

ARTICOL DE CERCETARE

Elaborarea și validarea metodei spectrofotometrice în ultraviolet și vizibil de dozare a fluocinolonului acetonid dintr-un unguent combinat: studiu experimental

Elena Donici^{1*}

¹Catedra de chimie farmaceutică și toxicologică, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova.

Data primirii manuscrisului: 28.06.2017

Data acceptării spre publicare: 15.09.2017

Autor corespondent:

Elena Donici, asistent universitar

Catedra de chimie farmaceutică și toxicologică

Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”

bd. Ștefan cel Mare și Sfânt, 165, Chișinău, Republica Moldova, MD-2004

e-mail: elena.donici@usmf.md

RESEARCH ARTICLE

Development and validation of spectrophotometric method in ultraviolet and visible of assay of fluocinolone acetonide from a combined ointment: experimental study

Elena Donici^{1*}

¹Chair of pharmaceutical and toxicological chemistry, Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, Republic of Moldova.

Manuscript received on: 28.06.2017

Accepted for publication on: 15.09.2017

Corresponding author:

Elena Donici, assistant professor

Chair of pharmaceutical and toxicological chemistry

Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy

165, Stefan cel Mare si Sfant ave., Chisinau, Republic of Moldova, MD-2004

e-mail: elena.donici@usmf.md

Ce nu este, deocamdată, cunoscut la subiectul abordat

Nu există o metodă de dozare a fluocinolonului acetonid aflat în asociere cu izohidrafuralul într-un unguent combinat. Această formă farmaceutică se cercetează experimental în vederea elaborării Documentelor Analitice de Normare a calității.

Ipoteza de cercetare

Dozarea substanțelor medicamentoase într-o formă farmaceutică reprezintă un indicator important și obligatoriu la determinarea calității medicamentului, fiind inclus în Documentele Analitice de Normare a calității.

Noutatea adusă literaturii științifice din domeniu

Pentru prima dată a fost elaborată și validată o metodă de dozare a fluocinolonului acetonid aflat în asociere cu o altă substanță activă – izohidrafural, în aceeași formă farmaceutică.

Rezumat

Introducere. Cercetarea a fost inițiată cu scopul de a elabora și valida o metodă de dozare a fluocinolonului acetonid din unguentul combinat cu conținut de izohidrafural și fluocinolon acetonid. A fost selectată o metodă fizico-chimică modernă: spectroscopia în ultraviolet și vizibil.

Material și metode. În cercetarea experimentală s-a utilizat unguentul combinat cu conținut de izohidrafural și fluo-

What is not known yet, about the topic

There is no method of assay of fluocinolone acetonide, which is in association with isohydrofural in a combined ointment. This dosage form is investigated experimentally for the development of Analytical Quality Control documents.

Research hypothesis

The assay of drug substances in a dosage form is an important and mandatory indicator for determining the quality of the drug and is included in the Analytical Quality Control documents.

Article's added novelty on this scientific topic

For the first time, a method of assay of fluocinolone acetonide in combination with another active drug substance – isohydrofural in the same dosage form, has been developed and validated.

Abstract

Introduction. The research was initiated with the purpose of development and validation of a method of assay of fluocinolone acetonide from the combined ointment containing isohydrofural and fluocinolone acetonide. A modern physico-chemical method has been selected: ultraviolet and visible spectroscopy.

Material and methods. In experimental research, it was

cinolon acetonid, care a fost preparat în condiții de laborator. În calitate de substanțe active au servit fluocinolonul acetonid (*Sigma Aldrich*, concentrația 99,9%) și izohidrafuralul, sintetizat la Catedra de chimie organică a Universității de Stat din Moldova (concentrația 99,9%). De asemenea, s-a întrebuițat standardul analitic de fluocinolon acetonid (*Sigma Aldrich*, concentrația 99,9%). Aparatul utilizat a constituit: spectrofotometrul *Agilent Technologies* 95-00, o pereche de cuve din cuarț cu grosimea stratului de 10 mm, balanță analitică *OHAUS DV215 CD* și veselă chimică de laborator. Rezultatele obținute au fost prelucrate statistic cu ajutorul programului *SPSS 10.5*.

Rezultate. La înregistrarea spectrului în ultraviolet și vizibil, fluocinolonul acetonid a prezentat în apă un maxim de absorbție la 241 nm. Metoda spectrofotometrică în ultraviolet și vizibil elaborată a fost validată după parametri: liniaritate, specificitate, limită de detecție, limită de cuantificare, precizie, acuratețe și robustețe.

