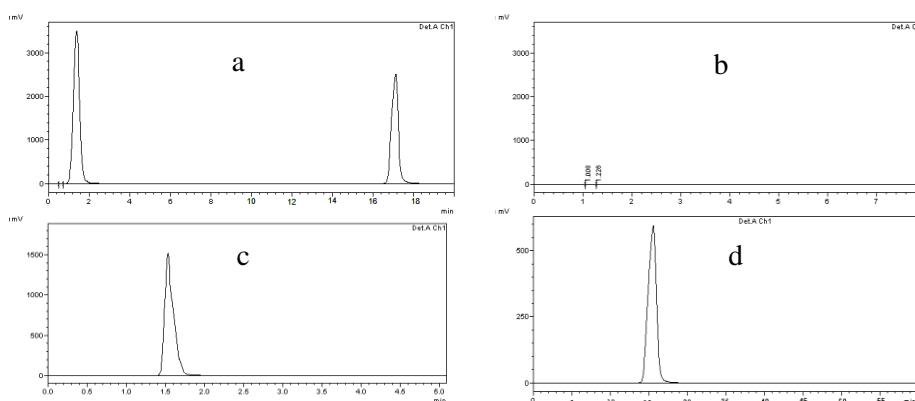


Fig. A 15.1. Cromatogramele soluției probă de izohidrafural 10 $\mu\text{g/ml}$ și metiluracil 400 $\mu\text{g/ml}$ (a), soluției placebo (b) și ale soluțiilor standard de metiluracil 400 $\mu\text{g/ml}$ (c) și izohidrafural 10 $\mu\text{g/ml}$ (d)

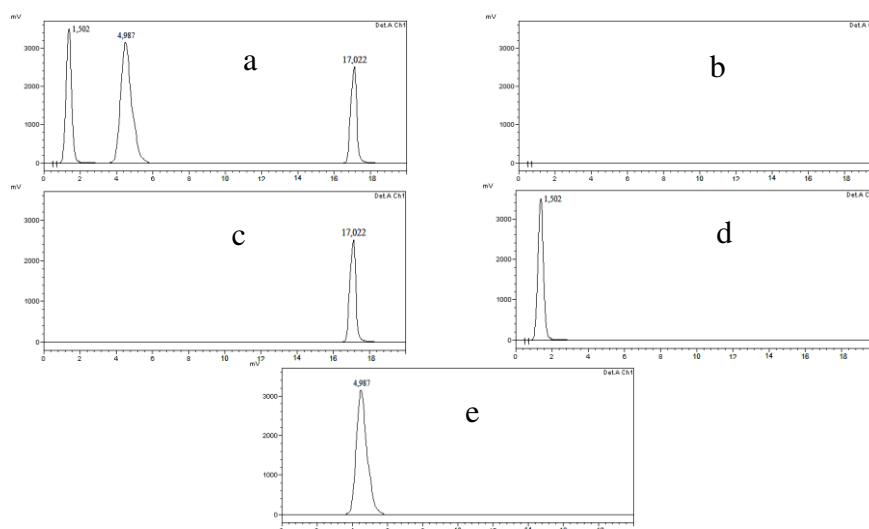


Fig. A 15.2. Cromatogramele soluției probă de izohidrafural 10 $\mu\text{g/ml}$, metiluracil 400 $\mu\text{g/ml}$ și benzocaină 100 $\mu\text{g/ml}$ (a), soluției placebo (b) și ale soluțiilor standard de izohidrafural 10 $\mu\text{g/ml}$ (c), metiluracil 400 $\mu\text{g/ml}$ (d) și benzocaină 100 $\mu\text{g/ml}$ (e)

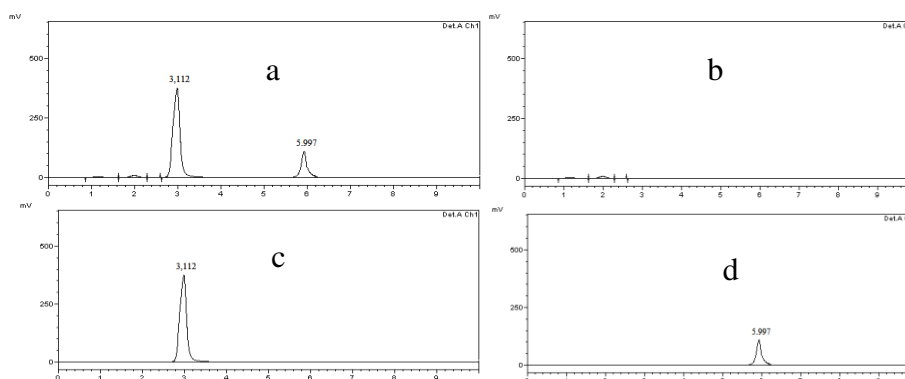


Fig. A 15.3. Cromatogramele soluției probă de izohidrafural 100 $\mu\text{g/ml}$ și fluocinolon acetamid 25 $\mu\text{g/ml}$ (a), soluției placebo (b) și ale soluțiilor standard de izohidrafural 100 $\mu\text{g/ml}$ (c) și fluocinolon acetamid 25 $\mu\text{g/ml}$ (d)

Tabelul A 15.1. Calculele determinării ecuației regresiei liniare de dozare a IHF din unguentul combinat IHF+MTU

Seria	$X_{ij}, \mu\text{g/ml}$	Y_{ij}	$X_{ij} - X_{med}$	$(X_{ij} - X_{med})^2$	$Y_{ij} - Y_{med}$	$(Y_{ij} - Y_{med})^2$	$(X_{ij} - X_{med})^* (Y_{ij} - Y_{med})$
1	0	0	0	0	0	0	0
	8	7305188,75	-2,000	4,000	-1773382,918	3144886973854,2	3546765,836
	9	8162085,09	-1,000	1,000	-916486,578	839947647654,15	916486,578
	10	9068076,54	0	0	-10495,128	110147711,74	0
	11	9984884,19	1,000	1,000	906312,522	821402387534,00	906312,522
	12	10872623,77	2,000	4,000	1794052,102	3218622944690,61	3588104,204
	Xmed = 10,000	Ymed = 9078571,668		Suma = 10,000		Suma = 8024970101444,70	Suma = 8957669,140
2	0	0	0	0	0	0	0
	8	7451292,53	-2,000	4,000	-1808850,570	3271940384589,3	3617701,140
	9	8325326,79	-1,000	1,000	-934816,310	873881533442,02	934816,310
	10	9249438,07	0	0	-10705,030	114597667,30	0
	11	10184581,87	1,000	1,000	924438,770	854587039479,11	924438,770
	12	11090076,24	2,000	4,000	1829933,140	3348655296870,26	3659866,280
	Xmed = 10,000	Ymed = 9260143,100		Suma = 10,000		Suma = 8349178852048,01	Suma = 9136822,500
3	0	0	0	0	0	0	0
	8	7278240,64	-2,000	4,000	-1811116,746	3280143867641,6	3622233,492
	9	8143705,94	-1,000	1,000	-945651,446	894256657321,89	945651,446
	10	9058757,31	0	0	-30600,076	936364651,21	0
	11	9984733,03	1,000	1,000	895375,644	801697543868,41	895375,644
	12	10981350,01	2,000	4,000	1891992,624	3579636089270,40	3783985,248
	Xmed = 10,000	Ymed = 9089357,386		Suma = 10,000		Suma = 8556670522753,54	Suma = 9247245,830

Tabelul A 15.2. Calculele determinării ecuației regresiei liniare de dozare a MTU din unguentul combinat cu conținut de IHF+MTU

Seria	X_{ij} , μg/ml	Y_{ij}	$X_{ij} - X_{med}$	$(X_{ij} - X_{med})^2$	$Y_{ij} - Y_{med}$	$(Y_{ij} - Y_{med})^2$	$(X_{ij} - X_{med}) * (Y_{ij} - Y_{med})$
1	0	0	0	0	0	0	0
	320	12287848,41	-80,000	6400,000	-2899943,192	8409670516827,1	231995455,360
	360	13798829,46	-40,000	1600,000	-1388962,142	1929215831909,22	55558485,680
	400	15118299,53	0	0	-69492,072	4829148070,85	0
	440	16609129,48	40,000	1600,000	1421337,878	2020201363437,55	56853515,120
	480	18124851,13	80,000	6400,000	2937059,528	8626318671015,59	234964762,240
	Xmed = 400,000	Ymed = 15187791,60		Suma = 16000,000		Suma = 20990235531260,30	Suma = 579372218,400
2	0	0	0	0	0	0	0
	320	12202217,21	-80,000	6400,000	-2946365,450	8681069364953,7	235709236,000
	360	13768931,23	-40,000	1600,000	-1379651,430	1903438068301,05	55186057,200
	400	15071796,47	0	0	-76786,190	5896118974,72	0
	440	16578521,21	40,000	1600,000	1429938,550	2044724256776,10	57197542,000
	480	18121447,18	80,000	6400,000	2972864,520	8837923454274,82	237829161,600
	Xmed = 400,000	Ymed = 15148582,660		Suma = 16000,000		Suma = 21473051263280,40	Suma = 585921996,800
3	0	0	0	0	0	0	0
	320	12198574,21	-80,000	6400,000	-2989307,330	8935958313191,7	239144586,400
	360	13775488,17	-40,000	1600,000	-1412393,370	1994855031619,97	56495734,800
	400	15101764,16	0	0	-86117,380	7416203138,06	0
	440	16748923,23	40,000	1600,000	1561041,690	2436851157918,05	62441667,600
	480	18114657,93	80,000	6400,000	2926776,390	8566020037061,41	234142111,200
	Xmed = 400,000	Ymed = 15187881,540		Suma = 16000,000		Suma = 21941100742929,20	Suma = 592224100,000

Tabelul A 15.3. Rezultatele parametrilor de liniaritate de dozare a substanțelor active din unguentul combinat IHF+MTU

Determinările		Parametrul de liniaritate		
		Covariația, S_{XY}	Panta, a	Intercepția, b
Izohidrafural	1	2239417,3	895766,9	120902,5
	2	2284205,6	913682,3	123320,6
	3	2311811,5	924724,6	157888,4
	Media	2278478,1	911391,3	134037,2
	Deviația standard	36535,4	14614,2	20691,1
	Deviația standard relativă, %	1,603	1,604	15,44
Metiluracil	1	144843054,6	36210,8	703486,1
	2	146480499,2	36620,1	500532,7
	3	148056025,0	37014,0	382279,0
	Media	146459859,6	36614,9	528765,9
	Deviația standard	1606584,6	401,6	162454,1
	Deviația standard relativă, %	1,097	1,097	30,72

Tabelul A 15.4. Rezultatele determinării preciziei metodei HPLC de dozare a IHF din unguentul combinat IHF+MTU

Repetabilitatea			Precizia intermediară					
			Ziua 1			Ziua 2		
t _R , min	A	C, g	t _R , min	A	C, g	t _R , min	A	C, g
17,019	8835607,65	0,09989	17,019	8842046,2	0,09995	17,019	8853893,19	0,09990
17,020	8930121,14	0,10004	17,020	8837890,1	0,09991	17,019	8843626,46	0,09998
17,017	8838789,22	0,09991	17,019	8841139,5	0,09995	17,018	8844893,22	0,09990
17,018	8842911,23	0,09995	17,018	8852106,2	0,10004	17,020	8841798,35	0,09992
17,019	8841203,02	0,09995	17,019	8838873,1	0,09992	17,020	8844787,27	0,09996
17,019	8945702,22	0,09991	17,019	8843141,3	0,09991	17,019	8841789,89	0,09990

Tabelul A 15.5. Evaluarea statistică a rezultatelor determinării preciziei metodei HPLC de dozare a IHF din unguentul combinat IHF+MTU

Numărul de măsurări	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6
Valoarea medie	$\bar{X}$	17,019	8,87E+06	0,0999	17,019	8,84E+06	0,0999	17,019	8,85E+06	0,0999
Abaterea standard	S ²	1,07E-06	2,61E+09	3,06E-09	4,00E-07	2,58E+07	2,55E-09	5,67E-07	2,03E+07	1,14E-09
	S	0,001	51051,240	0,00006	0,001	5082,237	0,00005	0,001	4505,194	0,00003
Abaterea medie pătratică	S_x	4,22E-04	2,08E+04	2,26E-05	2,58E-04	2,07E+03	2,06E-05	3,07E-04	1,84E+03	1,38E-05
Deviația standard relativă	RSD	0,006	0,575	0,055	0,004	0,057	0,050	0,004	0,051	0,034
Probabilitate	P	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95
Coeficientul Student	t	2,571	2,571	2,571	2,571	2,571	2,571	2,571	2,571	2,571
Interval de încredere	$\Delta\bar{X}$	0,001	53574,990	0,0001	0,001	5333,481	0,0001	0,001	4727,911	0,0000
Rezultatul final	$\bar{X} + \Delta\bar{X}$	17,020	8925964,07	0,10000	17,020	8847866,22	0,10000	17,020	8849859,31	0,09996
	$\bar{X} - \Delta\bar{X}$	17,018	8818814,09	0,09988	17,018	8837199,25	0,09989	17,018	8840403,49	0,09989

Tabelul A 15.6. Rezultatele determinării preciziei metodei HPLC de dozare a MTU din unguentul combinat IHF+MTU

Repetabilitatea			Precizia intermediară					
			Ziua 1			Ziua 2		
t _R , min	A	C, g	t _R , min	A	C, g	t _R , min	A	C, g
1,501	15140849,32	4,00399	1,502	15112478,53	4,00012	1,501	15130187,63	4,00109
1,502	15124723,54	3,99972	1,502	15108648,21	3,99931	1,501	15111259,34	3,99900
1,501	15120879,91	4,00270	1,501	15109615,17	3,99948	1,501	15110649,17	3,99987
1,501	15108879,62	3,99953	1,501	15109623,21	3,99924	1,502	15111036,47	4,00010
1,503	15130874,68	4,00535	1,503	15109732,16	3,99931	1,503	15107567,19	3,99906
1,501	15106988,14	3,99903	1,501	15113648,18	4,00059	1,503	15108059,97	3,99935

Tabelul A 15.7. Evaluarea statistică a rezultatelor determinării preciziei metodei HPLC de dozare a MTU din unguentul combinat IHF+MTU

Numărul de măsurări	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6
Valoarea medie	$\bar{X}$	1,502	1,51E+07	4,0017	1,502	1,51E+07	3,9997	1,502	1,51E+07	3,9997
Abaterea standard	S ²	7,00E-07	1,68E+08	7,07E-06	6,67E-07	3,86E+06	3,05E-07	9,67E-07	7,23E+07	6,25E-07
	S	0,001	12961,414	0,00266	0,001	1964,861	0,00055	0,001	8504,699	0,00079
Abaterea medie pătratică	S_x	3,42E-04	5,29E+03	1,09E-03	3,33E-04	8,02E+02	2,25E-04	4,01E-04	3,47E+03	3,23E-04
Deviația standard relativă	RSD	0,056	0,086	0,066	0,054	0,013	0,014	0,065	0,056	0,020
Probabilitate	P	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95
Coeficientul Student	t	2,571	2,571	2,571	2,571	2,571	2,571	2,571	2,571	2,571
Interval de încredere	$\Delta\bar{X}$	0,001	13602,170	0,0028	0,001	2061,995	0,0006	0,001	8925,134	0,0008
Rezultatul final	$\bar{X} + \Delta\bar{X}$	1,502	15135801,37	4,00451	1,503	15112686,24	4,00025	1,503	15122051,76	4,00057
	$\bar{X} - \Delta\bar{X}$	1,501	15108597,03	3,99893	1,501	15108562,25	3,99910	1,501	15104201,49	3,99891

**Tabelul A 15.8. Calculele determinării ecuației regresiei liniare de dozare a IHF din unguentul combinat
IHF+MTU+BNZ**

Seria	X_{ij} , μg/ml	Y_{ij}	$X_{ij} - X_{med}$	$(X_{ij} - X_{med})^2$	$Y_{ij} - Y_{med}$	$(Y_{ij} - Y_{med})^2$	$(X_{ij} - X_{med}) * (Y_{ij} - Y_{med})$
1	0	0	0	0	0	0	0
	8	7670448,19	-2,000	4,000	-1802052,066	3247391648574,9	3604104,132
	9	8270189,34	-1,000	1,000	-1202310,916	1445551538732,76	1202310,916
	10	9521480,37	0	0	48980,114	2399051567,45	0
	11	10484128,42	1,000	1,000	1011628,164	1023391542198,01	1011628,164
	12	11416254,96	2,000	4,000	1943754,704	3778182349322,13	3887509,408
	Xmed = 10,000	Ymed = 9472500,256		Suma = 10,000		Suma = 9496916130395,22	Suma = 9705552,620
2	0	0	0	0	0	0	0
	8	7693857,16	-2,000	4,000	-1823893,100	3326586040227,6	3647786,200
	9	8444593,13	-1,000	1,000	-1073157,130	1151666225669,83	1073157,130
	10	9411909,97	0	0	-105840,290	11202166987,28	0
	11	10493810,96	1,000	1,000	976060,700	952694490084,49	976060,700
	12	11544580,08	2,000	4,000	2026829,820	4108039119241,23	4053659,640
	Xmed = 10,000	Ymed = 9517750,260		Suma = 10,000		Suma = 9550188042210,45	Suma = 9750663,670
3	0	0	0	0	0	0	0
	8	7694935,08	-2,000	4,000	-1915783,851	3670227762219,8	3831567,701
	9	8632328,30	-1,000	1,000	-978390,633	957248229959,43	978390,633
	10	9502282,75	0	0	-108436,180	11758405046,24	0
	11	10583817,51	1,000	1,000	973098,581	946920849122,69	973098,581
	12	11640231,01	2,000	4,000	2029512,081	4118919288548,56	4059024,163
	Xmed = 10,000	Ymed = 9610718,929		Suma = 10,000		Suma = 9705074534896,69	Suma = 9842081,078

**Tabelul A 15.9. Calculele determinării ecuației regresiei liniare de dozare a MTU din unguentul combinat
IHF+MTU+BNZ**

Seria	X_{ij} , μg/ml	Y_{ij}	$X_{ij} - X_{med}$	$(X_{ij} - X_{med})^2$	$Y_{ij} - Y_{med}$	$(Y_{ij} - Y_{med})^2$	$(X_{ij} - X_{med})^* (Y_{ij} - Y_{med})$
1	0	0	0	0	0	0	0
	320	12548483,86	-80,000	6400,000	-3073341,488	9445427901862,1	245867319,040
	360	14212794,34	-40,000	1600,000	-1409031,008	1985368381505,49	56361240,320
	400	15571848,52	0	0	-49976,828	2497683336,94	0
	440	17107403,36	40,000	1600,000	1485578,012	2206942029737,87	59423120,480
	480	18668596,66	80,000	6400,000	3046771,312	9282815427626,21	243741704,960
	Xmed = 400,000	Ymed = 15621825,35		Suma = 16000,000		Suma = 22923051424068,60	Suma = 605393384,800
2	0	0	0	0	0	0	0
	320	12558283,73	-80,000	6400,000	-3042756,412	9258366582767,1	243420512,960
	360	14181999,17	-40,000	1600,000	-1419040,972	2013677280214,71	56761638,880
	400	15523950,36	0	0	-77089,782	5942834488,81	0
	440	17075876,85	40,000	1600,000	1474836,708	2175143315264,28	58993468,320
	480	18665090,6	80,000	6400,000	3064050,458	9388405209170,01	245124036,640
	Xmed = 400,000	Ymed = 15601040,142		Suma = 16000,000		Suma = 22841535221904,90	Suma = 604299656,800
3	0	0	0	0	0	0	0
	320	12544531,44	-80,000	6400,000	-3147186,548	9904783167912,2	251774923,840
	360	14259752,82	-40,000	1600,000	-1431965,168	2050524242365,27	57278606,720
	400	15754817,08	0	0	63099,092	3981495411,22	0
	440	17251390,93	40,000	1600,000	1559672,942	2432579686006,93	62386917,680
	480	18648097,67	80,000	6400,000	2956379,682	8740180824142,43	236510374,560
	Xmed = 400,000	Ymed = 15691717,988		Suma = 16000,000		Suma = 23132049415838,00	Suma = 607950822,800

Tabelul A 15.10. Calculele determinării ecuației regresiei liniare de dozare a BNZ din unguentul combinat cu conținut de IHF+MTU+BNZ

Seria	X_{ij} , μg/ml	Y_{ij}	$X_{ij} - X_{med}$	$(X_{ij} - X_{med})^2$	$Y_{ij} - Y_{med}$	$(Y_{ij} - Y_{med})^2$	$\frac{(X_{ij} - X_{med}) * (Y_{ij} - Y_{med})}{(X_{ij} - X_{med})^2}$
1	0	0	0	0	0	0	0
	80	9838513,14	-20,000	400,000	-2552778,290	6516676997895,3	51055565,800
	90	11106702,29	-10,000	100,000	-1284589,140	1650169258605,94	12845891,400
	100	12451891,43	0	0	60600,000	3672360000,00	0
	110	13717080,57	10,000	100,000	1325789,140	1757716843741,94	13257891,400
	120	14842269,72	20,000	400,000	2450978,290	6007294578051,33	49019565,800
	Xmed = 100,000	Ymed = 12391291,43		Suma = 1000,000		Suma = 15935530038294,50	Suma = 126178914,400
2	0	0	0	0	0	0	0
	80	9878077,66	-20,000	400,000	-2545469,410	6479414517245,7	50909388,200
	90	11094212,36	-10,000	100,000	-1329334,710	1767130771210,78	13293347,100
	100	12471347,07	0	0	47800,000	2284840000,00	0
	110	13848481,78	10,000	100,000	1424934,710	2030438927762,79	14249347,100
	120	14825616,48	20,000	400,000	2402069,410	5769937450457,76	48041388,200
	Xmed = 100,000	Ymed = 12423547,070		Suma = 1000,000		Suma = 16049206506677,10	Suma = 126493470,600
3	0	0	0	0	0	0	0
	80	9836325,94	-20,000	400,000	-2556521,968	6535804572866,6	51130439,360
	90	11102365,14	-10,000	100,000	-1290482,768	1665345774504,94	12904827,680
	100	12465297,09	0	0	72449,182	5248883972,47	0
	110	13726598,65	10,000	100,000	1333750,742	1778891041785,55	13337507,420
	120	14833652,72	20,000	400,000	2440804,812	5957528130282,36	48816096,240
	Xmed = 100,000	Ymed = 12392847,908		Suma = 1000,000		Suma = 15942818403411,90	Suma = 126188870,700

Tabelul A 15.11. Rezultatele parametrilor de liniaritate pentru dozarea substanțelor medicamentoase din unguentul combinat IHF+MTU+BNZ

Determinările		Parametrul de liniaritate		
		Covariația, S_{XY}	Panta, a	Intercepția, b
Izohidrafural	1	2426388,2	970555,3	-233052,4
	2	2437665,9	975066,4	-232913,4
	3	2460520,3	984208,1	-231362,1
	Media	2441524,8	976609,9	-232442,6
	Deviația standard	17390,2	6956,0	938,3
	Deviația standard relativă, %	0,712	0,712	0,404
Metiluracil	1	151348346,2	37837,1	486990,73
	2	151074914,2	37768,7	493548,72
	3	151987705,7	37996,9	492947,42
	Media	151470322,03	37867,6	491162,3
	Deviația standard	468460,9	117,1	3625,2
	Deviația standard relativă, %	0,309	0,309	0,738
Benzocaină	1	31544728,6	126178,9	-226600,01
	2	31623367,7	126493,5	-225799,99
	3	31547217,7	126188,9	-226039,16
	Media	31571771,3	126287,1	-226146,4
	Deviația standard	44701,1	178,8	410,6
	Deviația standard relativă, %	0,142	0,142	0,182

Tabelul A 15.12. Rezultatele determinării preciziei metodei HPLC de dozare a IHF din unguentul combinat IHF+MTU+BNZ

Repetabilitatea			Precizia intermediară					
			Ziua 1			Ziua 2		
$t_{R, \min}$	A	C, g	$t_{R, \min}$	A	C, g	$t_{R, \min}$	A	C, g
17,022	9223560,65	0,09919	17,022	9271136,54	0,09978	17,022	9271136,54	0,09978
17,020	9230121,14	0,09935	17,019	9272264,29	0,09980	17,019	9272264,29	0,09980
17,019	9238789,22	0,09945	17,022	9273136,57	0,09972	17,022	9273136,57	0,09972
17,022	9242911,23	0,09949	17,021	9271822,49	0,09979	17,021	9271822,49	0,09979
17,022	9241203,15	0,09945	17,022	9271468,79	0,09980	17,022	9271468,79	0,09980
17,022	9245702,22	0,09953	17,019	9272145,87	0,09972	17,019	9272145,87	0,09972

Tabelul A 15.13. Evaluarea statistică a rezultatelor determinării preciziei metodei HPLC de dozare a IHF din unguentul combinat IHF+MTU+BNZ

Numărul de măsurări	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6
Valoarea medie	$\bar{X}$	17,021	9,24E+06	0,0994	17,021	9,27E+06	0,0998	17,021	9,27E+06	0,0998
Abaterea standard	S^2	1,77E-06	7,19E+07	1,53E-08	2,17E-06	4,88E+05	1,59E-09	2,17E-06	4,88E+05	1,59E-09
	S	0,001	8478,916	0,00012	0,001	698,866	0,00004	0,001	698,866	0,00004
Abaterea medie pătratică	S_x	5,43E-04	3,46E+03	5,04E-05	6,01E-04	2,85E+02	1,63E-05	6,01E-04	2,85E+02	1,63E-05
Deviația standard relativă	RSD	0,008	0,092	0,124	0,009	0,008	0,040	0,009	0,008	0,040
Probabilitate	P	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95
Coefficientul Student	t	2,571	2,571	2,571	2,571	2,571	2,571	2,571	2,571	2,571
Interval de încredere	$\Delta \bar{X}$	0,001	8898,077	0,0001	0,002	733,415	0,0000	0,002	733,415	0,0000
Rezultatul final	$\bar{X} + \Delta \bar{X}$	17,023	9245946,01	0,09954	17,022	9272729,17	0,09981	17,022	9272729,17	0,09981
	$\bar{X} - \Delta \bar{X}$	17,020	9228149,86	0,09928	17,019	9271262,34	0,09973	17,019	9271262,34	0,09973

Tabelul A 15.14. Rezultatele determinării preciziei metodei HPLC de dozare a MTU din unguentul combinat IHF+MTU+BNZ

Repetabilitatea			Precizia intermediară					
			Ziua 1			Ziua 2		
t _{R, min}	A	C, g	t _{R, min}	A	C, g	t _{R, min}	A	C, g
1,502	15533698,33	3,99078	1,501	15102568,14	3,99750	1,501	15101362,97	3,99346
1,501	15562698,21	3,99975	1,502	15104263,02	3,99814	1,501	15101463,25	3,99640
1,502	15525639,16	3,98935	1,501	15104129,11	3,99803	1,501	15107412,76	3,99902
1,503	15532698,61	3,99184	1,501	15106258,99	3,99835	1,502	15106541,26	3,99891
1,501	15529635,54	3,99069	1,501	15105629,18	3,99823	1,501	15107043,15	3,99892
1,502	15538659,84	3,99365	1,501	15103652,67	3,99794	1,503	15106328,69	3,99889

Tabelul A 15.15. Evaluarea statistică a rezultatelor determinării preciziei metodei HPLC de dozare a MTU din unguentul combinat IHF+MTU+BNZ

Numărul de măsurări	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6
Valoarea medie	$\bar{X}$	1,502	1,55E+07	3,9927	1,501	1,51E+07	3,9980	1,502	1,51E+07	3,9976
Abaterea standard	S ²	5,67E-07	1,75E+08	1,41E-05	1,67E-07	1,79E+06	8,97E-08	7,00E-07	7,97E+06	5,13E-06
	S	0,001	13233,921	0,00375	0,000	1339,506	0,00030	0,001	2823,810	0,00227
Abaterea medie pătratică	S_x	3,07E-04	5,40E+03	1,53E-03	1,67E-04	5,47E+02	1,22E-04	3,42E-04	1,15E+03	9,25E-04
Deviația standard relativă	RSD	0,050	0,085	0,094	0,027	0,009	0,007	0,056	0,019	0,057
Probabilitate	P	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95
Coefficientul Student	t	2,571	2,571	2,571	2,571	2,571	2,571	2,571	2,571	2,571
Interval de încredere	$\Delta\bar{X}$	0,001	13888,148	0,0039	0,000	1405,725	0,0003	0,001	2963,407	0,0024
Rezultatul final	$\bar{X} + \Delta\bar{X}$	1,503	15551059,76	3,99661	1,502	15105822,58	3,99835	1,502	15107988,75	3,99998
	$\bar{X} - \Delta\bar{X}$	1,501	15523283,47	3,98874	1,501	15103011,13	3,99772	1,501	15102061,94	3,99522

Tabelul A 15.16. Rezultatele determinării preciziei metodei HPLC de dozare a BNZ din unguentul combinat IHF+MTU+BNZ

Repetabilitatea			Precizia intermediară					
			Ziua 1			Ziua 2		
t _R , min	A	C, g	t _R , min	A	C, g	t _R , min	A	C, g
4,987	12422638,36	0,99985	4,987	12341635,29	0,99344	4,986	12322568,94	0,99148
4,988	12410236,97	0,99902	4,988	12316891,18	0,99054	4,986	12318562,04	0,99164
4,987	12402365,54	0,99836	4,988	12325608,94	0,99202	4,987	12326598,36	0,99134
4,985	12400158,65	0,99827	4,986	12333410,21	0,99246	4,987	12330154,75	0,99233
4,986	12410226,34	0,99907	4,985	12346298,03	0,99388	4,987	12336259,88	0,99300
4,985	12414562,02	0,99939	4,987	12396457,28	0,99694	4,988	12328736,54	0,99158

Tabelul A 15.17. Evaluarea statistică a rezultatelor determinării preciziei metodei HPLC de dozare a BNZ din unguentul combinat IHF+MTU+BNZ

Numărul de măsurări	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6
Valoarea medie	$\bar{X}$	4,986	1,24E+07	0,9990	4,987	1,23E+07	0,9932	4,987	1,23E+07	0,9919
Abaterea standard	S ²	1,47E-06	6,72E+07	3,67E-07	1,37E-06	7,89E+08	4,70E-06	5,67E-07	3,79E+07	4,11E-07
	S	0,001	8194,862	0,00061	0,001	28091,356	0,00217	0,001	6157,580	0,00064
Abaterea medie pătratică	S_x	4,94E-04	3,35E+03	2,47E-04	4,77E-04	1,15E+04	8,85E-04	3,07E-04	2,51E+03	2,62E-04
Deviația standard relativă	RSD	0,024	0,066	0,061	0,023	0,228	0,218	0,015	0,050	0,065
Probabilitate	P	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95
Coeficientul Student	T	2,571	2,571	2,571	2,571	2,571	2,571	2,571	2,571	2,571
Interval de încredere	$\Delta\bar{X}$	0,001	8599,980	0,0006	0,001	29480,070	0,0023	0,001	6461,984	0,0007
Rezultatul final	$\bar{X} + \Delta\bar{X}$	4,988	12418631,29	0,99963	4,988	12372863,56	0,99549	4,988	12333608,74	0,99257
	$\bar{X} - \Delta\bar{X}$	4,985	12401431,33	0,99836	4,986	12313903,42	0,99094	4,986	12320684,77	0,99122

Tabelul A 15.18. Calculele determinării ecuației regresiei liniare de dozare a IHF din unguentul combinat IHF+FLAc

Seria	X_{ij} , μg/ml	Y_{ij}	$X_{ij} - X_{med}$	$(X_{ij} - X_{med})^2$	$Y_{ij} - Y_{med}$	$(Y_{ij} - Y_{med})^2$	$(X_{ij} - X_{med}) * (Y_{ij} - Y_{med})$
1	0	5795726,72	-40	1600	-4145817,820	17187805396629,6	165832712,8
	60	7967635,63	-20	400	-1973908,910	3896316384977,39	39478178,2
	80	9949544,54	0	0	8000	64000000,0	0
	100	12061453,45	20	400	2119908,910	4494013786697,38	42398178,2
	120	13933362,36	40	1600	3991817,820	15934609508069,50	159672712,8
	Xmed = 100	Ymed = 9941544,540		Suma = 4000		Suma = 41512809076373,9	Suma = 407381782,0
2	0	0	0	0	0	0	0
	60	5780845,92	-40,000	1600	-4123230,564	17001030283903,8	164929222,560
	80	7964461,23	-20,000	400	-1939615,254	3762107333549,49	38792305,080
	100	9868076,26	0	0	-36000,224	1296016128,05	0
	120	11991691,85	20,000	400	2087615,366	4358137916359,31	41752307,320
	140	13915307,16	40,000	1600	4011230,676	16089971536083,40	160449227,040
	Xmed = 100	Ymed = 9904076,484		Suma = 4000		Suma = 41212543086024,00	Suma = 405923062,000
3	0	0	0	0	0	0	0
	60	5812592,12	-40,000	1600	-4097061,420	16785912279252,4	163882456,800
	80	7950122,83	-20,000	400	-1959530,710	3839760603433,10	39190614,200
	100	9837653,54	0	0	-72000,000	5184000000,00	0
	120	12005184,25	20,000	400	2095530,710	4391248956553,11	41910614,200
	140	13942714,96	40,000	1600	4033061,420	16265584417492,40	161322456,800
	Xmed = 100	Ymed = 9909653,540		Suma = 4000		Suma = 41287690256731,00	Suma = 406306142,000

Tabelul A 15.19. Calculele determinării ecuației regresiei liniare de dozare a FLAc din unguentul combinat IHF+FLAc

Seria	X_{ij} , μg/ml	Y_{ij}	$X_{ij} - X_{med}$	$(X_{ij} - X_{med})^2$	$Y_{ij} - Y_{med}$	$(Y_{ij} - Y_{med})^2$	$(X_{ij} - X_{med})^*$ $(Y_{ij} - Y_{med})$
1	15	923118,05	-10	100	-634058,700	402030435045,7	6340587,0
	20	1264157,40	-5	25	-293019,350	85860339474,42	1465096,8
	25	1556196,75	0	0	-980	960400,0	0
	30	1865236,10	5	25	308059,350	94900563122,42	1540296,8
	35	2177175,45	10	100	619998,700	384398388001,69	6199987,0
	Xmed =	Ymed =		Suma =		Suma =	Suma =
	25	1557176,750		250		967190686044,2	15545967,5
2	0	0	0	0	0	0	0
	15	925600,82	-10,000	100	-627427,210	393664903848,4	6274272,100
	20	1258134,42	-5,000	25	-294893,610	86962241218,83	1474468,050
	25	1547668,03	0	0	-5360,000	28729600,00	0
	30	1857201,64	5,000	25	304173,610	92521585020,43	1520868,050
	35	2176535,24	10,000	100	623507,210	388761240921,99	6235072,100
	Xmed =	Ymed =		Suma =		Suma =	Suma =
	25	1553028,030		250		961938700609,63	15504680,300
3	0	0	0	0	0	0	0
	15	925541,67	-10,000	100	-627107,210	393263452834,0	6271072,100
	20	1257675,27	-5,000	25	-294973,610	87009430596,43	1474868,050
	25	1547208,88	0	0	-5440,000	29593600,00	0
	30	1856742,49	5,000	25	304093,610	92472923642,83	1520468,050
	35	2176076,09	10,000	100	623427,210	388661486168,38	6234272,100
	Xmed =	Ymed =		Suma =		Suma =	Suma =
	25	1552648,880		250		961436886841,63	15500680,300

Tabelul A 15.20. Rezultatele parametrilor de liniaritate pentru dozarea substanțelor medicamentoase din unguentul combinat IHF+FLAc

Determinările		Parametrul de linearitate		
		Covariația, S_{xy}	Panta, a	Intercepția, b
Izohidrafural	1	101845445,5	101845,4	-243000,01
	2	101480765,5	101480,8	-244000,07
	3	101576535,5	101576,5	-248000,01
	Media	101634248,8	101634,2	-245000,03
	Deviația standard	189066,1	189,0	2645,7
	Deviația standard relativă, %	0,186	0,186	1,079
Fluocinolon acetonid	1	3886491,9	62183,9	2580,00
	2	3876170,1	62018,7	2560,00
	3	3891619,4	62002,7	2580,85
	Media	3884427,1	62068,4	2573,6
	Deviația standard	8416,8	100,3	11,8
	Deviația standard relativă, %	0,217	0,162	0,459

Tabelul A 15.21. Rezultatele determinării preciziei metodei HPLC de dozare a IHF din unguentul combinat IHF+FLAc

Repetabilitatea			Precizia intermediară					
			Ziua 1			Ziua 2		
$t_{R, \min}$	A	C, g	$t_{R, \min}$	A	C, g	$t_{R, \min}$	A	C, g
3,112	9939612,33	0,10013	3,110	9905128,98	0,09979	3,112	9883498,14	0,09957
3,112	9828128,98	0,09897	3,109	9912534,24	0,09986	3,111	9884219,24	0,09957
3,099	9857542,19	0,09930	3,113	9902746,16	0,09973	3,115	9882648,55	0,09956
3,099	9876321,78	0,09950	3,099	9911462,07	0,09985	3,114	9887462,89	0,09961
3,112	9948723,69	0,10023	3,111	9901174,15	0,09975	3,109	9886348,37	0,09960
3,113	9922398,47	0,09996	3,111	9912406,22	0,09986	3,112	9887691,67	0,09961

Tabelul A 15.22. Evaluarea statistică a rezultatelor determinării preciziei metodei HPLC de dozare a IHF din unguentul combinat IHF+FLAc

Numărul de măsurări	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6
Valoarea medie	$\bar{X}$	3,108	9,90E+06	0,0997	3,109	9,91E+06	0,0998	3,112	9,89E+06	0,0996
Abaterea standard	S^2	4,70E-05	2,37E+09	2,52E-07	2,50E-05	2,67E+07	3,51E-09	4,57E-06	4,59E+06	4,66E-10
	S	0,007	48681,882	0,00050	0,005	5163,635	0,00006	0,002	2142,027	0,00002
Abaterea medie pătratică	S_X	2,80E-03	1,99E+04	2,05E-04	2,04E-03	2,11E+03	2,42E-05	8,72E-04	8,74E+02	8,81E-06
Deviația standard relativă	RSD	0,221	0,492	0,503	0,161	0,052	0,059	0,069	0,022	0,022
Probabilitate	P	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95
Coeeficientul Student	t	2,571	2,571	2,571	2,571	2,571	2,571	2,571	2,571	2,571
Interval de încredere	$\Delta \bar{X}$	0,007	51088,501	0,0005	0,005	5418,903	0,0001	0,002	2247,919	0,0000
Rezultatul final	$\bar{X} + \Delta \bar{X}$	3,115	9946543,07	0,10021	3,114	9912994,21	0,09987	3,114	9887559,40	0,09961
	$\bar{X} - \Delta \bar{X}$	3,101	9844366,07	0,09915	3,104	9902156,40	0,09975	3,110	9883063,56	0,09956

Tabelul A 15.23. Rezultatele determinării preciziei metodei HPLC de dozare a FLAc din unguentul combinat IHF+FLAc

Repetabilitatea			Precizia intermediară					
			Ziua 1			Ziua 2		
$t_{R, \min}$	A	C, g	$t_{R, \min}$	A	C, g	$t_{R, \min}$	A	C, g
5,997	1547589,35	0,02499	5,998	1547025,15	0,02499	5,996	1543168,25	0,02492
5,994	1546823,65	0,02497	5,997	1546364,02	0,02498	5,997	1549703,11	0,02503
6,011	1539923,48	0,02487	5,995	1545926,14	0,02496	5,996	1542164,68	0,02491
5,998	1549289,32	0,02501	5,996	1544806,89	0,02495	5,995	1543115,99	0,02492
5,997	1539986,89	0,02487	6,004	1549106,37	0,02502	5,997	1544965,73	0,02495
6,008	1545459,45	0,02496	5,998	1548603,33	0,02501	5,997	1544364,22	0,02494

Tabelul A 15.24. Evaluarea statistică a rezultatelor determinării preciziei metodei HPLC de dozare a FLAc din unguentul combinat IHF+FLAc

Numărul de măsurări	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6
Valoarea medie	$\bar{X}$	6,001	1,54E+06	0,0249	5,998	1,55E+06	0,0250	5,996	1,54E+06	0,0249
Abaterea standard	S^2	4,78E-05	1,59E+07	3,74E-09	1,00E-05	2,67E+06	7,32E-10	6,67E-07	7,28E+06	1,93E-09
	S	0,007	3984,937	0,00006	0,003	1635,284	0,00003	0,001	2698,583	0,00004
Abaterea medie pătratică	S_x	2,82E-03	1,63E+03	2,50E-05	1,29E-03	6,68E+02	1,10E-05	3,33E-04	1,10E+03	1,79E-05
Deviația standard relativă	RSD	0,115	0,258	0,245	0,053	0,106	0,108	0,014	0,175	0,176
Probabilitate	P	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95
Coeficientul Student	t	2,571	2,571	2,571	2,571	2,571	2,571	2,571	2,571	2,571
Interval de încredere	$\Delta \bar{X}$	0,007	4181,935	0,0001	0,003	1716,125	0,0000	0,001	2831,989	0,0000
Rezultatul final	$\bar{X} + \Delta \bar{X}$	6,008	1549027,29	0,02501	6,001	1548688,11	0,02501	5,997	1547412,32	0,02499
	$\bar{X} - \Delta \bar{X}$	5,994	1540663,42	0,02488	5,995	1545255,86	0,02496	5,995	1541748,34	0,02490

Anexa 16. Cercetarea stabilității și determinarea termenilor de valabilitate pentru unguentele combinate

Tabelul A 16.1. Rezultatele cercetării stabilității unguentului combinat cu conținut de izohidrafural și metiluracil

Peri oada testă rii, luni	Parametrii analizați						
	Descriere și omogenitate (gălbui, fără miros, omogen)	pH (media±S, n=3) (4,5-8,5)	Vâscozitate (media±S , n=3), cP *10 ²	Identificare, HPLC, timp de retenție, minute		Dozare, HPLC, g	
				IHF	MTU	IHF	MTU
Seria 1							
0	corespunde	5,66±0,01	164,7±5,3	17,019	1,501	0,0999	4,0039
3	corespunde	5,65±0,01	162,2±5,2	17,020	1,502	0,0996	3,9997
6	corespunde	5,62±0,02	162,2±4,9	17,019	1,503	0,0995	3,9979
9	corespunde	5,57±0,01	161,3±6,1	17,019	1,504	0,0994	3,9974
12	corespunde	5,58±0,02	152,3±9,4	17,020	1,502	0,0993	3,9968
18	corespunde	5,52±0,02	151,2±3,2	17,021	1,503	0,0992	3,9939
24	corespunde	5,53±0,02	150,2±7,4	17,020	1,504	0,0990	3,9915
30	nu corespunde	5,48±0,02	151,4±0,9	18,022	1,602	0,0860	3,6420
Seria 2							
0	corespunde	5,67±0,01	165,6±1,5	17,019	1,502	0,0999	3,99803
3	corespunde	5,65±0,01	163,0±0,6	17,019	1,502	0,0998	3,99679
6	corespunde	5,63±0,02	160,7±1,9	17,020	1,501	0,0996	3,99537
9	corespunde	5,59±0,01	159,2±1,1	17,020	1,504	0,0995	3,99378
12	corespunde	5,57±0,01	152,0±2,2	17,021	1,503	0,0993	3,99313
18	corespunde	5,53±0,01	152,0±1,1	17,020	1,505	0,0992	3,99114
24	corespunde	5,53±0,01	147,5±0,8	17,020	1,506	0,0990	3,98790
30	nu corespunde	5,47±0,01	152,2±1,0	18,011	1,658	0,0885	3,97574
Seria 3							
0	corespunde	5,66±0,01	164,6±2,2	17,020	1,501	0,0999	3,99792
3	corespunde	5,64±0,01	164,7±0,5	17,019	1,502	0,0997	3,99660
6	corespunde	5,61±0,01	161,7±1,5	17,018	1,502	0,0995	3,99574
9	corespunde	5,58±0,01	157,3±1,1	17,020	1,502	0,0994	3,99538
12	corespunde	5,56±0,01	151,9±1,5	17,019	1,501	0,0993	3,99522
18	corespunde	5,54±0,01	151,8±1,7	17,021	1,501	0,0993	3,99513
24	corespunde	5,53±0,01	149,3±0,6	17,020	1,498	0,0993	3,99499
30	nu corespunde	5,47±0,02	152,8±0,5	18,010	1,371	0,0864	3,97167

Tabelul A 16.2. Rezultatele cercetării stabilității unguentului combinat cu conținut de izohidrafural, metiluracil și benzocaină

Peri oada , luni	Parametrii analizați								
	Descriere și omogenita te (gălbui, fără miros, omogen)	pH (media±S , n=3) (4,5-8,5)	Vâscozita te (media±S , n=3), cP *10 ²	Identificare, HPLC, timp de retenție, minute			Dozare, HPLC, g		
				IHF	MTU	BNZ	IHF	MTU	BNZ
Unguent seria 1									
0	corespunde	5,67±0,05	160,7±5,3	17,022	1,502	4,987	0,09990	3,99981	0,99971
3	corespunde	5,65±0,01	158,5±5,2	17,023	1,502	4,986	0,09989	3,99778	0,99871
6	corespunde	5,63±0,01	157,0±4,9	17,022	1,501	4,987	0,09987	3,99746	0,99765
9	corespunde	5,64±0,01	156,2±6,1	17,021	1,502	4,985	0,09969	3,99668	0,99585
12	corespunde	5,62±0,01	154,1±9,4	17,022	1,501	4,985	0,09951	3,99624	0,99565
18	corespunde	5,61±0,01	152,0±3,2	17,021	1,502	4,986	0,09927	3,99524	0,99487
24	corespunde	5,58±0,01	149,8±7,4	17,019	1,500	4,985	0,09903	3,99206	0,99249
30	nu corespunde	5,38±0,01	151,0±0,4	16,758	1,468	4,811	0,09875	3,79288	0,97076
Unguent seria 2									
0	corespunde	5,66±0,01	160,1±1,1	17,022	1,502	4,987	0,09998	3,99906	0,99938
3	corespunde	5,65±0,01	158,8±0,7	17,022	1,502	4,987	0,09987	3,99689	0,99825
6	corespunde	5,63±0,01	158,1±0,4	17,023	1,503	4,985	0,09969	3,99683	0,99657
9	corespunde	5,64±0,01	156,5±0,3	17,022	1,502	4,986	0,09957	3,99464	0,99590
12	corespunde	5,62±0,01	154,3±0,1	17,020	1,502	4,987	0,09942	3,99368	0,99486
18	corespunde	5,62±0,01	152,0±0,2	17,019	1,502	4,986	0,09930	3,99146	0,99433
24	corespunde	5,58±0,01	149,2±0,2	17,018	1,500	4,985	0,09900	3,98387	0,99340
30	nu corespunde	5,37±0,01	152,2±0,3	16,659	1,479	4,807	0,09928	3,80805	0,97417
Unguent seria 3									
0	corespunde	5,66±0,01	161,6±0,7	17,021	1,502	4,987	0,09990	3,99952	0,99924
3	corespunde	5,65±0,01	158,2±0,2	17,022	1,502	4,988	0,09988	3,99653	0,99817
6	corespunde	5,63±0,01	157,5±0,2	17,022	1,501	4,987	0,09962	3,99556	0,99673
9	corespunde	5,64±0,01	156,8±0,1	17,021	1,503	4,987	0,09946	3,99414	0,99606
12	corespunde	5,61±0,01	154,5±0,5	17,022	1,502	4,986	0,09936	3,99731	0,99500
18	corespunde	5,62±0,01	152,1±0,6	17,019	1,502	4,985	0,09915	3,99443	0,99334
24	corespunde	5,57±0,01	149,5±0,3	17,018	1,501	4,985	0,09902	3,99103	0,99264
30	nu corespunde	5,38±0,01	151,2±0,6	16,685	1,487	4,801	0,09904	3,80718	0,96716

Tabelul A 16.3. Rezultatele cercetării stabilității unguentului combinat cu conținut de izohidrafural și fluocinolon acetonid

Perioada testării, luni	Parametrii analizați						
	Descriere și omogenitate (alb-gălbui, fără miros, omogen)	pH (media±S, n=3) (4,5-8,5)	Vâscozita te (media±S , n=3), cP *10 ²	Identificare, HPLC, timp de retenție, minute		Dozare, HPLC, g	
				IHF	FLAc	IHF	FLAc
Unguent seria 1							
0	corespunde	5,76±0,01	73,5±6,4	3,112	5,997	0,10013	0,02504
3	corespunde	5,75±0,01	71,0±0,1	3,110	5,995	0,09996	0,02500
6	corespunde	5,73±0,01	70,5±0,4	3,112	5,997	0,09984	0,02498
9	corespunde	5,71±0,01	69,7±0,1	3,113	5,997	0,09976	0,02495
12	corespunde	5,68±0,01	69,1±0,1	3,112	5,996	0,09960	0,02493
18	corespunde	5,63±0,01	68,9±0,1	3,111	5,998	0,09946	0,02492
24	corespunde	5,53±0,02	68,2±0,1	3,110	6,011	0,09932	0,02490
30	nu corespunde	5,37±0,01	69,4±0,2	2,897	6,277	0,09872	0,02468
Unguent seria 2							
0	corespunde	5,77±0,02	73,8±0,5	3,112	5,996	0,10001	0,02501
3	corespunde	5,75±0,01	71,0±0,2	3,112	5,998	0,09992	0,02499
6	corespunde	5,72±0,01	70,2±0,1	3,113	5,997	0,09985	0,02498
9	corespunde	5,71±0,01	69,9±0,1	3,112	5,998	0,09975	0,02496
12	corespunde	5,67±0,01	69,1±0,1	3,110	5,997	0,09960	0,02493
18	corespunde	5,63±0,01	68,9±0,1	3,112	5,997	0,09949	0,24916
24	corespunde	5,53±0,01	68,2±0,1	3,111	6,014	0,09936	0,02488
30	nu corespunde	5,41±0,01	71,1±0,1	2,877	6,401	0,09905	0,02467
Unguent seria 3							
0	corespunde	5,77±0,01	73,1±0,1	3,112	5,997	0,09996	0,02500
3	corespunde	5,74±0,01	71,0±0,1	3,112	5,996	0,09988	0,02498
6	corespunde	5,73±0,01	70,2±0,1	3,111	5,998	0,09978	0,02497
9	corespunde	5,70±0,01	69,9±0,1	3,112	5,994	0,09965	0,02494
12	corespunde	5,67±0,01	69,1±0,1	3,112	5,997	0,09965	0,02492
18	corespunde	5,62±0,01	68,9±0,1	3,111	5,998	0,09954	0,02491
24	corespunde	5,53±0,01	68,2±0,1	3,110	5,998	0,09943	0,02490
30	nu corespunde	5,29±0,01	71,1±0,1	2,884	6,371	0,09915	0,02462

**Anexa 17. Proiectul Regulamentului Tehnologic de Producere a unguentului combinat cu
conținut de izohidrafural și metiluracil**

PROIECTUL REGULAMENTULUI TEHNOLOGIC

**de producere a unguentului combinat cu conținut de
izohidrafural și metiluracil**

**«Unguent Izofural M»
«Unguentum Izofural M»**

Se pune în aplicare prima data

Pusă în aplicare

" " 20__

Valabilă până la

" " 20__

Ediție oficială

Reproducerea interzisă

1. GENERALITĂȚI

1.1. Denumirea produsului farmaceutic

«UNGUENTUM IZOFURAL M»
«UNGUENT IZOFURAL M»
«ИЗОФУРАЛ М МАЗЬ»

1.2. Descrierea produsului farmaceutic

Unguent omogen de consistență semisolidă, culoare galben-pal, fără miros.

1.3. Compoziție cantitativă

Componența pentru 100 g unguent:

<i>Nr.</i>	<i>Denumirea materiei prime</i>	<i>Cantitatea, g</i>	<i>Condiții de calitate</i>
1.	Izohidrafural	0,1	MFT RM 08/1005-10.08
2.	Metiluracil	4,0	Ph. Eur. ed. 9.0
3.	Polietilenglicol 400	57,54	Ph. Eur. ed. 9.0
4.	Polietilenglicol 1500	38,36	Ph. Eur. ed. 9.0
TOTAL		100,0	

1.4. Farmacoterapie

„Unguentul Izofural M” inhibă complet creșterea microorganismelor bacteriene, ce provoacă inflamații purulente externe, inclusiv complicații postoperatorii purulente. Exerciță acțiune bactericidă față de microorganisme gram-pozitive (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*), și gram-negative (*Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Enterobacter cloacae*) în termeni scurți după contactul cu ele, în primele 2-5 ore, ce are importanță la înlăturarea rapidă a procesului inflamator-purulent. Posedă activitate osmotică înaltă capabilă să elimine exudatul.

În cazul administrării externe nu provoacă iritații ale pielii. Posedă capacitate sporită asupra înlăturării procesului inflamator - purulent.

1.5. Mod de administrare

Unguentul se aplică extern, pe suprafețele plăgii purulente. Cantitatea necesară depinde de dimensiunile plăgii, de la 0,1 g până la 50 g, zilnic, de două ori pe zi. Durata tratamentului constituie 3 - 14 zile.

2. SPECIFICAȚIA MATERIEI PRIME ȘI A MATERIALELOR

<i>Nr.</i>	<i>Denumirea materiei prime și materialelor</i>	<i>Cerințe de calitate</i>	<i>Notă</i>
Materii prime			
Substanțe active			
1.	Izohidrafural	MFT RM 08/1005-10.08	
2.	Metiluracil	Ph. Eur. ed. 9.0	
Substanțe auxiliare			
3.	Polietilenglicol 400	Ph. Eur. ed. 9.0	
4.	Polietilenglicol 1500	Ph. Eur. ed. 9.0	
Materiale			
1.	Tuburi de aluminiu	Specificația producătorului	
2.	Cutie pliantă de carton	Specificația producătorului	
3.	Cutie colectivă din carton	Specificația producătorului	

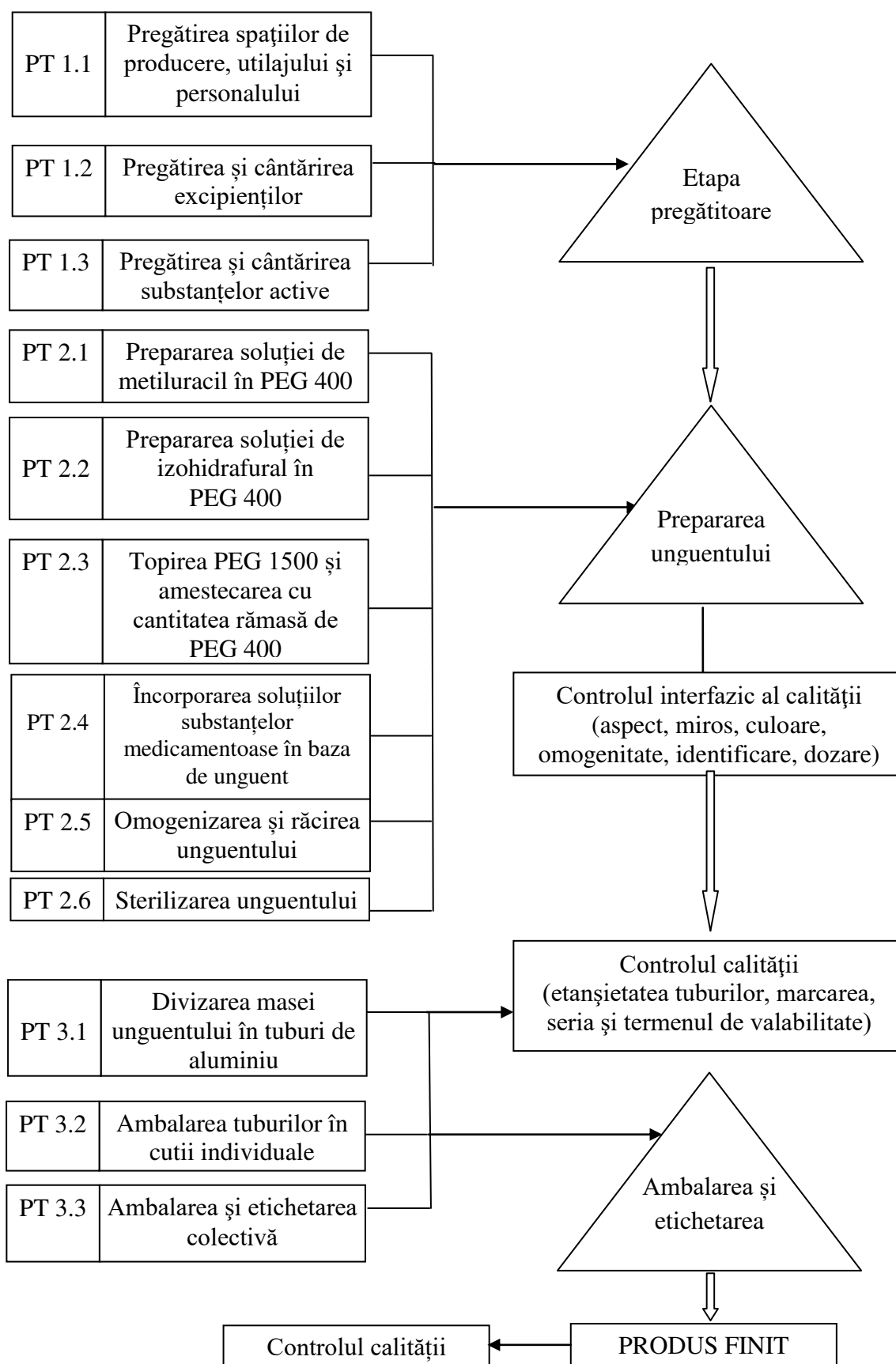
3. SPECIFICAȚIE DE APARATE ȘI UTILAJ

<i>Nr.</i>	<i>Denumirea aparatelor și utilajelor</i>	<i>Caracteristici tehnice</i>	<i>Specificația materialului ce contactează cu produsul farmaceutic</i>
1.	Balanță electronică Mettler-Toledo	30 kg	Platanul- Oțel inoxidabil
2.	Platformă de cântărire Alex	100 kg	Platanul – oțel crom nichelat 18/10
3.	Balanță analitică BP 211 D (Sartorius)	100 g	Platanul- Oțel inoxidabil
4.	Turboemulgator DUMOTURBO 50	Volum de lucru 50 l	Pereții și malaxorul – Oțel inoxidabil AISI 316
5.	Turboemulgator DUMOTURBO 400	Volum de lucru 400 l	Pereții și malaxorul – Oțel inoxidabil AISI 316
6.	Sistem de ambalare COMADIS C960	60 tuburi/minut	Oțel inoxidabil AISI 316

4. FAZELE PROCESULUI TEHNOLOGIC ȘI CONTROLUL CALITĂȚII

Nr.	Fazele procesului tehnologic	Controlul calității în procesul tehnologic	
		Parametrii procesului tehnologic	Controlul interfazic
1.	Pregătirea și cântărirea materiilor prime (substanțelor medicamentoase și excipienților)	Calitatea materiilor prime conform DAN. Masa materiilor prime conform formulării de fabricație.	Verificarea certificatelor de calitate și a buletinelor de analiză pentru fiecare materie primă. Verificarea preciziei balanțelor. Verificarea exactității cântării.
2.	Fluidizarea excipienților	Temperatura de fluidizare. Timpul de omogenizare.	Verificarea temperaturi de topire. Controlul calității bazei de unguent (culoarea și lipsa impurităților mecanice)
3.	Prepararea soluțiilor de substanțe active în polietilenglicol 400. Incorporarea soluțiilor substanțelor active în excipient, omogenizarea unguentului; răcirea unguentului	Masa substanțelor active, excipienților. Timpul de omogenizare. Temperatura de răcire a unguentului.	Verificarea corespunderii: - temperaturii de omogenizare; - timpului de omogenizare; - aspectului unguentului; - omogenității; - temperaturii de răcire; - conținutului substanțelor active.
4.	Divizarea masei în tuburi, inscripționarea numărului de serie și termenului de valabilitate (Ambalarea primară)	Etanșeitatea ambalajului; Inscripționarea seriei și termenului de valabilitate.	Verificarea corespunderii: - masei medii g/tub; - etanșeității ambalajului primar; - seriei și termenului de valabilitate.
5.	Ambalarea în cutii pliante de carton (Ambalarea secundară)	Aplicarea seriei, termenului de valabilitate pe ambalajul secundar. Plasarea ambalajului primar și a prospectului în cutii pliante.	Verificarea corectitudinii seriei și termenului de valabilitate, prezenței prospectului și a inscripționării lui.
6.	Ambalarea și etichetarea colectivă	Plasarea cutiilor pliante în ambalaj colectiv. Aplicarea etichetei colective.	Verificarea numărului de cutii pliante într-un ambalaj colectiv. Verificarea inscripționării corecte a cutiilor sau etichetelor colective.

5. SCHEMA FLUXULUI TEHNOLOGIC



6. DESCRIEREA PROCESULUI TEHNOLOGIC

6.1. Pregătirea spațiilor de producere, utilajului și personalului

6.1.1. *Proceduri pentru igienizarea spațiilor de producție*

Spațiile de producție trebuie să fie igienizate corespunzător pentru asigurarea calității produselor avizate.

Pereții se spală cu apă și săpun lichid înainte de fabricarea fiecărei serii de produs. Operația se efectuează de către personalul îngrijitor.

Geamurile și ușile se spală cu apă și detergenți (Ajax cu amoniac) înaintea producerii fiecărei serii de produs. Operația se efectuează de către personalul îngrijitor.

Mesele și rafturile se spală după terminarea producerii fiecărei serii de produs cu apă și detergent ecologic necorosiv. Urmele de detergent se vor înlătura cu apă purificată. Dezinfecția meselor se realizează săptămânal cu soluție de peroxid de hidrogen de 6% sau soluție de cloramină B 1%. Operația se efectuează de către personalul îngrijitor.

Pardoselele se spală cu apă și detergenți (Axion, Pur etc.) și se clătește cu apă. Dezinfecția se efectuează cu soluție de peroxid de hidrogen de 6% sau soluție de cloramină B 1%. Operația se efectuează de către personalul îngrijitor.

Mediul se efectuează aseptizarea cu lampa UV bactericidă, timp de 30 minute înainte de derularea producerii fiecărei serii de produs. Gradul de puritate al spațiilor de ambalare este „A” (GMP Eur.)

6.1.2. *Proceduri de curățare și întreținere a echipamentului auxiliar*

După terminarea ambalării fiecărei serii de produs se spală cu apă și detergenți necorosivi, după care se clătesc sub jet de apă. Uscarea se realizează în etuve.

6.1.3. *Proceduri de curățare și întreținere a echipamentului tehnologic*

- *Vasele de preparare și traseul de transport:* vasele se vor spăla cu apă fierbinte 60-70°C și detergent cu o concentrație de 10%; se va clăti de 2-3 ori cu apă caldă pentru îndepărtarea totală a urmelor de detergent;
- *Conducta de transport:* cu ajutorul pompei, din vasul de preparare spre instalația de dozare se va pompa soluția de detergent. Operația de spălare și clătire se va repeta de 2-3 ori.
- *Turbo-emulsificatorul DUMOTURBO 50 înzestrat cu turbină și braț cu palete:* curățarea se va face numai după deconectarea de la curentul electric. Porțiunile respective se spală cu tifon umezit în alcool etilic 70%. Operația se efectuează de către personalul tehnic. Subansamblele demontabile se spală cu apă caldă și detergenți ecologici. Urmele de detergenți se înlătură prin clătire sub jet de apă și în final cu apă purificată. Dezinfecția se efectuează cu alcool etilic 70%.

NOTĂ! Seria și termenul de valabilitate a produsului finit sunt indicate în fișa produsului și suplimentar farmacistul aplică pe instalația turbo-emulgatorului DUMOTURBO 50/600 o etichetă cu următoarele specificații: Denumirea produsului, Seria, Termen valabilitate.

6.1.4. *Proceduri pentru pregătirea personalului antrenat în procesul de producere*

Personalul antrenat în procesul de producere este supus examinării medicale la angajare și periodic în dependență de gradul de pericol la care este expus în procesul de fabricație. Personalul antrenat în procesul de producere este obligat să raporteze toate problemele de sănătate (febră, boli infecțioase, leziuni cutanate). Orice persoană care intră în zonele de fabricație poartă îmbrăcăminte de protecție adecvată operațiilor care se efectuează. În spațiile de producere se interzice: mâncatul, băutul, mestecatul, fumatul sau depozitarea de alimente, băutură, țigări, medicație personală. În general, este interzisă orice practică neigienică în interiorul zonelor de fabricație sau în oricare altă zonă unde produsul poate fi afectat. Este interzis contactul direct între mâinile operatorilor și produsul expus cât și cu orice parte a echipamentului care vine în contact direct cu produsul. Personalul este instruit să folosească instalațiile sanitare pentru spălarea mâinilor.

NOTĂ! Procedurile menționate se efectuează conform indicațiilor din „Reguli și normative sanitaro-epidemiologice privind amplasarea, dotarea și exploatarea întreprinderilor și instituțiilor farmaceutice”, aprobate de MS și PS la 29.09.2005, nr. 01.10.32.1-5. și recomandărilor parvenite din practica de activitate a producătorilor de medicamente din industria farmaceutică.

6.2. Pregătirea materiei prime (substanțelor medicamentoase și excipienților)

Materiile prime, avizate de către LCCM, conform rețetei de fabricație se cântăresc în camera de cântărire în cantitățile necesare pentru o serie de produs pe balanțele corespunzătoare în prealabil verificate.

6.3. Prepararea soluțiilor de metiluracil și izohidrafural în PEG 400

Metiluracilul se dizolvă în circa 2,5 g PEG 400, o cantitate mai mare de PEG 400 va duce la formarea unei mase prea lichide, iar una mai mică va constitui o masă prea vâscoasă.

Izohidrafuralul se dizolvă în circa 3 g PEG 400.

6.4. Prepararea excipientului

PEG 1500 se topește, la care se adaugă restul cantității de PEG 400 rămase, se amestecă.

6.5. Încorporarea substanțelor active în baza de unguent

Soluțiile izohidrafuralului și metiluracilului în PEG 400 se adaugă la excipientul topit. Se amestecă bine până la omogenitate. Unguentul obținut se sterilizează la 160°C timp de 2 ore. Produsul intermediar obținut după încorporarea principiilor active în baza de unguent este supus controlului analitic care include: aspectul, omogenitatea, identificare și dozare.

6.6. Divizarea masei de unguent în tuburi de aluminiu

După primirea buletinului de analiză; masa de unguent este transferată în sistemul de ambalare COMADIS C960. În timpul divizării, persoana responsabilă periodic verifică: masa medie, aspectul și etanșietatea ambalajului primar.

6.7. Ambalarea primară

În calitate de ambalaj primar se utilizează tuburile de aluminiu a câte 15 g, etanșate cu capac (MATRAMETAL, Ungaria).

6.8. Ambalarea secundară

Fiecare tub împreună cu instrucțiunea de administrare se plasează în cutia individuală din carton pentru ambalaj de consum sau crom-erzaț. Cutiile individuale se grupează în cutia colectivă câte 60 sau 120 bucăți. Se verifică numărul de cutii pliante în cutia colectivă și inscripționarea etichetei.

7. CONTROLUL CALITĂȚII

Calitatea produsului finit se verifică conform prevederilor proiectului Monografiei farmaceutice.

8. TEHNICA SECURITĂȚII, SECURITATEA ANTIINCENDIARĂ ȘI CONDIȚII SANITARE DE PRODUCERE

1. Procesul de fabricație se petrece cu sistemul de ventilare inclus.
2. Personalul trebuie să fie echipat cu mijloace adecvate de protecție.
3. Utilajul tehnologic este deservit numai de personal instruit și calificat.
4. La procesul de divizare a unguentului în tuburi se admite numai personal instruit pentru operațiunea dată.
5. Înaintea procesului de ambalare este verificată stare tehnică a echipamentului tehnologic. Nu se admite a lucra la utilajul ce prezintă defecțiuni tehnice.
6. Reglarea și reparația utilajului se efectuează numai de personalul tehnic.
7. Spațiul de producere trebuie să fie amenajat cu mijloace antiincendiare, truse medicale pentru acordarea ajutorului de urgență.

9. DEȘEURI DE PRODUCȚIE

În procesul tehnologic nu se formează deșeuri de producție.

10. LISTA INSTRUCȚIUNILOR DE PRODUCERE

1. Instrucțiuni:

- Regulile și normativele tehnicii securității.
- Instrucțiuni pentru exploatarea utilajului electric.
- Fișele posturilor.
- Fișa de produs.
- Procedurile operaționale.
-

2. Măsuri sanitaro-igienice:

- Instrucțiuni referitor la starea sanitaro-igienică a spațiilor de producere.
- Instrucțiuni pentru respectarea igienei personale.
- Instrucțiuni și reguli de efectuare a măsurilor de dezinfecție.
- Instrucțiune-tip despre ordinea efectuării instructajului cu personalul de producere și auxiliar.

11. NORMATIVE TEHNICO – ECONOMICE

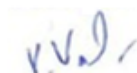
Normele de consum ale materiei prime și materialelor de ambalare pentru producerea unei serii industriale de 5 kg unguent

Nr.	Denumirea	Cantitate	Unitate de măsură	Destinație	Cerințe calitate
Materii prime					
1.	Izohidrafural	0,005	kg	Substanță activă	MFT RM 08/1005-10.08
2.	Metiluracil	0,2	kg	Substanță activă	Ph. Eur. ed. 9.0
3.	PEG-400	2,877	kg	Excipient	Ph. Eur. ed. 9.0
4.	PEG-1500	1,918	kg	Excipient	Ph. Eur. ed. 9.0
TOTAL		5,0	kg		
Materiale de ambalare					
1.	Tuburi din aluminiu	3333	nr.	Ambalare primară	Specificația producătorului
2.	Cutii pliante	3333	nr.	Ambalare secundară	Specificația producătorului
3.	Cutii colective	3333	nr.	Ambalare colectivă	Specificația producătorului

12. NORMAREA TIMPULUI DE LUCRU

1. Pregătirea spațiilor de producție – 60 minute;
2. Pregătirea materiei prime, materialelor de ambalaj – 60 minute;
3. Reglarea Turboemulgatorului model DUMOTURBO 50/600 – 30 minute;
4. Prepararea bazei de unguent pentru 5 kg unguent – 1 oră;
5. Încorporarea substanțelor active în baza de unguent (pentru 5 kg unguent) – 1 oră;
6. Divizarea masei de unguent în tuburi de aluminiu (pentru 3333 tuburi) – 2 ore;
7. Ambalarea tuburilor în cutia pliant – 4 ore;
8. Ambalarea în cutia colectivă – 3 ore.

Director Centrul Științific al
Medicamentului
doctor hab. în farmacie, prof.
universitar



Vladimir VALICA
" 20 " februarie 2019

Șef Laborator de analiză, standardizare
și control al medicamentelor, CȘM,
doctor în farmacie, conf. universitar



Livia UNCU
" 20 " februarie 2019

Doctorand,
Catedra de chimie farmaceutică și
toxicologică



Elena DONICI
" 20 " februarie 2019

**Anexa 18. Proiectul Regulamentului Tehnologic de Producere a unguentului combinat cu
conținut de izohidrafural, metiluracil și benzocaină**

PROIECTUL REGULAMENTULUI TEHNOLOGIC

**de producere a unguentului combinat cu conținut de
izohidrafural, metiluracil și benzocaină**

«Unguent Izofural MB»

«Unguentum Izofural MB»

Se pune în aplicare prima data

Pusă în aplicare

" " 20

Valabilă până la

" " 20

Ediție oficială

Reproducerea interzisă

1. GENERALITĂȚI

1.1. Denumirea produsului farmaceutic

«UNGUENTUM IZOFURAL MB»

«UNGUENT IZOFURAL MB»

«ИЗОФУРАЛ МБ МАЗЬ»

1.2. Descrierea produsului farmaceutic

Unguent omogen de consistență semisolidă, culoare galben-pal, fără miros.

1.3. Compoziție cantitativă

Componența pentru 100 g unguent:

<i>Nr.</i>	<i>Denumirea materiei prime</i>	<i>Cantitatea, g</i>	<i>Condiții de calitate</i>
1.	Izohidrafural	0,1	MFT RM 08/1005-10.08
2.	Metiluracil	4,0	Ph. Eur. ed. 9.0
3.	Benzocaină	1,0	Ph. Eur. ed. 9.0
4.	Polietilenglicol 400	75,92	Ph. Eur. ed. 9.0
5.	Polietilenglicol 1500	18,98	Ph. Eur. ed. 9.0
TOTAL		100,0	

1.4. Farmacoterapie

„Unguentul Izofural MB” inhibă complet creșterea microorganismelor bacteriene, ce provoacă inflamații purulente externe, inclusiv complicații postoperatorii purulente. Exerciță acțiune bactericidă față de microorganisme gram-pozitive (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*), și gram-negative (*Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Enterobacter cloacae*) în termeni scurți după contactul cu ele, în primele 2-5 ore, ce are importanță la înlăturarea rapidă a procesului inflamator-purulent. Posedă activitate osmotică înaltă capabilă să elimine exudatul, dar și acțiune anestezică locală.

În cazul administrării externe nu provoacă iritații ale pielii.

1.5. Mod de administrare

Unguentul se aplică extern, pe suprafețele plăgilor infectate cu germeni bacterieni, arsuri de gradul I, II și III neinfectate sau infectate cu germeni bacterieni. Cantitatea necesară depinde de dimensiunile plăgii sau arsurii, de la 0,1 g până la 50 g, zilnic, de două ori pe zi. Durata tratamentului constituie 3 - 14 zile.

2. SPECIFICAȚIA MATERIEI PRIME ȘI A MATERIALELOR

Nr.	Denumirea materiei prime și materialelor	Cerințe de calitate	Notă
Materii prime			
<i>Substanțe active</i>			
1.	Izohidrafural	MFT RM 08/1005-10.08	
2.	Metiluracil	Ph. Eur. ed. 9.0	
3.	Benzocaină	Ph. Eur. ed. 9.0	
<i>Substanțe auxiliare</i>			
4.	Polietilenglicol 400	Ph. Eur. ed. 9.0	
5.	Polietilenglicol 1500	Ph. Eur. ed. 9.0	
Materiale			
1.	Tuburi de aluminiu	Specificația producătorului	
2.	Cutie pliantă de carton	Specificația producătorului	
3.	Cutie colectivă din carton	Specificația producătorului	

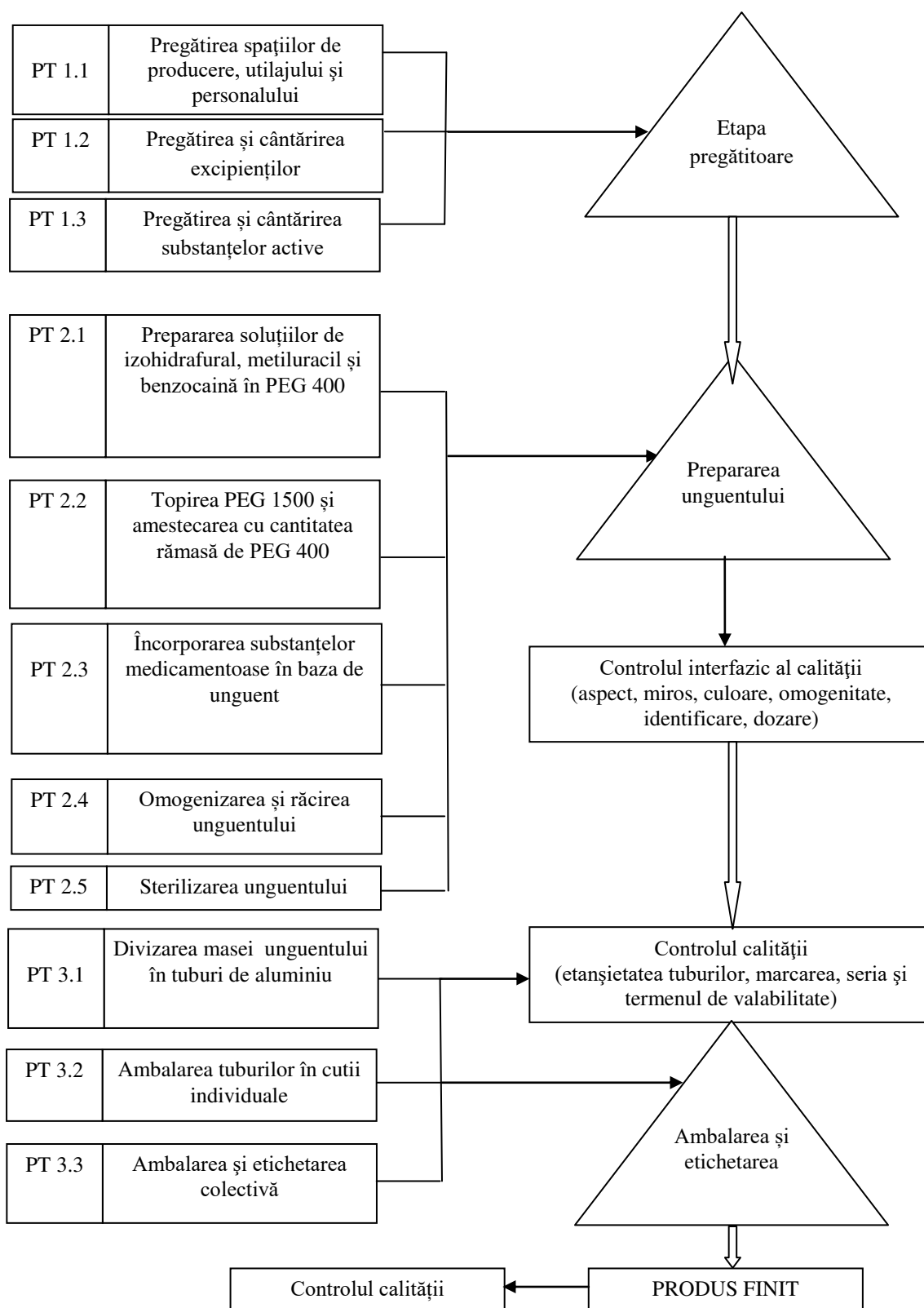
3. SPECIFICAȚIE DE APARATE ȘI UTILAJ

Nr.	Denumirea aparatelor și utilajelor	Caracteristici tehnice	Specificația materialului ce contactează cu produsul farmaceutic
1.	Balanță electronică Mettler-Toledo	30 kg	Platanul- Oțel inoxidabil
2.	Platformă de cântărire Alex	100 kg	Platanul – oțel crom nichelat 18/10
3.	Balanță analitică BP 211 D (Sartorius)	100 g	Platanul- Oțel inoxidabil
4.	Turboemulgator DUMOTURBO 50	Volum de lucru 50 l	Pereții și malaxorul – Oțel inoxidabil AISI 316
5.	Turboemulgator DUMOTURBO 400	Volum de lucru 400 l	Pereții și malaxorul – Oțel inoxidabil AISI 316
6.	Sistem de ambalare COMADIS C960	60 tuburi/minut	Oțel inoxidabil AISI 316

4. FAZELE PROCESULUI TEHNOLOGIC ȘI CONTROLUL CALITĂȚII

Nr.	Fazele procesului tehnologic	Controlul calității în procesul tehnologic	
		Parametrii procesului tehnologic	Controlul interfazic
1.	Pregătirea și cântărirea materiilor prime (substanțelor medicamentoase și excipienților)	Calitatea materiilor prime conform DAN. Masa materiilor prime conform formulării de fabricație.	Verificarea certificatelor de calitate și a buletinelor de analiză pentru fiecare materie primă. Verificarea preciziei balanțelor. Verificarea exactității cântăririi.
2.	Fluidizarea excipienților	Temperatura de fluidizare. Timpul de omogenizare.	Verificarea temperaturi de topire. Controlul calității bazei de unguent (culoarea și lipsa impurităților mecanice)
3.	Prepararea soluțiilor de substanțe active în polietilenglicol 400. Încorporarea soluțiilor substanțelor active în excipient, omogenizarea unguentului; răcirea unguentului	Masa substanțelor active, excipienților. Timpul de omogenizare. Temperatura de răcire a unguentului.	Verificarea corespunderii: - temperaturii de omogenizare; - timpului de omogenizare; - aspectului unguentului; - omogenității; - temperaturii de răcire; - conținutului substanțelor active.
4.	Divizarea masei în tuburi, inscripționarea numărului de serie și termenului de valabilitate (Ambalarea primară)	Etanșeitatea ambalajului; Inscripționarea seriei și termenului de valabilitate.	Verificarea corespunderii: - masei medii g/tub; - etanșeității ambalajului primar; - seriei și termenului de valabilitate.
5.	Ambalarea în cutii pliante de carton (Ambalarea secundară)	Aplicarea seriei, termenului de valabilitate pe ambalajul secundar. Plasarea ambalajului primar și a prospectului în cutii pliante.	Verificarea corectitudinii seriei și termenului de valabilitate, prezenței prospectului și a inscripționării lui.
6.	Ambalarea și etichetarea colectivă	Plasarea cutiilor pliante în ambalaj colectiv. Aplicarea etichetei colective.	Verificarea numărului de cutii pliante într-un ambalaj colectiv. Verificarea inscripționării corecte a cutiilor sau etichetelor colective.

5. SCHEMA FLUXULUI TEHNOLOGIC



6. DESCRIEREA PROCESULUI TEHNOLOGIC

6.1. Pregătirea spațiilor de producere, utilajului și personalului

6.1.1. *Proceduri pentru igienizarea spațiilor de producție*

Spațiile de producție trebuie să fie igienizate corespunzător pentru asigurarea calității produselor avizate.

Pereții se spală cu apă și săpun lichid înainte de fabricarea fiecărei serii de produs. Operația se efectuează de către personalul îngrijitor.

Geamurile și ușile se spală cu apă și detergenți (Ajax cu amoniac) înaintea producerii fiecărei serii de produs. Operația se efectuează de către personalul îngrijitor.

Mesele și rafturile se spală după terminarea producerii fiecărei serii de produs cu apă și detergent ecologic necorosiv. Urmele de detergent se vor înlătura cu apă purificată. Dezinfecția meselor se realizează săptămânal cu soluție de peroxid de hidrogen de 6% sau soluție de cloramină B 1%. Operația se efectuează de către personalul îngrijitor.

Pardoselele se spală cu apă și detergenți (Axion, Pur etc.) și se clătește cu apă. Dezinfecția se efectuează cu soluție de peroxid de hidrogen de 6% sau soluție de cloramină B 1%. Operația se efectuează de către personalul îngrijitor.

Mediul se efectuează aseptizarea cu lampa UV bactericidă, timp de 30 minute înainte de derularea producerii fiecărei serii de produs. Gradul de puritate al spațiilor de ambalare este „A” (GMP Eur.)

6.1.2. *Proceduri de curățare și întreținere a echipamentului auxiliar*

După terminarea ambalării fiecărei serii de produs se spală cu apă și detergenți necorosivi, după care se clătesc sub jet de apă. Uscarea se realizează în etuve.

6.1.3. *Proceduri de curățare și întreținere a echipamentului tehnologic*

- *Vasele de preparare și traseul de transport:* vasele se vor spăla cu apă fierbinte 60-70°C și detergent cu o concentrație de 10%; se va clăti de 2-3 ori cu apă caldă pentru îndepărtarea totală a urmelor de detergent;
- *Conducta de transport:* cu ajutorul pompei, din vasul de preparare spre instalația de dozare se va pompa soluția de detergent. Operația de spălare și clătire se va repeta de 2-3 ori.
- *Turbo-emulsificatorul DUMOTURBO 50 înzestrat cu turbină și braț cu palete:* curățarea se va face numai după deconectarea de la curentul electric. Porțiunile respective se spală cu tifon umezit în alcool etilic 70%. Operația se efectuează de către personalul tehnic. Subansamblele demontabile se spală cu apă caldă și detergenți ecologici. Urmele de detergenți se înlătură prin clătire sub jet de apă și în final cu apă purificată. Dezinfecția se efectuează cu alcool etilic 70%.

NOTĂ! Seria și termenul de valabilitate a produsului finit sunt indicate în fișa produsului și suplimentar farmacistul aplică pe instalația turbo-emulgatorului DUMOTURBO 50/600 o etichetă cu următoarele specificații: Denumirea produsului, Seria, Termen valabilitate.

6.1.4. *Proceduri pentru pregătirea personalului antrenat în procesul de producere*

Personalul antrenat în procesul de producere este supus examinării medicale la angajare și periodic în dependență de gradul de pericol la care este expus în procesul de fabricație. Personalul antrenat în procesul de producere este obligat să raporteze toate problemele de sănătate (febră, boli infecțioase, leziuni cutanate). Orice persoană care intră în zonele de fabricație poartă îmbrăcăminte de protecție adecvată operațiilor care se efectuează. În spațiile de producere se interzice: mâncatul, băutul, mestecatul, fumatul sau depozitarea de alimente, băutură, țigări, medicație personală. În general, este interzisă orice practică neigienică în interiorul zonelor de fabricație sau în oricare altă zonă unde produsul poate fi afectat. Este interzis contactul direct între mâinile operatorilor și produsul expus cât și cu orice parte a

echipamentului care vine în contact direct cu produsul. Personalul este instruit să folosească instalațiile sanitare pentru spălarea mâinilor.

NOTĂ! Procedurile menționate se efectuează conform indicațiilor din „Reguli și normative sanitaro-epidemiologice privind amplasarea, dotarea și exploatarea întreprinderilor și instituțiilor farmaceutice”, aprobate de MS și PS la 29.09.2005, nr. 01.10.32.1-5. și recomandărilor parvenite din practica de activitate a producătorilor de medicamente din industria farmaceutică.

6.2. Pregătirea materiei prime (substanțelor medicamentoase și excipienților)

Materiile prime, avizate de către LCCM, conform rețetei de fabricație se cântăresc în camera de cântărire în cantitățile necesare pentru o serie de produs pe balanțele corespunzătoare în prealabil verificate.

6.3. Prepararea soluțiilor de izohidrafural, metiluracil și benzocaină în PEG 400

Metiluracilul se dizolvă în circa 2,5 g PEG 400, o cantitate mai mare de PEG 400 va duce la formarea unei mase prea lichide, iar una mai mică va constitui o masă prea vâscoasă. Izohidrafuralul și benzocaina se dizolvă în circa 3 g PEG 400 fiecare.

6.4. Prepararea excipientului

PEG-1500 se topește, la care se adaugă restul cantității de PEG 400 rămase, se amestecă.

6.5. Încorporarea substanțelor active în baza de unguent

Soluțiile izohidrafuralului, metiluracilului și benzocainei în PEG 400 se adaugă treptat la excipientul topit. Se amestecă bine până la omogenitate. Unguentul obținut se sterilizează la 160°C timp de 2 ore. Produsul intermediar obținut după încorporarea principiilor active în baza de unguent este supus controlului analitic care include: aspectul, omogenitatea, identificare și dozare.

6.6. Divizarea masei de unguent în tuburi de aluminiu

După primirea buletinului de analiză; masa de unguent este transferată în sistemul de ambalare COMADIS C960. În timpul divizării, persoana responsabilă periodic verifică: masa medie, aspectul și etanșietatea ambalajului primar.

6.7. Ambalarea primară

În calitate de ambalaj primar se utilizează tuburile de aluminiu a câte 15 g, etanșate cu capac (MATRAMETAL, Ungaria).

6.8. Ambalarea secundară

Fiecare tub împreună cu instrucțiunea de administrare se plasează în cutia individuală din carton pentru ambalaj de consum sau crom-erzaț. Cutiile individuale se grupează în cutia colectivă câte 60 sau 120 bucăți. Se verifică numărul de cutii pliante în cutia colectivă și inscripționarea etichetei.

7. CONTROLUL CALITĂȚII

Calitatea produsului finit se verifică conform prevederilor proiectului Monografiei farmaceutice.

8. TEHNICA SECURITĂȚII, SECURITATEA ANTIINCENDIARĂ ȘI CONDIȚII SANITARE DE PRODUCERE

1. Procesul de fabricație se petrece cu sistemul de ventilare inclus.
2. Personalul trebuie să fie echipat cu mijloace adecvate de protecție.
3. Utilajul tehnologic este deservit numai de personal instruit și calificat.
4. La procesul de divizare a unguentului în tuburi se admite numai personal instruit pentru operațiunea dată.
5. Înaintea procesului de ambalare este verificată stare tehnică a echipamentului tehnologic. Nu se admite a lucra la utilajul ce prezintă defecțiuni tehnice.
6. Reglarea și reparația utilajului se efectuează numai de personalul tehnic.
7. Spațiul de producere trebuie să fie amenajat cu mijloace antiincendiar, truse medicale pentru acordarea ajutorului de urgență.

9. DEȘEURI DE PRODUCȚIE

În procesul tehnologic nu se formează deșeuri de producție.

10. LISTA INSTRUCȚIUNILOR DE PRODUCERE

1. Instrucțiuni:

- Regulile și normativele tehnicii securității.
- Instrucțiuni pentru exploatarea utilajului electric.
- Fișele posturilor.
- Fișa de produs.
- Procedurile operaționale.

2. Măsuri sanitaro-igienice:

- Instrucțiuni referitor la starea sanitaro-igienică a spațiilor de producere.
- Instrucțiuni pentru respectarea igienei personale.
- Instrucțiuni și reguli de efectuare a măsurilor de dezinfecție.
- Instrucțiune-tip despre ordinea efectuării instructajului cu personalul de producere și auxiliar.

11. NORMATIVE TEHNICO – ECONOMICE

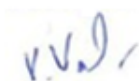
Normele de consum ale materiei prime și materialelor de ambalare pentru producerea unei serii industriale a 5 kg unguent

Nr. d/o	Denumirea	Cantitate	Unitate de măsură	Destinație	Cerințe calitate
Materii prime					
1.	Izohidrafural	0,005	Kg	Substanță activă	MFT RM 08/1005-10.08
2.	Metiluracil	0,2	Kg	Substanță activă	Ph. Eur. ed. 9.0
3.	Benzocaină	0,05	Kg	Substanță activă	Ph. Eur. ed. 9.0
4.	PEG 400	2,847	Kg	Excipient	Ph. Eur. ed. 9.0
5.	PEG 1500	1,898	Kg	Excipient	Ph. Eur. ed. 9.0
TOTAL		5,0	Kg		
Materiale de ambalare					
1.	Tuburi din aluminiu	3333	nr.	Ambalare primară	Specificația producătorului
2.	Cutii pliante	3333	nr.	Ambalare secundară	Specificația producătorului
3.	Cutii colective	3333	nr.	Ambalare colectivă	Specificația producătorului

12. NORMAREA TIMPULUI DE LUCRU

1. Pregătirea spațiilor de producție – 60 minute;
2. Pregătirea materiei prime, materialelor de ambalaj – 60 minute;
3. Reglarea Turboemulgatorului model DUMOTURBO 50/600 – 30 minute;
4. Prepararea bazei de unguent – 1 oră;
5. Încorporarea substanțelor active în baza de unguent – 1 oră;
6. Divizarea masei de unguent în 3333 tuburi de aluminiu – 2 ore;
7. Ambalarea tuburilor în cutia pliant pentru 3333 tuburi – 4 ore;
8. Ambalarea în cutia colectivă – 3 ore.

Director Centrul Științific al
Medicamentului
doctor hab. în farmacie, prof.
universitar



Vladimir VALICA
" 20 " februarie 2019

Șef Laborator de analiză, standardizare
și control al medicamentelor, CȘM,
doctor în farmacie, conf. universitar



Livia UNCU
" 20 " februarie 2019

Doctorand,
Catedra de chimie farmaceutică și
toxicologică



Elena DONICI
" 20 " februarie 2019

**Anexa 19. Proiectul Regulamentului Tehnologic de Producere a unguentului combinat cu
conținut de izohidrafural și fluocinolon acetamid**

PROIECTUL REGULAMENTULUI TEHNOLOGIC

**de producere a unguentului combinat cu conținut de
izohidrafural și fluocinolon acetamid**

**«Unguent Izofural F»
«Unguentum Izofural F»**

Se pune în aplicare prima dată

Pusă în aplicare
" ____ " ____ 20 ____
Valabilă până la
" ____ " ____ 20 ____

Ediție oficială

Reproducerea interzisă

1. GENERALITĂȚI

1.1. Denumirea produsului farmaceutic

«UNGUENTUM IZOFURAL F»

«UNGUENT IZOFURAL F»

«ИЗОФУРАЛ Ф МАЗЬ»

1.2. Descrierea produsului farmaceutic

Unguent omogen de consistență semisolidă, culoare galben-pal, fără miros.

1.3. Compoziție cantitativă

<i>Nr.</i>	<i>Denumirea materiei prime</i>	<i>Cantitatea, g</i>	<i>Condiții de calitate</i>
1.	Izohidrafural	0,1	MFT RM 08/1005-10.08
2.	Fluocinolon acetonid	0,025	Ph. Eur. ed. 9.0
3.	Propilenglicol	5,0	Ph. Eur. ed. 9.0
4.	Alcool cetostearilic	3,0	Ph. Eur. ed. 9.0
5.	Vazelină	91,875	Ph. Eur. ed. 9.0
TOTAL		100,0	

1.4. Farmacoterapie

„Unguentul Izofural F” prezintă o combinație dintre o substanță antibacteriană și un corticosteroid de potență mare. „Unguentul Izofural F” inhibă complet creșterea microorganismelor bacteriene. Exerciță acțiune bactericidă față de microorganismele gram-pozitive (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*), și gram-negative (*Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Enterobacter cloacae*) în termeni scurți după contactul cu ele, în primele 2-5 ore.

Posedă și acțiune antiinflamatoare, antialergică și antipruritică pronunțată.

Se administrează extern. Nu provoacă iritații ale pielii.

Posedă capacitate sporită asupra înlăturării procesului inflamator – purulent.

1.5. Mod de administrare

„Unguentul Izofural F” se aplică extern, în cazul dermatitelor corticosensibile acute și cronice infectate și psoriazisului, în special în cazurile cronice, stabilizate.

„Unguentul Izofural F” se aplică pe zona cutanată afectată, în strat subțire, de 2-3 ori pe zi. După aplicare zona se masează ușor. Durata tratamentului se stabilește în funcție de efectul terapeutic și nu trebuie să depășească 2-3 săptămâni.

2. SPECIFICAȚIA MATERIEI PRIME ȘI A MATERIALELOR

<i>Nr.</i>	<i>Denumirea materiei prime și materialelor</i>	<i>Cerințe de calitate</i>	<i>Notă</i>
Materii prime			
<i>Substanțe active</i>			
1.	Izohidrafural	MFT RM 08/1005-10.08	
2.	Fluocinolon acetonid	Ph. Eur. ed. 9.0	
<i>Substanțe auxiliare</i>			
3.	Propilenglicol	Ph. Eur. ed. 9.0	
4.	Alcool cetostearilic	Ph. Eur. ed. 9.0	
5.	Vazelină	Ph. Eur. ed. 9.0	
Materiale			
1.	Tuburi de aluminiu	Specificația producătorului	
2.	Cutie pliantă de carton	Specificația producătorului	
3.	Cutie colectivă din carton	Specificația producătorului	

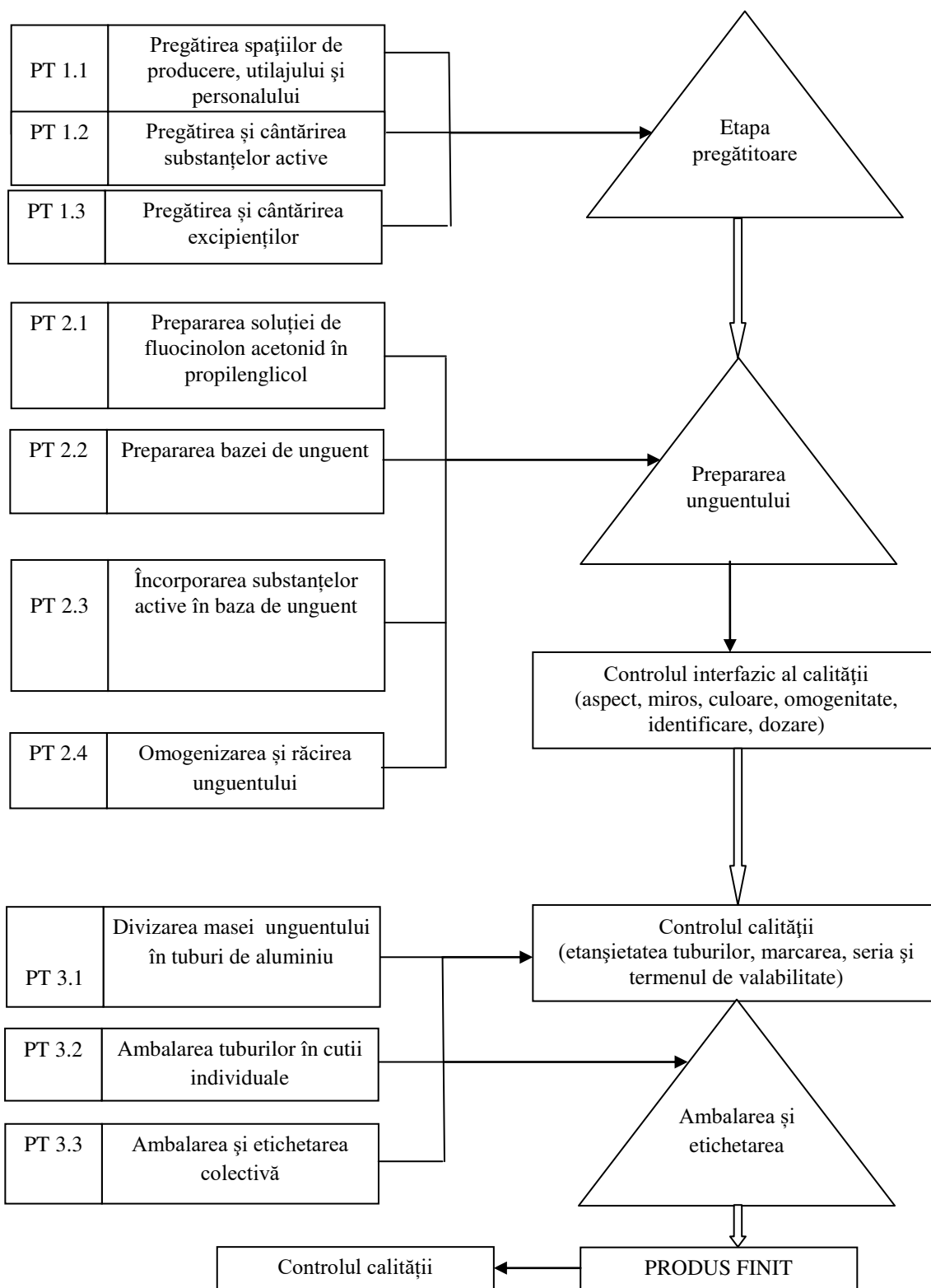
3. SPECIFICAȚIE DE APARATE ȘI UTILAJ

<i>Nr.</i>	<i>Denumirea aparatelor și utilajelor</i>	<i>Caracteristici tehnice</i>	<i>Specificația materialului ce contactează cu produsul farmaceutic</i>
1.	Balanță electronică Mettler-Toledo	30 kg	Platanul- Oțel inoxidabil
2.	Platformă de cântărire Alex	100 kg	Platanul – oțel crom nichelat 18/10
3.	Balanță analitică BP 211 D (Sartorius)	100 gr	Platanul- Oțel inoxidabil
4.	Turboemulgator DUMOTURBO 50	Volum de lucru 50 l	Pereții și malaxorul – Oțel inoxidabil AISI 316
5.	Turboemulgator DUMOTURBO 400	Volum de lucru 400 l	Pereții și malaxorul – Oțel inoxidabil AISI 316
6.	Sistem de ambalare COMADIS C960	60 tuburi/minut	Oțel inoxidabil AISI 316

4. FAZELE PROCESULUI TEHNOLOGIC ȘI CONTROLUL CALITĂȚII

Nr.	Fazele procesului tehnologic	Controlul calității în procesul tehnologic	
		Parametrii procesului tehnologic	Controlul interfazic
1.	Pregătirea și cântărirea materiilor prime (substanțelor medicamentoase și excipienților)	Calitatea materiilor prime conform DAN. Masa materiilor prime conform formulării de fabricație.	Verificarea certificatelor de calitate și a buletinelor de analiză pentru fiecare materie primă. Verificarea preciziei balanțelor. Verificarea exactității cântării.
2.	Fluidizarea excipienților	Temperatura de fluidizare. Timpul de omogenizare.	Verificarea temperaturi de topire. Controlul calității bazei de unguent (culoarea și lipsa impurităților mecanice)
3.	Prepararea soluției de fluocinolon acetonid în propilenglicol. Încorporarea soluțiilor substanțelor active în excipient, omogenizarea unguentului; răcirea unguentului	Masa substanțelor active, excipienților. Timpul de omogenizare. Temperatura de răcire a unguentului.	Verificarea corespunderii: - temperaturii de omogenizare; - timpului de omogenizare; - aspectului unguentului; - omogenității; - temperaturii de răcire; - conținutului substanțelor active.
4.	Divizarea masei în tuburi, inscripționarea numărului de serie și termenului de valabilitate (Ambalarea primară)	Etanșeitatea ambalajului; Inscripționarea seriei și termenului de valabilitate.	Verificarea corespunderii: - masei medii g/tub; - etanșeității ambalajului primar; - seriei și termenului de valabilitate.
5.	Ambalarea în cutii pliante de carton (Ambalarea secundară)	Aplicarea seriei, termenului de valabilitate pe ambalajul secundar. Plasarea ambalajului primar și a prospectului în cutii pliante.	Verificarea corectitudinii seriei și termenului de valabilitate, prezenței prospectului și a inscripționării lui.
6.	Ambalarea și etichetarea colectivă	Plasarea cutiilor pliante în ambalaj colectiv. Aplicarea etichetei colective.	Verificarea numărului de cutii pliante într-un ambalaj colectiv. Verificarea inscripționării corecte a cutiilor sau etichetelor colective.

5. SCHEMA FLUXULUI TEHNOLOGIC



6. DESCRIEREA PROCESULUI TEHNOLOGIC

6.1. Pregătirea spațiilor de producere, utilajului și personalului

6.1.1. *Proceduri pentru igienizarea spațiilor de producție*

Spațiile de producție trebuie să fie igienizate corespunzător pentru asigurarea calității produselor avizate.

Pereții se spală cu apă și săpun lichid înainte de fabricarea fiecărei serii de produs. Operația se efectuează de către personalul îngrijitor.

Geamurile și ușile se spală cu apă și detergenți (Ajax cu amoniac) înaintea producerii fiecărei serii de produs. Operația se efectuează de către personalul îngrijitor.

Mesele și rafturile se spală după terminarea producerii fiecărei serii de produs cu apă și detergent ecologic necorosiv. Urmele de detergent se vor înlătura cu apă purificată. Dezinfecția meselor se realizează săptămânal cu soluție de peroxid de hidrogen de 6% sau soluție de cloramină B 1%. Operația se efectuează de către personalul îngrijitor.

Pardoselele se spală cu apă și detergenți (Axion, Pur etc.) și se clătește cu apă. Dezinfecția se efectuează cu soluție de peroxid de hidrogen de 6% sau soluție de cloramină B 1%. Operația se efectuează de către personalul îngrijitor.

6.1.2. *Proceduri de curățare și întreținere a echipamentului auxiliar*

După terminarea ambalării fiecărei serii de produs se spală cu apă și detergenți necorosivi, după care se clătesc sub jet de apă. Uscarea se realizează în etuve.

6.1.3. *Proceduri de curățare și întreținere a echipamentului tehnologic*

- *Vasele de preparare și traseul de transport:* vasele se vor spăla cu apă fierbinte 60-70°C și detergent cu o concentrație de 10%; se va clăti de 2-3 ori cu apă caldă pentru îndepărtarea totală a urmelor de detergent;
- *Conducta de transport:* cu ajutorul pompei, din vasul de preparare spre instalația de dozare se va pompa soluția de detergent. Operația de spălare și clătire se va repeta de 2-3 ori.
- *Turbo-emulsificatorul DUMOTURBO 50 înzestrat cu turbină și braț cu palete:* curățarea se va face numai după deconectarea de la curentul electric. Porțiunile respective se spală cu tifon umezit în alcool etilic 70%. Operația se efectuează de către personalul tehnic. Subansabilele demontabile se spală cu apă caldă și detergenți ecologici. Urmele de detergenți se înlătură prin clătire sub jet de apă și în final cu apă purificată. Dezinfecția se efectuează cu alcool etilic 70%.

NOTĂ! Seria și termenul de valabilitate a produsului finit sunt indicate în fișa produsului și suplimentar farmacistul aplică pe instalația turbo-emulgatorului DUMOTURBO 50/600 o etichetă cu următoarele specificații: Denumirea produsului, Seria, Termen valabilitate.

6.1.4. *Proceduri pentru pregătirea personalului antrenat în procesul de producere*

Personalul antrenat în procesul de producere este supus examinării medicale la angajare și periodic în dependență de gradul de pericol la care este expus în procesul de fabricație. Personalul antrenat în procesul de producere este obligat să raporteze toate problemele de sănătate (febră, boli infecțioase, leziuni cutanate). Orice persoană care intră în zonele de fabricație poartă îmbrăcăminte de protecție adecvată operațiilor care se efectuează. În spațiile de producere se interzice: mâncatul, băutul, mestecatul, fumatul sau depozitarea de alimente, băutură, țigări, medicație personală. În general, este interzisă orice practică neigienică în interiorul zonelor de fabricație sau în oricare altă zonă unde produsul poate fi afectat. Este interzis contactul direct între mâinile operatorilor și produsul expus cât și cu orice parte a echipamentului care vine în contact direct cu produsul. Personalul este instruit să folosească instalațiile sanitare pentru spălarea mâinilor.

6.2. *Pregătirea și cântărirea substanțelor active*

Substanțele active, avizate de către LCCM, conform rețetei de fabricație se cântăresc în camera de cântărire în cantitățile necesare pentru o serie de produs pe balanțele corespunzătoare în prealabil verificate.

6.3. *Pregătirea și cântărirea excipienților*

Excipienții, avizați de către LCCM, conform rețetei de fabricație se cântăresc în camera de cântărire în cantitățile necesare pentru o serie de produs pe balanțele corespunzătoare în prealabil verificate.

6.4. Prepararea soluției de fluocinolon acetonid în propilenglicol

Cantitatea cântărită de fluocinolon acetonid se dizolvă în circa 1 g de propilenglicol la 50-55°C la agitare, apoi cantitatea rămasă de propilenglicol se va adăuga treptat, în porții și la amestecare continuă.

6.5. Prepararea bazei de unguent

Alcoolul cetostearilic se topește la 50-55°C. Vaselina se topește la 35-40°C. La vaselina topită se adaugă alcoolul cetostearilic topit și se amestecă bine până la omogenizare.

6.6. Încorporarea substanțelor active în baza de unguent

Soluția obținută de fluocinolon acetonid în propilenglicol și cantitatea exact cântărită de izohidrafural se adaugă treptat la excipientul topit.

6.7. Omogenizarea și răcirea unguentului

Se amestecă bine până la o masă omogenă. Produsul intermediar obținut după încorporarea principiilor active în baza de unguent este supus controlului analitic care include: aspectul, omogenitatea, identificare și dozare.

6.8. Divizarea masei de unguent în tuburi de aluminiu

Masa de unguent obținută este transferată în sistemul de ambalare COMADIS C960. În timpul divizării, persoana responsabilă periodic verifică: masa medie, aspectul și etanșietatea ambalajului primar.

6.9. Ambalarea primară

În calitate de ambalaj primar se utilizează tuburile de aluminiu a câte 15 g, etanșate cu capac.

6.10. Ambalarea secundară

Fiecare tub împreună cu instrucțiunea de administrare se plasează în cutia individuală din carton pentru ambalaj de consum. Cutiile individuale se grupează în cutia colectivă câte 60 sau 120 bucăți. Se verifică numărul de cutii pliante în cutia colectivă și inscripționarea etichetei.

7. CONTROLUL CALITĂȚII

Calitatea produsului finit se verifică conform prevederilor proiectului Monografiei farmaceutice.

8. TEHNICA SECURITĂȚII, SECURITATEA ANTIINCENDIARĂ ȘI CONDIȚII SANITARE DE PRODUCERE

1. Procesul de fabricație se petrece cu sistemul de ventilare inclus.
2. Personalul trebuie să fie echipat cu mijloace adecvate de protecție.
3. Utilajul tehnologic este deservit numai de personal instruit și calificat.
4. La procesul de divizare a unguentului în tuburi se admite numai personal instruit pentru operațiunea dată.
5. Înaintea procesului de ambalare este verificată stare tehnică a echipamentului tehnologic. Nu se admite a lucra la utilajul ce prezintă defecțiuni tehnice.
6. Reglarea și reparația utilajului se efectuează numai de personalul tehnic.
7. Spațiul de producere trebuie să fie amenajat cu mijloace antiincendiar, truse medicale pentru acordarea ajutorului de urgență.

9. DEȘEURI DE PRODUCȚIE

În procesul tehnologic nu se formează deșeuri de producție.

10. LISTA INSTRUCȚIUNILOR DE PRODUCERE

1. Instrucțiuni:

- Regulile și normativele tehnicii securității.

- Instrucțiuni pentru exploatarea utilajului electric.
- Fișele posturilor.
- Fișa de produs.
- Procedurile operaționale.

2. Măsuri sanitaro-igienice:

- Instrucțiuni referitor la starea sanitaro-igienică a spațiilor de producere.
- Instrucțiuni pentru respectarea igienei personale.
- Instrucțiuni și reguli de efectuare a măsurilor de dezinfecție.
- Instrucțiune-tip despre ordinea efectuării instructajului cu personalul de producere și auxiliar.

11. NORMATIVE TEHNICO – ECONOMICE

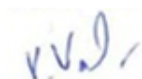
Normele de consum ale materiei prime și materialelor de ambalare pentru producerea unei serii industriale de 5 kg unguent

Nr.	Denumirea	Cantitate	Unitate de măsură	Destinație	Cerințe calitate
Materii prime					
1.	Izohidrafural	0,005	kg	Substanță activă	MFT
2.	Fluocinolon acetonid	0,00125	kg	Substanță activă	Ph. Eur. ed. 9.0
3.	Propilenglicol	0,25	kg	Excipient	Ph. Eur. ed. 9.0
4.	Alcool cetostearilic	0,15	kg	Excipient	Ph. Eur. ed. 9.0
5.	Vazelină	până la 5,0	kg	Excipient	Ph. Eur. ed. 9.0
TOTAL		5,0	kg		
Materiale de ambalare					
1.	Tuburi din aluminiu	3333	nr.	Ambalare primară	Specificația producătorului
2.	Cutii pliante	3333	nr.	Ambalare secundară	Specificația producătorului
3.	Cutii colective	3333	nr.	Ambalare colectivă	Specificația producătorului

12. NORMAREA TIMPULUI DE LUCRU

1. Pregătirea spațiilor de producție – 60 minute;
2. Pregătirea materiei prime, materialelor de ambalaj – 60 minute;
3. Reglarea Turboemulgatorului model DUMOTURBO 50/600 – 30 minute;
4. Prepararea bazei de unguent pentru 5 kg unguent – 1 oră;
5. Încorporarea substanțelor active în baza de unguent – 1 oră;
6. Divizarea masei de unguent în tuburi de aluminiu – 2 ore;
7. Ambalarea tuburilor în cutia pliant – 4 ore;
8. Ambalarea în cutia colectivă – 3 ore.

Director Centrul Științific al
Medicamentului
doctor hab. în farmacie, prof.
universitar



Vladimir VALICA
" 20 " februarie 2019

Șef Laborator de analiză, standardizare
și control al medicamentelor, CȘM,
doctor în farmacie, conf. universitar



Livia UNCUI
" 20 " februarie 2019

Doctorand,
Catedra de chimie farmaceutică și
toxicologică



Elena DONICI
" 20 " februarie 2019

Anexa 20. Proiect de Monografie farmaceutică a unguentului combinat cu conținut de izohidrafural și metiluracil

PROIECT DE MONOGRAFIE FARMACOTEICĂ

UNGUENTUM IZOFURAL M

MF MD-08/

Unguent Izofural M

Se pune în aplicare prima dată

Pusă în aplicare din

" ____ " ____ 20__

Valabilă până la

" ____ " ____ 20__

Prezenta Monografie Farmaceutică reglementează calitatea medicamentului “Unguent Izofural M” (combinație dintre substanțele active: izohidrafural și metiluracil), utilizat în calitate de preparat medicamentos pentru uz extern.

Componența:

Denumirea materiei prime	Cantitatea, g	Condiții de calitate
Izohidrafural	0,1	MFT MD-08/1005-10.08
Metiluracil	4,0	Ph. Eur. ed. 9.0
Polietilenglicol 400	76,72	Ph. Eur. ed. 9.0
Polietilenglicol 1500	19,18	Ph. Eur. ed. 9.0
TOTAL	100,0 g	

Ediție oficială

Reproducerea interzisă

SPECIFICAȚIE
pentru produsul farmaceutic
Unguent Izofural M

<i>Caracteristici</i>	<i>Metode de analiză</i>	<i>Criterii de acceptare</i>
Descriere	Organoleptic	Unguent omogen, de culoare galben-deschis, fără miros.
Identificare Izohidrafural și metiluracil	1.HPLC (<i>Ph. Eur. 2.2.29 ed. 8.0</i>) 2. Spectrofotometrie UV-VIS (<i>Ph. Eur. 2.2.25 ed. 8.0</i>) 3.Reacții chimice: 3.1.pentru izohidrafural: a) cu soluție de hidroxid de sodiu 0,1 mol/l; b) cu dimetilformamidă; 3.2.pentru metiluracil: a) cu soluție de nitrat de argint în mediul bazic.	1. Pe cromatogramele soluțiilor probă, obținute în compartimentul "Dozare", valorile timpului de retenție ale picurilor de izohidrafural și metiluracil trebuie să corespundă valorilor timpului de retenție ale picurilor corespunzătoare pe cromatogramele soluțiilor standard. 2. Spectrele UV-VIS ale soluțiilor probe obținute în compartimentul "Dozare", trebuie să conțină aceleași maxime de absorbție precum în cazul soluțiilor standard de substanțe medicamentoase. 3. 3.1. a) Formează o colorație roșie-oranjă. b) Formează o colorație galben-brună. 3.2. a) Apare precipitat gelatinos.
Omogenitate	<i>FR ed. X</i>	Nu trebuie să prezinte picături sau aglomerări de particule.
pH	<i>FR ed. X</i>	Să fie cuprins între 4,5 și 8,5
Masa totală pe recipient	<i>FR ed. X</i>	±5%
Contaminare microbiană (Sterilizare)	<i>Ph. Eur.5.1.4, 2.6.1 ed. 9.0</i>	Categoria 1
Dozare - izohidrafural - metiluracil	HPLC (<i>Ph. Eur. 2.2.29 ed. 9.0</i>) Spectrofotometrie UV-VIS (<i>Ph. Eur. 2.2.25 ed. 9.0</i>)	Izohidrafural: cel puțin 0,099% și cel mult 0,103%; Metiluracil: cel puțin 3,98% și cel mult 4,05%. Izohidrafural: cel puțin 0,099 g și cel mult 0,103 g;

		Metiluracil: cel puțin 3,98 g și cel mult 4,05 g.
Ambalare		Câte 15 g în tuburi sterile, închise etanș.
Depozitare		La loc uscat, ferit de lumină, la temperatura cel mult 25°C.
Transportare		Conform GOST 17768-90.
Termen de valabilitate		2 ani
Grupa farmacoterapeutică și codul ATC		D06B X – Alte chimioterapice; D03A X – Alte cicatrizante.

Descriere. Unguent omogen, de culoare galben-deschis, fără miros.

Identificare. Se efectuează obligatoriu testele 1 și 2 sau 1 și 3

1. HPLC: pe cromatogramele soluțiilor probă, obținute în compartimentul “Dozare”, valorile timpului de retenție ale picurilor de izohidrafural și metiluracil trebuie să corespundă valorilor timpului de retenție ale picurilor corespunzătoare pe cromatogramele soluțiilor standard.
2. Spectrofotometrie UV-VIS: spectrele UV-VIS ale soluțiilor probe obținute în compartimentul “Dozare”, trebuie să conțină aceleași maxime de absorbție precum în cazul soluțiilor standard de substanțe medicamentoase.
3. Reacții chimice:

Extracție. 0,1 g unguent combinat (masă exactă) se dizolvă în 10 ml apă purificată la încălzire, până la topirea excipientului. După răcire se separă stratul de apos.

3.1. Pentru izohidrafural:

a) *reacția cu hidroxid de sodiu.* La 2 ml extract se adaugă 1 ml soluție de hidroxid de sodiu 0,1 mol/l. Apare o colorație roșie-oranjă.

b) *reacția cu dimetilformamidă.* La 2 ml extract se adaugă 1 ml dimetilformamidă. Apare o colorație galben-brună.

3.2. Pentru metiluracil:

a) *reacția cu nitrat de argint în mediul bazic.* La 1 ml extract se adaugă 2-3 picături soluție de timolftaleină și soluție de hidroxid de sodiu 0,1 mol/l cu picătura până la apariția unei colorații albastre. Apoi se adaugă 0,5 ml soluție nitrat de argint. Apare un precipitat gelatinos.

Omogenitate. Unguentul întins în strat subțire pe o lamă de sticlă și examinat cu lupa (4,5X) nu trebuie să prezinte picături sau aglomerări de particule.

pH. Trebuie să fie cuprins între 4,5 și 8,5. Se determină potențiometric, pentru extractul obținut în compartimentul “Identificare”.

Masa totală pe recipient. Se determină prin cântărirea individuală a conținutului din zece recipiente. Față de masa declarată pe recipient se admit abaterile procentuale de ±5% (10 g până la 25 g).

Contaminare microbiană. Se efectuează conform *Ph. Eur. 5.1.4, 2.6.1 ed. 9.0*, aplicând metoda de filtrare prin membrană. 1 g unguent se dizolvă în 100 ml izopropil miristat. Nu se admite creșterea microorganismelor.

Dozare. Se efectuează prin metoda 1 sau 2.

1. HPLC. *Prepararea soluției probă.* Circa 1,0 g (masă exactă) de unguent se transferă într-o ceașcă de porțelan, la care se adaugă 10 ml de fază mobilă și se încălzește la 40°C până la topirea unguentului. Proba se răcește la temperatura camerei și se filtrează prin filtru de membrană (0,45 μm). Filtratul obținut se transferă într-un balon cotat de 50 ml. Extracția se repetă de două ori cu câte 20 ml fază mobilă. Probele obținute se adaugă la prima extracție și se completează până la marcaj cu fază mobilă. 5 ml soluție obținută se trece într-un balon cotat cu capacitatea de 10 ml și se completează până la cotă cu fază mobilă.

Prepararea soluției standard de izohidrafural. 10 mg (masă exactă) standard de lucru de izohidrafural se transferă într-un balon cotat de 100 ml. Se adăugă aproximativ 30 ml de fază mobilă și se agită până la dizolvare. Apoi se aduce până la cotă cu fază mobilă. 1 ml de soluție obținută se transferă într-un balon cotat de 10 ml și se completează până la cotă cu fază mobilă.

Prepararea soluției standard de metiluracil: 40 mg (masă exactă) standard de lucru de metiluracil se transferă într-un balon cotat de 100 ml. Se adăugă aproximativ 30 ml de fază mobilă și se agită până la dizolvare. Apoi se aduce până la cotă cu fază mobilă. 1 ml de soluție obținută se transferă într-un balon cotat de 10 ml și se completează până la cotă cu fază mobilă.

Condițiile analizei cromatografice:

- faza staționară: Coloana cromatografică Nucleosil C18, cu dimensiunile particulelor 2,6 μm, lungimea 300 mm și diametrul intern 5,0 mm; temperatura 30°C;
- faza mobilă: metanol:apă deionizată în raport de 25:75. Debitul fazei mobile: 0,4 ml/min;
- detecția în UV la lungimea de undă 260 nm.

Verificarea utilității sistemului cromatografic. Înainte de efectuarea analizei coloana cromatografică se echilibrează cu faza mobilă.

Câte 10 μl soluție standard se injectează în cromatograf, înregistrând cel puțin 5 cromatograme în condițiile descrise mai sus. Apoi în aceleași condiții se înregistrează 2-3 cromatograme a soluției probă.

Sistemul cromatografic se consideră util, dacă se îndeplinesc următoarele cerințe:

- a. pe cromatograme se regăsesc picurile de izohidrafural și metiluracil;
- b. rezoluția dintre picurile de metiluracil și izohidrafural trebuie să fie cel puțin 2,0;
- c. eficiența sistemului cromatografic, calculată pentru picurile de izohidrafural și metiluracil trebuie să fie cel puțin 2000 talere teoretice;
- d. factorul de asimetrie pentru picurile de izohidrafural și metiluracil, calculat la 0,05 de înălțime, trebuie să se afle în intervalul 0,8 – 1,5;
- e. coeficientul de variație a ariei picurilor de izohidrafural și metiluracil pe cromatogramele soluției standard trebuie să fie cel mult 2,5%.

Modul de lucru. Câte 10 μl probă de analizat și soluție standard se injectează consecutiv în sistemul cromatografic, obținând cel puțin 3 cromatograme pentru fiecare soluție în condițiile descrise mai sus.

Conținutul de izohidrafural se determină conform formulei:

$$X = \frac{S_{pr} \cdot m_{st} \cdot 50 \cdot 10}{S_{st} \cdot m_{pr} \cdot 100 \cdot 10 \cdot 5} \cdot P,$$

în care:

X – conținutul cantitativ de izohidrafural în unguent, g;

S_{pr} – valoarea medie a ariei picului de izohidrafural pe cromatogramele soluției probă;

S_{st} – valoarea medie a ariei picului de izohidrafural pe cromatogramele soluției standard;

m_{st} – masa substanței de referință izohidrafural, luată în lucru, g;

m_{pr} – masa probei de analizat, luată în lucru, g;

P – masa totală a unguentului, g.

Conținutul izohidrafuralului în unguent trebuie să fie cel puțin 0,099% și cel mult 0,103%.

Conținutul de metiluracil se determină conform formulei:

$$X = \frac{S_{pr} \cdot m_{st} \cdot 50 \cdot 10}{S_{st} \cdot m_{pr} \cdot 100 \cdot 10 \cdot 5} \cdot P,$$

în care:

X – conținutul cantitativ de metiluracil în unguent, g;

S_{pr} – valoarea medie a ariei picului de metiluracil pe cromatogramele soluției probă;

S_{st} – valoarea medie a ariei picului de metiluracil pe cromatogramele soluției standard;

m_{st} – masa substanței de referință metiluracil, luată în lucru, g;

m_{pr} – masa probei de analizat, luată în lucru, g;

P – masa totală a unguentului, g.

Conținutul metiluracilului în unguent trebuie să fie cel puțin cel puțin 3,98% și cel mult 4,05%.

2. Spectrofotometrie UV-VIS. *Tehnica de extracție.* 0,5 g unguent (masă exactă) se dizolvă în 20 ml de dimetilformamidă la încălzire până la topirea excipientului. După răcire se separă lichidul obținut într-un balon cotat de 50 ml. Extracția se repetă de 2 ori cu câte 15 ml de dimetilformamidă, unind fracțiunile. Se aduce la cotă cu același solvent. În rezultat s-a obținut o soluție transparentă, de culoare galben-oranj.

Pregătirea soluției probă de izohidrafural. 5 ml de extract se plasează într-un balon cotat de 10 ml și se aduce la cotă cu dimetilformamidă.

Pregătirea soluției probă de metiluracil. 2,5 ml de extract se transferă într-un balon cotat de 100 ml și se aduce la cotă cu dimetilformamidă.

Pregătirea soluției standard de izohidrafural. 0,01 g (masă exactă) de substanță standard de izohidrafural se plasează într-un balon cotat cu capacitatea 100 ml, se adaugă 20 ml dimetilformamidă. Se agită până la dizolvare și se aduce la cotă cu același solvent. 5 ml de soluție obținută se transferă într-un balon cotat de 100 ml și se aduce la semn cu același solvent.

Pregătirea soluției standard de metiluracil. 0,05 g (masă exactă) de substanță standard de metiluracil se plasează într-un balon cotat cu capacitatea 50 ml, se adaugă 20 ml dimetilformamidă. Se agită până la dizolvare și se aduce la cotă cu același solvent. 1 ml de soluție obținută se transferă într-un balon cotat de 100 ml și se aduce la semn cu același solvent.

Conținutul cantitativ de izohidrafural în unguentul combinat a fost calculat prin formula:

$$X = \frac{A_x \cdot 50 \cdot 10 \cdot m_{st} \cdot 5}{A_{st} \cdot m_{ung} \cdot 5 \cdot 100 \cdot 100} \cdot P,$$

în care:

X – conținutul cantitativ de izohidrafural în unguent, g;

A_x – absorbanța soluției probă de izohidrafural;

A_{st} – absorbanța soluției standard de izohidrafural;

m_{ung} – masa unguentului luată pentru extracție, g;

m_{st} – masa substanței standard de izohidrafural, g;

P – masa totală a unguentului, g.

Conținutul izohidrafuralului în unguent trebuie să fie cel puțin 0,099% și cel mult 0,103%.

Conținutul cantitativ de metiluracil în unguentul combinat a fost calculat prin formula:

$$X = \frac{A_x \cdot 50 \cdot 100 \cdot m_{st} \cdot 1}{A_{st} \cdot m_{ung} \cdot 2,5 \cdot 50 \cdot 100} \cdot P,$$

în care:

X – conținutul cantitativ de metiluracil în unguent, g;

A_x – absorbanța soluției probă de metiluracil;

A_{st} – absorbanța soluției standard de metiluracil;

m_{ung} – masa unguentului luată pentru extracție, g;

m_{st} – masa substanței standard de metiluracil, g;

P – masa totală a unguentului, g.

Conținutul metiluracilului în unguent trebuie să fie cel puțin cel puțin 3,98% și cel mult 4,05%.

Ambalare. Câte 15 g produs în tuburi din aluminiu, sterile, închise etanș.

Marcare. Pe eticheta recipientului se indică următoarele specificații în limba română și/sau rusă:

- denumirea firmei producătoare, sigla și țara;

- adresa producătorului;
- denumirea produsului;
- conținutul ambalajului (masa);
- condițiile de conservare;
- seria, ce include data de fabricare;
- termenul de valabilitate;
- numărul de autorizare.

Condiții de depozitare. La loc uscat, ferit de lumină la temperatura sub 25°C.

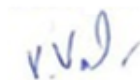
Transportare. Transportare conform GOST 17768-90.

Termen de valabilitate. 2 ani.

Grupa farmacoterapeutică și codul ATC. D06B X – Alte chimioterapice;

D03A X – Alte cicatrizante.

*Director Centrul Științific al
Medicamentului
doctor hab. în farmacie, prof.
universitar*



Vladimir VALICA
" 20 " februarie 2019

*Șef Laborator de analiză, standardizare
și control al medicamentelor, CȘM,
doctor în farmacie, conf. universitar*



Livia UNCU
" 20 " februarie 2019

*Doctorand,
Catedra de chimie farmaceutică și
toxicologică*



Elena DONICI
" 20 " februarie 2019

Anexa 21. Proiect de Monografie farmaceutică a unguentului combinat cu conținut de izohidrafural, metiluracil și benzocaină

PROIECT DE MONOGRAFIE FARMACEUTICĂ

UNGUENTUM IZOFURAL MB

MF MD-08/

Unguent Izofural MB

Se pune în aplicare prima dată

Pusă în aplicare din

" ____ " _____ 20__

Valabilă până la

" ____ " _____ 20__

Prezenta Monografie Farmaceutică reglementează calitatea medicamentului Unguent Izofural MB (combinație dintre substanțele active: izohidrafural, metiluracil și benzocaină), utilizat în calitate de preparat medicamentos pentru uz extern.

Componența:

Denumirea materiei prime	Cantitatea, g	Condiții de calitate
Izohidrafural	0,1	MFT MD-08/1005-10.08
Metiluracil	4,0	Ph. Eur. ed. 9.0
Benzocaină	1,0	Ph. Eur. ed. 9.0
Polietilenglicol 400	75,92	Ph. Eur. ed. 9.0
Polietilenglicol 1500	18,98	Ph. Eur. ed. 9.0
TOTAL	100,0 g	

Ediție oficială

Reproducerea interzisă

SPECIFICAȚIE
pentru produsul farmaceutic
Unguent Izofural MB

<i>Caracteristici</i>	<i>Metode de analiză</i>	<i>Criterii de acceptare</i>
Descriere	Organoleptic	Unguent omogen, de culoare galben-deschis, fără miros.
Identificare Izohidrafural, metiluracil și benzocaină	1.HPLC (<i>Ph. Eur. 2.2.29 ed. 9.0</i>) 2.Reacții chimice: 2.1.pentru izohidrafural: a) cu soluție de hidroxid de sodiu 0,1 mol/l; b) cu dimetilformamidă; 2.2.pentru metiluracil: a) cu soluție de nitrat de argint în mediul bazic. 2.3.pentru benzocaină a) formarea azocolorantului; b) cu cloramina	1.Pe cromatogramele soluțiilor probă, obținute în compartimentul “Dozare”, valorile timpului de retenție ale picurilor de izohidrafural, metiluracil și benzocaină trebuie să corespundă valorilor timpului de retenție ale picurilor corespunzătoare pe cromatogramele soluțiilor standard. 2.1. a) Formează o colorație roșie-oranjă. b) Formează o colorație galben-brună. c) Formează o colorație roșie. 2.2. a) Apare un precipitat gelatinos. 2.3. a) Formează o colorație oranjă. b) Apare o colorație oranjă.
Omogenitate	<i>FR ed. X</i>	Nu trebuie să prezinte picături sau aglomerări de particule.
pH	<i>FR ed. X</i>	Să fie cuprins între 4,5 și 8,5.
Masa totală pe recipient	<i>FR ed. X</i>	±5%
Contaminare microbiană	<i>Ph. Eur.5.1.4, 2.6.1, ed. 9.0</i>	Categoria 1.
Dozare - izohidrafural - metiluracil - benzocaină	HPLC (<i>Ph. Eur. 2.2.29, ed. 9.0</i>)	Izohidrafural: cel puțin 0,099% și cel mult 0,103%; Metiluracil: cel puțin 3,98% și cel mult 4,05%; Benzocaină: cel puțin 0,99% și cel mult 1,10%.
Ambalare		Câte 15 g în tuburi sterile, închise etanș.
Depozitare		La loc uscat, ferit de lumină, la temperatura cel mult 25°C.
Transportare		Conform GOST 17768-90
Termen de valabilitate		2 ani
Grupa farmacoterapeutică și codul ATC		D06B X – Alte chimioterapice; D03A X – Alte cicatrizante; D04A B – Anestezice locale pentru uz topic.

Descriere. Unguent omogen, de culoare galben-deschis, fără miros.

Identificare.

1. HPLC. Pe cromatogramele soluțiilor probă, obținute în compartimentul “Dozare”, valorile timpului de retenție ale picurilor de izohidrafural, metiluracil și benzocaină trebuie să corespundă valorilor timpului de retenție ale picurilor corespunzătoare pe cromatogramele soluțiilor standard.

2. Reacții chimice:

Extracția pentru izohidrafural și metiluracil. 0,1 g unguent combinat (masă exactă) se dizolvă în 10 ml apă purificată la încălzire, până la topirea excipientului. După răcire se separă stratul de apos.

2.1. Pentru izohidrafural:

a) *reacția cu hidroxid de sodiu.* La 2 ml extract se adaugă 1 ml soluție de hidroxid de sodiu 0,1 mol/l. Apare o colorație roșie-oranjă.

b) *reacția cu dimetilformamidă.* La 2 ml extract se adaugă 1 ml dimetilformamidă. Apare o colorație galben-brună.

2.2. Pentru metiluracil:

a) *reacția cu nitrat de argint în mediul bazic.* La 1 ml extract se adaugă 2-3 picături soluție de timolftaleină și soluție de hidroxid de sodiu 0,1 mol/l cu picătura până la apariția unei colorații albastre. Apoi se adaugă 0,5 ml soluție nitrat de argint. Apare un precipitat gelatinos.

Extracția pentru benzocaină. 0,1 g unguent combinat (masă exactă) se dizolvă în 5 ml apă purificată, la care se adaugă 0,5 ml soluție acid clorhidric 10% și se încălzește până la topirea excipientului. După răcire se separă stratul de apos.

2.3. Pentru benzocaină:

a) *reacția de formare a azocolorantului.* La 1 ml extract se adaugă 2-3 picături soluție nitrit de sodiu 0,1 mol/l și se adaugă la 2 ml soluție alcalină de β-naftol. Apare o colorație oranjă.

b) *reacția cu cloramina.* La 1 ml extract se adaugă 1 ml soluție cloramină. Peste 1 minut se adaugă 2 ml eter și se agită. Stratul de eter se colorează în oranj.

Omogenitate. Unguentul întins în strat subțire pe o lamă de sticlă și examinat cu lupa (4,5X) nu trebuie să prezinte picături sau aglomerări de particule.

pH. Trebuie să fie cuprins între 4,5 și 8,5. Se determină potențiometric, pentru extractul obținut în compartimentul “Identificare”.

Masa totală pe recipient. Se determină prin cântărirea individuală a conținutului din zece recipiente. Față de masa declarată pe recipient se admit abaterile procentuale de ±5% (10 g până la 25 g).

Contaminare microbiană. Se efectuează conform *Ph. Eur. 5.1.4, 2.6.1, ed. 9.0*, aplicând metoda de filtrare prin membrană. 1 g unguent se dizolvă în 100 ml *izopropil miristat*. Nu se admite creșterea microorganismelor.

Dozare. HPLC.

Prepararea soluției probă. Circa 1,0 g (masă exactă) de unguent se transferă într-o ceașcă de porțelan, la care se adaugă 10 ml de fază mobilă și se încălzește la 40°C până la topirea unguentului. Proba se răcește la temperatura camerei și se filtrează prin filtru de membrană (0,45 μm). Filtratul obținut se transferă într-un balon cotat de 50 ml. Extracția se repetă de două ori cu câte 20 ml fază mobilă. Probele obținute se adaugă la prima extracție și se completează până la marcaj cu fază mobilă. 5 ml soluție obținută se trece într-un balon cotat cu capacitatea de 10 ml și se completează până la cotă cu fază mobilă.

Prepararea soluției standard de izohidrafural. 10 mg (masă exactă) standard de lucru de izohidrafural se transferă într-un balon cotat de 100 ml. Se adaugă aproximativ 30 ml de fază mobilă și se agită până la dizolvare. Apoi se aduce până la cotă cu fază mobilă. 1 ml de soluție obținută se transferă într-un balon cotat de 10 ml și se completează până la cotă cu fază mobilă.

Prepararea soluției standard de metiluracil. 40 mg (masă exactă) standard de lucru de metiluracil se transferă într-un balon cotat de 100 ml. Se adaugă aproximativ 30 ml de fază mobilă și se agită până la dizolvare. Apoi se aduce până la cotă cu fază mobilă. 1 ml de soluție obținută se transferă într-un balon cotat de 10 ml și se completează până la cotă cu fază mobilă.

Prepararea soluției standard de benzocaină: 10 mg (masă exactă) standard de lucru de benzocaină se transferă într-un balon cotat de 100 ml. Se adăugă aproximativ 30 ml de fază mobilă și se agită până la dizolvare. Apoi se aduce până la cotă cu fază mobilă. 1 ml de soluție obținută se transferă într-un balon cotat de 10 ml și se completează până la cotă cu fază mobilă.

Condițiile analizei cromatografice:

- faza staționară: Coloana cromatografică Kromasil 100 C18, cu dimensiunile particulelor 2,6 μm, lungimea 300 mm și diametrul intern 5,0 mm; temperatura 30°C;
- faza mobilă: metanol:apă deionizată în raport de 25:75. Debitul fazei mobile: 0,4 ml/min;
- detecția în UV la lungimea de undă 260 nm.

Verificarea utilității sistemului cromatografic. Înainte de efectuarea analizei coloana cromatografică se echilibrează cu faza mobilă.

Câte 10 μl soluție standard se injectează în cromatograf, înregistrând cel puțin 5 cromatograme în condițiile descrise mai sus. Apoi în aceleași condiții se înregistrează 2-3 cromatograme a soluției probă.

Sistemul cromatografic se consideră util, dacă se îndeplinesc următoarele cerințe:

- a. pe cromatograme se regăsesc picurile de izohidrafural, metiluracil și benzocaină;
- b. rezoluția dintre picurile de metiluracil și izohidrafural trebuie să fie cel puțin 2,0;
- c. rezoluția dintre picurile de izohidrafural și benzocaină trebuie să fie cel puțin 2,0;
- d. eficiența sistemului cromatografic, calculată pentru picurile de izohidrafural, metiluracil și benzocaină trebuie să fie cel puțin 2000 talere teoretice;
- e. factorul de asimetrie pentru picurile de izohidrafural, metiluracil și benzocaină, calculat la 0,05 de înălțime, trebuie să se afle în intervalul 0,8 – 1,5;
- f. coeficientul de variație a ariei picurilor de izohidrafural, metiluracil și benzocaină pe cromatogramele soluției standard trebuie să fie cel mult 2,5%.

Modul de lucru. Câte 10 μl probă de analizat și soluție standard se injectează consecutiv în sistemul cromatografic, obținând cel puțin 3 cromatograme pentru fiecare soluție în condițiile descrise mai sus.

Conținutul de izohidrafural se determină conform formulei:

$$X = \frac{S_{pr} \cdot m_{st} \cdot 50 \cdot 10}{S_{st} \cdot m_{pr} \cdot 100 \cdot 10 \cdot 5} \cdot P,$$

în care:

X – conținutul cantitativ de izohidrafural în unguent, g;

S_{pr} – valoarea medie a ariei picului de izohidrafural pe cromatogramele soluției probă;

S_{st} – valoarea medie a ariei picului de izohidrafural pe cromatogramele soluției standard;

m_{st} – masa substanței de referință izohidrafural, luată în lucru, g;

m_{pr} – masa probei de analizat, luată în lucru, g;

P – masa totală a unguentului, g.

Conținutul izohidrafuralului în unguent trebuie să fie cel puțin 0,099% și cel mult 0,103%.

Conținutul de metiluracil se determină conform formulei:

$$X = \frac{S_{pr} \cdot m_{st} \cdot 50 \cdot 10}{S_{st} \cdot m_{pr} \cdot 100 \cdot 10 \cdot 5} \cdot P,$$

în care:

X – conținutul cantitativ de metiluracil în unguent, g;

S_{pr} – valoarea medie a ariei picului de metiluracil pe cromatogramele soluției probă;

S_{st} – valoarea medie a ariei picului de metiluracil pe cromatogramele soluției standard;

m_{st} – masa substanței de referință metiluracil, luată în lucru, g;

m_{pr} – masa probei de analizat, luată în lucru, g;

P – masa totală a unguentului, g.

Conținutul metiluracilului în unguent trebuie să fie cel puțin cel puțin 3,98% și cel mult 4,05%.

Conținutul de benzocaină se determină conform formulei:

$$X = \frac{S_{pr} \cdot m_{st} \cdot 50 \cdot 10}{S_{st} \cdot m_{pr} \cdot 100 \cdot 10 \cdot 5} \cdot P,$$

în care:

X – conținutul cantitativ de benzocaină în unguent, g;

S_{pr} – valoarea medie a ariei picului de benzocaină pe cromatogramele soluției probă;

S_{st} – valoarea medie a ariei picului de benzocaină pe cromatogramele soluției standard;

m_{st} – masa substanței de referință benzocaină, luată în lucru, g;

m_{pr} – masa probei de analizat, luată în lucru, g;

P – masa totală a unguentului, g.

Conținutul benzocainei în unguent trebuie să fie cel puțin 0,99% și cel mult 1,10%.

Ambalare. Câte 15 g produs în tuburi din aluminiu, sterile, închise etanș.

Marcare. Pe eticheta recipientului se indică următoarele specificații în limba română și/sau rusă:

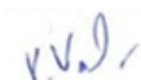
- denumirea firmei producătoare, sigla și țara;
- adresa producătorului;
- denumirea produsului;
- conținutul ambalajului (masa);
- condițiile de conservare;
- seria, ce include data de fabricare;
- termenul de valabilitate;
- numărul de autorizare.

Condiții de depozitare. La loc uscat, ferit de lumină la temperatura sub 25°C.

Termen de valabilitate. 2 ani.

Grupa farmacoterapeutică și codul ATC. D06B X – Alte chimioterapice; D03A X – Alte cicatrizante; D04A B – Anestezice locale pentru uz topic.

Director Centrul Științific al
Medicamentului
doctor hab. în farmacie, prof.
universitar



Vladimir VALICA
" 20 " februarie 2019

Șef Laborator de analiză, standardizare
și control al medicamentelor, CȘM,
doctor în farmacie, conf. universitar



Livia UNCULEA
" 20 " februarie 2019

Doctorand,
Catedra de chimie farmaceutică și
toxicologică



Elena DONICI
" 20 " februarie 2019

Anexa 22. Proiect de Monografie farmaceutică a unguentului combinat cu conținut de izohidrafural și fluocinolon acetamid

PROIECT DE MONOGRAFIE FARMACOTEICĂ

UNGUENTUM IZOFURAL F

MF MD-08/

Unguent Izofural F

Se pune în aplicare prima dată

Pusă în aplicare din

" ____ " _____ 20__

Valabilă până la

" ____ " _____ 20__

Prezenta Monografie Farmaceutică reglementează calitatea unguentului combinat Izofural F (combinație dintre substanțele active: izohidrafural și fluocinolon acetamid), utilizat în calitate de preparat medicamentos pentru uz extern.

Componența:

Denumirea materiei prime	Cantitatea, g	Condiții de calitate
Izohidrafural	0,1	MFT MD-08/1005-10.08
Fluocinolon acetamid	0,025	Ph. Eur. ed. 9.0
Propilenglicol	5,0	Ph. Eur. ed. 9.0
Alcool cetostearilic	3,0	Ph. Eur. ed. 9.0
Vazelină	91,875	Ph. Eur. ed. 9.0
TOTAL	100,0 g	

Ediție oficială

Reproducerea interzisă

SPECIFICAȚIE
pentru produsul farmaceutic
Unguent Izofural F

<i>Caracteristici</i>	<i>Metode de analiză</i>	<i>Criterii de acceptare</i>
Descriere	Organoleptic	Unguent omogen, de culoare galben-deschis, fără miros.
Identificare Izohidrafural și fluocinolon acetonid	1.HPLC (<i>Ph. Eur. 2.2.29, ed. 9.0</i>) 2. Spectrofotometrie UV-VIS (<i>Ph. Eur. 2.2.25 ed. 9.0</i>) 3.Reacții chimice: 3.1.pentru izohidrafural: a) cu soluție de hidroxid de sodiu 0,1 mol/l; b) cu dimetilformamidă; 3.2.pentru fluocinolon acetonid: a)reacția cu reactivul Fehling (soluția apoasă de sulfat de cupru și soluția apoasă de tartrat dublu de sodiu și potasiu); b)reacția cu fenilhidrazina.	1. Pe cromatogramele soluțiilor probă, obținute în compartimentul “Dozare”, valorile timpului de retenție ale picurilor de izohidrafural și fluocinolon acetonid trebuie să corespundă valorilor timpului de retenție ale picurilor corespunzătoare pe cromatogramele soluțiilor standard. 2. Spectrele UV-VIS ale soluțiilor probe obținute în compartimentul “Dozare”, trebuie să conțină aceleași maxime de absorbție precum în cazul soluțiilor standard de substanțe medicamentoase. 3. 3.1. a) formează o colorație roșu-oranj. b) formează o colorație galben-brună. 3.2. a) apare un precipitat roșu. b) apare o colorație galbenă.
Omogenitate	<i>FR ed. X</i>	Nu trebuie să prezinte picături sau aglomerări de particule.
pH	<i>FR ed. X</i>	Să fie cuprins între 4,5 și 8,5.
Masa totală pe recipient	<i>FR ed. X</i>	±5%
Contaminare microbiană	<i>Ph. Eur.5.1.4, 2.6.12, 2.6.13, ed. 9.0.</i>	Cel mult 10 ² microorganisme aerobe și fungi în 1 g preparat. În 1 g preparat nu se admite prezența <i>Pseudomonas aeruginosa</i> . În 1 g preparat nu se admite prezența <i>Staphylococcus aureus</i> .
Dozare	HPLC;	Izohidrafural: cel puțin 0,099 g și

- izohidrafural - fluocinolon acetonid	Spectrofotometrie UV-VIS.	cel mult 0,105 g; Fluocinolon acetonid: cel puțin 0,0248% și cel mult 0,0251%.
Ambalare		Câte 15 g în tuburi sterile, închise etanș.
Depozitare		La loc uscat, ferit de lumină, la temperatura cel mult 25°C.
Termen de valabilitate		2 ani
Grupa farmacoterapeutică și codul ATC		D06B X – Alte chimioterapice; D07X B – Corticosteroizi cu potență moderată, alte combinații.

Descriere. Unguent omogen, de culoare galben-deschis, fără miros.

Identificare. Se efectuează obligatoriu testele 1 și 2 sau 1 și 3.

1. HPLC. Pe cromatogramele soluțiilor probă, obținute în compartimentul “Dozare”, valorile timpului de retenție ale picurilor de izohidrafural și fluocinolon acetonid trebuie să corespundă valorilor timpului de retenție ale picurilor corespunzătoare pe cromatogramele soluțiilor standard.

2. Spectrofotometrie. Spectrele UV-VIS ale soluțiilor probe obținute în compartimentul “Dozare”, trebuie să conțină aceleași maxime de absorbție precum în cazul soluțiilor standard de substanțe medicamentoase.

3. Reacții chimice:

Extracție pentru izohidrafural. 0,1 g unguent combinat (masă exactă) se dizolvă în 10 ml apă purificată la încălzire, până la topirea excipientului. După răcire se separă stratul de apos.

3.1. Pentru izohidrafural:

- reacția cu hidroxid de sodiu.* La 5 ml extract se adaugă 5 ml soluție de hidroxid de sodiu 0,1 mol/l și 5 ml apă purificată. Apare o colorație roșu-oranj.
- reacția cu dimetilformamidă.* La 5 ml extract se adaugă 5 ml dimetilformamidă. Apare o colorație galben-brună.
- reacția cu soluție alcoolică de hidroxid de potasiu și dimetilformamidă.* La 5 ml extract se adaugă 3 ml dimetilformamidă și 2 picături soluție hidroxid de potasiu 0,1 mol/l în etanol.

Extracție pentru fluocinolon acetonid. 2,0 g unguent combinat (masă exactă) se dizolvă în 5 ml apă purificată la încălzire, până la topirea excipientului. După răcire se separă stratul de apos.

3.2. Pentru fluocinolon acetonid:

- reacția cu reactivul Fehling (soluția apoasă de sulfat de cupru și soluția apoasă de tartrat dublu de sodiu și potasiu).* La 2 ml extract se adaugă 1 ml metanol, 1 ml reactiv Fehling și se încălzește. Apare un precipitat roșu.
- reacția cu fenilhidrazina.* La 2 ml extract se adaugă 1 ml metanol, 5 ml sulfat de fenilhidrazină și se încălzește. Peste circa 5 minute apare o colorație galbenă.

Omogenitate. Unguentul întins în strat subțire pe o lamă de sticlă și examinat cu lupa (4,5X) nu trebuie să prezinte picături sau aglomerări de particule.

pH. Trebuie să fie cuprins între 4,5 și 8,5. Se determină potențiometric, pentru extractul obținut în compartimentul “Identificare”.

Masa totală pe recipient. Se determină prin cântărirea individuală a conținutului din zece recipiente. Față de masa declarată pe recipient se admit abaterile procentuale de $\pm 5\%$ (10 g până la 25 g).

Dozare. Se efectuează prin metoda 1 sau 2.

1. HPLC. *Prepararea soluției probă:* Circa 2,5 g (masă exactă) de unguent se transferă într-o ceașcă de porțelan, la care se adaugă 10 ml de fază mobilă și se încălzește la 60°C până la topirea unguentului. Proba se răcește la temperatura camerei și se filtrează prin filtru de

membrană (0,45 µm). Filtratul obținut se transferă într-un balon cotate de 25 ml. Extracția se repetă de trei ori cu câte 5 ml fază mobilă. Probele obținute se adaugă la prima extracție și se completează până la marcat cu fază mobilă.

Prepararea soluției standard de izohidrafural: 50 mg (masă exactă) standard de lucru de izohidrafural se transferă într-un balon cotate de 50 ml. Se adaugă aproximativ 20 ml de fază mobilă și se agită până la dizolvare. Apoi se aduce până la cotă cu fază mobilă. 1 ml de soluție obținută se transferă într-un balon cotate de 10 ml și se completează până la cotă cu fază mobilă.

Prepararea soluției standard de fluocinolon acetamid: 25 mg (masă exactă) standard de lucru de fluocinolon acetamid se transferă într-un balon cotate de 50 ml. Se adaugă aproximativ 20 ml de fază mobilă și se agită până la dizolvare. Apoi se aduce până la cotă cu fază mobilă. 0,5 ml de soluție obținută se transferă într-un balon cotate de 10 ml și se completează până la cotă cu fază mobilă.

Condițiile analizei cromatografice:

- faza staționară: Coloana cromatografică Nucleosil C18, cu dimensiunile particulelor 10 µm, lungimea 150 mm și diametrul intern 4,0 mm; temperatura 30°C;
- faza mobilă: acetonitril:apă deionizată în raport de 40:60. Debitul fazei mobile: 0,4 ml/min;
- detecția în UV la lungimea de undă 260 nm.

Verificarea utilității sistemului cromatografic. Înainte de efectuarea analizei coloana cromatografică se echilibrează cu faza mobilă. Câte 10 µl soluție standard se injectează în cromatograf, înregistrând cel puțin 5 cromatograme în condițiile descrise mai sus. Apoi în aceleași condiții se înregistrează 2-3 cromatograme a soluției probă.

Sistemul cromatografic se consideră util, dacă se îndeplinesc următoarele cerințe:

- a. pe cromatograme se regăsesc picurile de izohidrafural și fluocinolon acetamid;
- b. rezoluția dintre picurile de metiluracil și fluocinolon acetamid trebuie să fie cel puțin 2,0;
- c. eficiența sistemului cromatografic, calculată pentru picurile de izohidrafural și fluocinolon acetamid trebuie să fie cel puțin 2000 talere teoretice;
- d. factorul de asimetrie pentru picurile de izohidrafural și fluocinolon acetamid, calculat la 0,05 de înălțime, trebuie să se afle în intervalul 0,8 – 1,5;
- e. coeficientul de variație a ariei picurilor de izohidrafural și fluocinolon acetamid pe cromatogramele soluției standard trebuie să fie cel mult 2,5%.

Modul de lucru. Câte 10 µl probă de analizat și soluție standard se injectează consecutiv în sistemul cromatografic, obținând cel puțin 3 cromatograme pentru fiecare soluție în condițiile descrise mai sus.

Conținutul de izohidrafural se determină conform formulei:

$$X = \frac{S_{pr} \cdot m_{st} \cdot 25}{S_{st} \cdot m_{pr} \cdot 50 \cdot 10} \cdot P,$$

în care:

X – conținutul cantitativ de izohidrafural în unguent, g;

S_{pr} – valoarea medie a ariei picului de izohidrafural pe cromatogramele soluției probă;

S_{st} – valoarea medie a ariei picului de izohidrafural pe cromatogramele soluției standard;

m_{st} – masa substanței de referință izohidrafural, luată în lucru, g;

m_{pr} – masa probei de analizat, luată în lucru, g;

P – masa totală a unguentului, g.

Conținutul izohidrafuralului în unguent trebuie să fie cel puțin 0,099% și cel mult 0,105%.

Conținutul de fluocinolon acetamid se determină conform formulei:

$$X = \frac{S_{pr} \cdot m_{st} \cdot 0,5 \cdot 25}{S_{st} \cdot m_{pr} \cdot 50 \cdot 10} \cdot P,$$

în care:

X – conținutul cantitativ de fluocinolon acetamid în unguent, g;

S_{pr} – valoarea medie a ariei picului de fluocinolon acetamid pe cromatogramele soluției probă;

S_{st} – valoarea medie a ariei picului de fluocinolon acetamid pe cromatogramele soluției standard;

m_{st} – masa substanței de referință fluocinolon acetamid, luată în lucru, g;

m_{pr} – masa probei de analizat, luată în lucru, g;

P – masa totală a unguentului, g.

Conținutul fluocinolonului acetamid în unguent trebuie să fie cel puțin cel puțin 0,0248% și cel mult 0,0251%.

2. Spectrofotometrie UV-VIS. *Tehnica de extracție.* 2,0 g unguent (masă exactă) se dizolvă în 10 ml de apă purificată la încălzire până la topirea excipientului. După răcire se separă stratul apos într-un balon cotat de 25 ml. Extracția se repetă de 3 ori cu câte 5 ml de apă purificată, unind fracțiunile. Se aduce la cotă cu același solvent. În rezultat s-a obținut o soluție transparentă, de culoare gălbuie.

Pregătirea probei de izohidrafural. 1 ml de extract se plasează într-un balon cotat de 10 ml și se aduce la cotă cu apă purificată.

Pregătirea probei de fluocinolon acetamid. 5 ml de extract se transferă într-un balon cotat de 10 ml și se aduce la cotă cu apă purificată.

Pregătirea soluției standard de izohidrafural. 8 ml de soluție standard stoc de izohidrafural se transferă într-un balon cotat de 100 ml și se aduce la semn cu apă purificată.

Pregătirea soluției standard de fluocinolon acetamid. 10 ml de soluție standard stoc de fluocinolon acetamid se transferă într-un vas cotat cu capacitatea de 100 ml și se aduce la cotă cu apă purificată.

Conținutul cantitativ de izohidrafural în unguentul combinat se calculează cu ajutorul formulei:

$$X = \frac{A_x \cdot 25 \cdot 10 \cdot m_{st} \cdot 8}{A_{st} \cdot m_{ung} \cdot 1 \cdot 100 \cdot 100} \cdot P,$$

în care:

X – conținutul cantitativ de izohidrafural în unguent, g;

A_x – absorbanta soluției probă de izohidrafural;

A_{st} – absorbanta soluției standard de izohidrafural;

m_{ung} – masa unguentului luată pentru extracție, g;

m_{st} – masa substanței standard de izohidrafural, g;

P – masa totală a unguentului, g.

Conținutul cantitativ de fluocinolon acetamid în unguentul combinat se calculează folosind formula:

$$X = \frac{A_x \cdot 25 \cdot 10 \cdot m_{st} \cdot 10}{A_{st} \cdot m_{ung} \cdot 5 \cdot 100 \cdot 100} \cdot P,$$

în care:

X – conținutul cantitativ de fluocinolon acetamid în unguent, g;

A_x – absorbanta soluției probă de fluocinolon acetamid;

A_{st} – absorbanta soluției standard de fluocinolon acetamid;

m_{ung} – masa unguentului luată pentru extracție, g;

m_{st} – masa substanței standard de fluocinolon acetamid, g;

P – masa totală a unguentului, g;

Ambalare. Câte 15 g produs în tuburi din aluminiu, închise etanș.

Marcare. Pe eticheta recipientului se indică următoarele specificații în limba română și/sau rusă:

- denumirea firmei producătoare, sigla și țara;
- adresa producătorului;
- denumirea produsului;
- conținutul ambalajului (masa);
- condițiile de conservare;
- seria, ce include data de fabricare;
- termenul de valabilitate;
- numărul de autorizare.

Condiții de depozitare. La loc uscat, ferit de lumină la temperatura sub 25°C.

Termen de valabilitate. 2 ani.

Grupa farmacoterapeutică și codul ATC. D06B X – Alte chimioterapice; D07X B – Corticosteroizi cu potență moderată, alte combinații.

*Director Centrul Științific al
Medicamentului
doctor hab. în farmacie, prof.
universitar*



Vladimir VALICA
" 20 " februarie 2019

*Șef Laborator de analiză, standardizare
și control al medicamentelor, CȘM,
doctor în farmacie, conf. universitar*



Livia UNCUCU
" 20 " februarie 2019

*Doctorand,
Catedra de chimie farmaceutică și
toxicologică*



Elena DONICI
" 20 " februarie 2019

Anexa 23. Diplomă de gradul II



Anexa 24. Diplomă de gradul III



Anexa 25. Actul nr. 1 din 20.02.2019 de implementare a inovației „Medicamentul combinat nou: Unguent Izofural M pentru tratamentul plăgilor infectate”



**UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„NICOLAE TESTEMIȚANU”**

“APROB”

**Prorector pentru activitate științifică
USMF „Nicolae Testemițanu”,
dr. hab. șt. med., prof. univ.
Gheorghe ROJNOVEANU**



20 februarie 2019

ACTUL nr. 1

**DE IMPLEMENTARE A INOVAȚIEI
(în procesul științifico-practic)**

1. Denumirea ofertei pentru implementare: „Medicamentul combinat nou: Unguent Izofural M pentru tratamentul plăgilor infectate”.

2. Autorii: Uncu Livia, dr. șt. farm., conf. univ., Prisacari Viorel, dr. hab. șt. med., prof. univ., Valica Vladimir, dr. hab. șt. farm., prof. univ., Vislouh Oxana, cercetător științific, Uncu Andrei, asistent univ., Donici Elena, asistent univ.

3. Numărul inovației: Nr. 5677 din 20 februarie 2019

4. Unde și când a fost implementat: în activitatea științifico-practică a Centrului Farmaceutic Universitar “Vasile Procopișin”, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie “Nicolae Testemițanu”, 2017-2018 aa.

5. Eficacitatea implementării: Tratamentul plăgilor este unul complex și de durată din motiv că, plaga crează condiții prielnice dezvoltării agenților bacterieni și ușor se infectează, fiind necesar administrarea substanțelor antibacteriene, față de antibiotice instalându-se ușor rezistența. Totodată, în faza de formare a țesutului granulos și epitelial, se necesită utilizarea substanțelor regenerante, dar și a antibacterienelor, care ar reduce reinfecția. Unguentul combinat Izofural M vine să soluționeze acestea, prin combinarea izohidrafuralului și metiluracilului într-un unguent. Elaborarea unguentului combinat Izofural M contribuie la mărirea complianței tratamentului plăgilor infectate. Eficiența rezultatelor obținute în cadrul experimentelor au fost expuse la diverse conferințe științifico-practice în perioada anilor 2016-2018.

Prezenta inovație este implementată conform descrierii în cerere.

Farmacist diriginte

**Centrul Farmaceutic Universitar “Vasile Procopișin”
Universitatea de Stat de Medicină și
Farmacie “Nicolae Testemițanu”**



Haralambie GOLOVEI

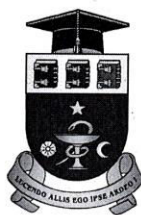
**Șef departament știință,
dr. hab. șt. med., prof. univ.**



Ghenadie CUROCICHIN

Semnătura	<i>Ghenadie</i>
Confirm	<i>Curocichin</i>
Serviciul resurse umane USMF	

Anexa 26. Actul nr. 2 din 20.02.2019 de implementare a inovației „Medicamentul combinat nou: Unguent Izofural MB pentru tratamentul arsurilor infectate”



**UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„NICOLAE TESTEMIȚANU”**

“APROB”

**Prorector pentru activitate științifică
USMF „Nicolae Testemițanu”,
dr. hab. șt. med., prof. univ.
Gheorghe ROJNOVEANU**



20 februarie 2019

ACTUL nr. 2

**DE IMPLEMENTARE A INOVAȚIEI
(în procesul științifico-practic)**

1. **Denumirea ofertei pentru implementare:** „Medicamentul combinat nou: Unguent Izofural MB pentru tratamentul arsurilor infectate”.

2. **Autorii:** Uncu Livia, dr. șt. farm., conf. univ., Prisacari Viorel, dr. hab. șt. med., prof. univ., Valica Vladimir, dr. hab. șt. farm., prof. univ., Vişlough Oxana, cercetător științific, Uncu Andrei, asistent univ., Donici Elena, asistent univ.

3. **Numărul inovației:** Nr. 5678 din 20 februarie 2019

4. **Unde și când a fost implementat:** în activitatea științifico-practică a Centrului Farmaceutic Universitar “Vasile Procopișin”, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie “Nicolae Testemițanu”, 2017-2018 aa.

5. **Eficacitatea implementării:** tratamentul arsurilor este unul complex și de durată din motiv că, crează condiții prielnice dezvoltării agenților bacterieni și ușor se infectează, fiind necesar administrarea substanțelor antibacteriene, față de antibiotice instalându-se ușor rezistența. Totodată, în faza de formare a țesutului granulos și epitelial, se necesită utilizarea substanțelor regenerante, dar și a antibacterienelor, care ar reduce reinfectarea. Pentru a reduce durerea arsurilor de gradul I și II se recurge la administrarea medicamentelor cu efect anestezic local. Unguentul combinat Izofural MB vine să soluționeze acestea prin combinarea izohidrafuralului, benzocainei și metiluracilului într-un unguent. Elaborarea unguentului combinat Izofural MB contribuie la mărirea complianței tratamentului arsurilor infectate. Eficiența rezultatelor obținute în cadrul experimentelor au fost expuse la diverse conferințe științifico-practice în perioada anilor 2016-2018.

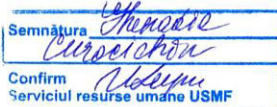
Prezenta inovație este implementată conform descrierii în cerere.

Farmacist diriginte

**Centrul Farmaceutic Universitar “Vasile Procopișin”
Universitatea de Stat de Medicină și
Farmacie “Nicolae Testemițanu”**

Haralambie GOLOVEI

**Șef departament știință,
dr. hab. șt. med., prof. univ.**



Ghenadie CUROCICHIN

Anexa 27. Actul nr. 3 din 20.02.2019 de implementare a inovației „Medicamentul combinat nou: Unguent Izofural F pentru tratamentul unor afecțiuni dermatologice infectate de origine inflamatorie”



**UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„NICOLAE TESTEMIȚANU”**



“APROB”
Prorector pentru activitate științifică
USMF „Nicolae Testemițanu”,
dr. hab. șt. med., prof. univ.
Gheorghe ROJNOVEANU

20 februarie 2019

ACTUL nr. 3
DE IMPLEMENTARE A INOVAȚIEI
(în procesul științifico-practic)

- Denumirea ofertei pentru implementare:** „Medicamentul combinat nou: Unguent Izofural F pentru tratamentul unor afecțiuni dermatologice infectate de origine inflamatorie”.
- Autorii:** Donici Elena, asistent univ., Prisacari Viorel, dr. hab. șt. med., prof. univ., Valica Vladimir, dr. hab. șt. farm., prof. univ., Vişlough Oxana, cercetător științific, Uncu Andrei, asistent univ., Uncu Livia, dr. șt. farm., conf. univ.
- Numărul inovației:** Nr. 5679 din 20 februarie 2019.
- Unde și când a fost implementat:** în activitatea științifico-practică a Centrului Farmaceutic Universitar “Vasile Procopișin”, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie “Nicolae Testemițanu”, 2017-2018 aa.
- Eficacitatea implementării:** Unguentul combinat Izofural F prezintă un medicament elaborat pentru uz extern, în tratamentul psoriazisului și dermatitelor infectate cu germeni bacterieni. Dacă în monoterapie se necesită administrarea mai multor medicamente, care vor avea efecte diferite în dependență de faza de evoluție a maladiei, în terapia combinată se va utiliza un singur medicament în toate etapele. Elaborarea unguentului combinat Izofural F contribuie la mărirea complianței tratamentului psoriazisului și dermatitelor infectate. Eficiența rezultatelor obținute în cadrul experimentelor au fost expuse la diverse conferințe științifico-practice în perioada anilor 2016-2018.

Prezenta inovație este implementată conform descrierii în cerere.

Farmacist diriginte
Centrul Farmaceutic Universitar
“Vasile Procopișin”,
Universitatea de Stat de Medicină și
Farmacie “Nicolae Testemițanu”



Haralambie GOLOVEI

Șef departament știință,
dr. hab. șt. med., prof. univ.



Semnătura *Ghenadie Curocichin*
Confirm
Serviciul resurse umane USMF

Ghenadie CUROCICHIN

Anexa 28. Certificat de inovator nr. 5677 din 20.02.2019 „Medicamentul combinat nou: Unguent Izofural M pentru tratamentul plăgilor infectate”



Anexa 29. Certificat de inovator nr. 5678 din 20.02.2019 „Medicamentul combinat nou: Unguent Izofural MB pentru tratamentul arsurilor infectate”



Anexa 30. Certificat de inovator nr. 5679 din 20.02.2019 „Medicamentul combinat nou: Unguent Izofural F pentru tratamentul unor afecțiuni dermatologice infectate de origine inflamatorie”



Anexa 31. Actul nr. 1 din 29.05.2019 de implementare a inovației „Medicamentul combinat nou: Unguent Izofural M pentru tratamentul plăgilor infectate”



ÎM "FARMACO" SA, MD-2023, Republica Moldova, mun. Chișinău, str. Vadul lui Vodă, nr.2
www.farmaco.md, e-mail: office@farmaco.ro, tel./fax: +373 22 878 220
IDNO: 1003600035059

"APROB"
Director general, ÎM "FARMACO" SA
Sergiu COLȚA
"29" mai 2019

**ACTUL nr. 1
DE IMPLEMENTARE A INOVAȚIEI**

1. **Denumirea propunerii pentru implementare:** „Medicamentul combinat nou: “Unguent Izofural M” pentru tratamentul plăgilor infectate”.
2. **Autorii:** Uncu Livia, dr. șt. farm., conf. univ., Prisacari Viorel, dr. hab. șt. med., prof. univ., Valica Vladimir, dr. hab. șt. farm., prof. univ., Vîslouh Oxana, cercetător științific, Uncu Andrei, asistent univ., Donici Elena, asistent univ.
3. **Unde și când a fost implementat:** Departament Managementul Calității a S.A. Farmaco, 2017-2018 aa.
4. **Eficacitatea implementării:** Tratamentul plăgilor este unul complex și de durată din motiv că, plaga crează condiții prielnice dezvoltării agenților bacterieni și ușor se infectează, fiind necesar administrarea substanțelor antibacteriene, față de antibiotice instalându-se ușor rezistența. Totodată, în faza de formare a țesutului granulos și epitelial, se necesită utilizarea substanțelor regenerante, dar și a antibacterienelor, care ar reduce reinfectarea. Unguentul combinat Izofural M vine să soluționeze acestea, prin combinarea izohidrafuralului și metiluracilului într-un unguent. Elaborarea unguentului combinat Izofural M contribuie la mărirea complianței tratamentului plăgilor infectate. Eficiența rezultatelor obținute în cadrul experimentelor au fost expuse la diverse conferințe științifico-practice în perioada anilor 2016-2018.
5. **Obiecții/ propuneri:** la etapa implementării obiecții nu sunt.
Prezenta inovație este implementată conform descrierii în cerere.

Șef Departament Managementul Calității

[Signature]
FARMACO
Ceban Andrei

Anexa 32. Actul nr. 2 din 29.05.2019 de implementare a inovației „Medicamentul combinat nou: Unguent Izofural MB pentru tratamentul arsurilor infectate”



ÎM "FARMACO" SA, MD-2023, Republica Moldova, mun. Chișinău, str. Vadul lui Vodă, nr.2
www.farmaco.md, e-mail: office@farmaco.ro, tel./fax: +373 22 878 220
IDNO: 1003600035059

"APROB"
Director general, ÎM "FARMACO" SA
Sergiu COLȚA
"29" mai 2019

**ACTUL nr. 2
DE IMPLEMENTARE A INOVAȚIEI**

1. **Denumirea ofertei pentru implementare:** „Medicamentul combinat nou: „Unguent Izofural MB” pentru tratamentul arsurilor infectate”.
2. **Autorii:** Uncu Livia, dr. șt. farm., conf. univ., Prisacari Viorel, dr. hab. șt. med., prof. univ., Valica Vladimir, dr. hab. șt. farm., prof. univ., Vîslouh Oxana, cercetător științific, Uncu Andrei, asistent univ., Donici Elena, asistent univ.
3. **Unde și când a fost implementat:** Departament Managementul Calității a S.A. Farmaco, 2017-2018 aa.
4. **Eficacitatea implementării:** tratamentul arsurilor este unul complex și de durată din motiv că, crează condiții prielnice dezvoltării agenților bacterieni și ușor se infectează, fiind necesar administrarea substanțelor antibacteriene, față de antibiotice instalându-se ușor rezistența. Totodată, în faza de formare a țesutului granulos și epitelial, se necesită utilizarea substanțelor regenerante, dar și a antibacterienelor, care ar reduce reinfectarea. Pentru a reduce durerea arsurilor de gradul I și II se recurge la administrarea medicamentelor cu efect anestezic local. Unguentul combinat Izofural MB vine să soluționeze acestea prin combinarea izohidrafuralului, benzocainei și metiluracilului într-un unguent. Elaborarea unguentului combinat Izofural MB contribuie la mărirea complianței tratamentului arsurilor infectate. Eficiența rezultatelor obținute în cadrul experimentelor au fost expuse la diverse conferințe științifico-practice în perioada anilor 2016-2018.
5. **Obiecții/ propuneri:** la etapa implementării obiecții nu sunt.
Prezenta inovație este implementată conform descrierii în cerere.

Șef Departament Managementul Calității

Ceban Andrei

Anexa 33. Actul nr. 3 din 29.05.2019 de implementare a inovației „Medicamentul combinat nou: Unguent Izofural F pentru tratamentul unor afecțiuni dermatologice infectate de origine inflamatorie”



ÎM "FARMACO" SA, MD-2023, Republica Moldova, mun. Chișinău, str. Vadul lui Vodă, nr.2
www.farmaco.md, e-mail: office@farmaco.ro, tel./fax: +373 22 878 220
IDNO: 1003600035059

"APROB"
Director general, ÎM "FARMACO" SA
Sergiu COLȚA
29 mai 2019

**ACTUL nr. 3
DE IMPLEMENTARE A INOVAȚIEI**

1. **Denumirea ofertei pentru implementare:** „Medicamentul combinat nou: „Unguent Izofural F” pentru tratamentul unor afecțiuni dermatologice infectate de origine inflamatorie”.
2. **Autorii:** Donici Elena, asistent univ., Prisacari Viorel, dr. hab. șt. med., prof. univ., Valica Vladimir, dr. hab. șt. farm., prof. univ., Vîslouh Oxana, cercetător științific, Uncu Andrei, asistent univ., Uncu Livia, dr. șt. farm., conf. univ.
3. **Unde și când a fost implementat:** Departament Managementul Calității a S.A. Farmaco, 2017-2018 aa.
4. **Eficacitatea implementării:** Unguentul combinat Izofural F prezintă un medicament elaborat pentru uz extern, în tratamentul psoriazisului și dermatitelor infectate cu germeni bacterieni. Dacă în monoterapie se necesită administrarea mai multor medicamente, care vor avea efecte diferite în dependență de faza de evoluție a maladiei, în terapia combinată se va utiliza un singur medicament în toate etapele. Elaborarea unguentului combinat Izofural F contribuie la mărirea complianței tratamentului psoriazisului și dermatitelor infectate. Eficiența rezultatelor obținute în cadrul experimentelor au fost expuse la diverse conferințe științifico-practice în perioada anilor 2016-2018.
5. **Obiecții/ propuneri:** la etapa implementării obiecții nu sunt.

Prezenta inovație este implementată conform descrierii în cerere.

Șef Departament Managementul Calității

[Signature]
FARMACO
Ceban Andrei

Declarația privind asumarea răspunderii

Subsemnatul, declar pe răspundere personală că materialele prezentate în teza de doctorat sunt rezultatul propriilor cercetări și realizări științifice. Conștientizez că, în caz contrar, urmează să suport consecințele în conformitate cu legislația în vigoare.

Numele, prenumele

Donici Elena

Semnătura

Data

CV-ul autorului



Nume și prenume Donici Elena
Cetățenie Republica Moldova
Studii

2005-2010 **Licență** Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie “Nicolae Testemițanu”, specialitatea: Farmacie, calificarea: Farmacist
2010-2012 **Masterat** Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie “Nicolae Testemițanu”, Facultatea Farmacie, specializarea: Farmacie
2013-2018 **Doctorat**, forma cu frecvență redusă, Catedra de chimie farmaceutică și toxicologică, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie “Nicolae Testemițanu”, specialitatea: 316.01 – Farmacie

Stagii

- 08.07.2013 – 26.07.2013 Mobilitate în cadrul programului CEEPUS (Central European Exchange Program for University Studies) CIII-RO-0010-07-1213 – Teaching and Learning Bioanalysis la University of Graz, Institute of Pharmaceutical Sciences/Department of Pharmaceutical Chemistry, Graz, Austria
- 11.03.2014 – 10.04.2014 Mobilitate în cadrul programului CEEPUS (Central European Exchange Program for University Studies) CIII-RO-0010-07-1213 – Teaching and Learning Bioanalysis la University of Zagreb, Faculty of Science, Department of Chemistry, Zagreb, Croația
- 24 – 25 aprilie 2014 Atelier de lucru: “Probleme actuale ale învățământului farmaceutic în Republica Moldova”, Chișinău, Republica Moldova
- 10.11.2017 Workshop “Current Status and Future Perspectives in the Therapy of Skin Cancer Through Nanotechnological Approaches” organizat în cadrul International Mobility Project Romania – Republic of Moldova, PN3-P3-227/20.09.2016-30MB/2016 “Mesoporous Silica as Topical Nanocarriers for Local Therapy of Skin Cancer”
- 19 iunie 2018 Atelier de lucru “Limitele și restricțiile în fabricarea produselor farmaceutice ce țin de proprietatea intelectuală” organizat de către Agenția de Stat pentru Proprietate Intelectuală
- 2–3.11. 2018 Workshop “Writing and Management of International Projects” organized by The Association For Supporting Innovations and Sustainable Development ”Impuls”

Domenii de interes științific

- Analiza și controlul medicamentelor
- Combinații medicamentoase cu doză fixă

Participări la manifestări științifice (naționale și internaționale)

Rezultatele tezei au fost prezentate la 15 manifestări științifice naționale și internaționale

**Lucrări științifice și
științifico-metodice
publicate
Premii, mențiuni,
distincții, titluri onorifice
etc.**

În baza materialelor tezei au fost publicate 23 lucrări științifice, dintre care 8 articole, 4 publicații fiind cu un singur autor.

- **Diplomă de gradul II** pentru comunicarea orală: „Разработка метода количественного определения для анализа комбинированной мази, содержащей Изогидрафурал и Метилурацил” susținut în cadrul Conferinței Științifice Internaționale: „Сучасні теоретичні та практичні аспекти клінічної медицини”, 19-20 aprilie 2012, Odesa, Ucraina.
- **Diplomă de gradul III** pentru posterul: „Utilizarea formelor farmaceutice combinate în tratamentul arsurilor infectate” susținut în cadrul Conferinței Naționale de Farmacie clinică, Ediția a II-a „Provocări ale farmacoterapiei contemporane”, 15-17 iunie, 2017, București, România.
- **3 Certificate de inovator:**
 - ✓ Certificat de inovator nr. 5677 din 20.02.2019 „Medicamentul combinat nou: Unguent Izofural M pentru tratamentul plăgilor infectate”;
 - ✓ Certificat de inovator nr. 5678 din 20.02.2019 „Medicamentul combinat nou: Unguent Izofural MB pentru tratamentul arsurilor infectate”;
 - ✓ Certificat de inovator nr. 5679 din 20.02.2019 „Medicamentul combinat nou: Unguent Izofural F pentru tratamentul unor afecțiuni dermatologice infectate de origine inflamatorie”.

**Cunoașterea limbilor
Date de contact de
serviciu**

Română – maternă, rusă – fluent, engleză – fluent
Adresa: Str. Malina Mică, 66, MD-2020, Chișinău, Republica
Moldova
Telefon: +373 22 205 456, +373 6978 25 98
e-mail: elena.donici@usmf.md