Concluzii. A fost elaborată o metodă spectrofotometrică în ultraviolet și vizibil de dozare a fluocinolonului acetonid dintr-un unguent combinat cu izohidrafural. Rezultatele validării demonstrează că metoda elaborată este simplă, rapidă, exactă și reproductibilă. Astfel, metoda spectrofotometrică în ultraviolet și vizibil, elaborată și validată, ar putea fi inclusă în Documentele Analitice de Normare a calității unguentului combinat cu conținut de izohidrafural și fluocinolon acetonid.

Cuvinte cheie: fluocinolon acetonid, dozare, unguent, spectrofotometrie în ultraviolet și vizibil, validare, izohidrafural.

Introducere

Din punct de vedere structural, fluocinolonul acetonid este un glucocorticoid, derivat al hormonilor naturali adrenocorticali: hidrocortizonul și corticosteronul. Datorită efectelor terapeutice antiinflamatoare, antialergice și antipruritice pe care le exercită la nivelul pielii, fluocinolonul acetonid este utilizat în diverse afecțiuni cutanate precum dermatite, psoriazis, lupus eritematos etc [1]. Exită sub diverse forme farmaceutice pentru uz extern: creme, unguente, loțiuni și geluri [1].

Izohidrafuralul este un derivat nou al 5-nitrofuranelor și posedă o acțiune antimicrobiană bine marcată, mai mare decât a nitrofurului de la 2 până la 20 de ori față de diverse microorganisme grampozitive și gramnegative [2]. Un avantaj îl constituie faptul că este o substanță medicamentoasă autohtonă, fiind mai accesibilă [2].

Combinarea izohidrafuralului și fluocinolonului acetonid într-o formă farmaceutică pentru uz extern, unguent, va contribui la facilitarea tratamentului diverselor afecțiuni cutanate infectate și inflamatorii. În cadrul Laboratorului de analiză, standardizare și controlul medicamentelor al Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, se fac cercetări privind elaborarea Documentelor Analitice de Normare a calității unguentului combinat cu conținut de izohidrafural și fluocinolon acetonid.

Determinarea cantitativă a unei substanțe medicamentoase într-o formă farmaceutică este un indicator esențial și obligatoriu la verificarea calității medicamentului. Deoarece

used the combined ointment containing isohydrofural and fluocinolone acetonide, which was prepared under laboratory conditions. The active drug substances were fluocinolone acetonide (*Sigma Aldrich*, 99.9% concentration) and isohydrofural, which was synthesized at the Chair of organic chemistry of the State University of Moldova (99.9% concentration). It was used the apparatus: *Agilent Technologies* 95-00 spectrophotometer, a pair of 10 mm quartz cuvettes, the *OHAUS DV215 CD* analytical torque and laboratory glassware. The obtained results were statistically processed using *SPSS 10.5* software.

Results. Fluocinolone acetonide had a maximum of absorption at 241 nm in water at the recording of the ultraviolet and visible spectrum. The developed ultraviolet and visible spectrophotometric method has been validated by the parameters: linearity, specificity, detection limit, quantification limit, precision, accuracy and robustness.

Conclusions. It was developed a spectrophotometric method in ultraviolet and visible of assay of fluocinolone acetonide from a combined ointment containing isohydrofural. The results of validation demonstrate that the developed method is simple, rapid, accurate and reproducible. Thus, the developed and validated spectrophotometric method in ultraviolet and visible could be included in the Analytical Quality Control documents of the combined ointment containing isohydrofural and fluocinolone acetonide.

Key words: fluocinolone acetonide, assay, ointment, ultraviolet and visible spectrophotometry, validation, isohydrofural.

Introduction

Fluocinolone acetonide is a glucocorticoid, derivative of adrenocortical natural hormones: hydrocortisone and corticosterone. Fluocinolone acetonide is used in various dermatological diseases such as dermatitis, psoriasis, lupus erythematosus etc. due to its therapeutic dermatological effects: anti-inflammatory, anti-allergic and anti-pruritic [1]. There are different dosage forms of fluocinolone acetonide for external use: creams, ointments, lotions and gels [1].

Isohydrofural is a new derivative of 5-nitrofurane, which has an antimicrobial activity against different gram-positive and gram-negative microorganisms from 2 to 20 times higher than that of nitrofurane [2]. An advantage is that it is an indigenous drug substance, being more accessible [2].

The combination of isohydrofural and fluocinolone acetonide in a dosage form for external use, ointment, will improve the treatment of different infected and inflammatory dermatological diseases. The Analytical Quality Control documents of the combined ointment containing isohydrofural and fluocinolone acetonide are developed at the Laboratory of Analysis, Standardization and Control of Drugs of *Nicolae Testemițanu* State University of Medicine and Pharmacy.

The assay of a drug substance in a dosage form is an essential and mandatory parameter for verifying the quality of drugs. There is no method of assay of the active drug substances from the combined ointment containing isohydrofural

ce unguentul combinat cu conținut de izohidrafural și fluocinolon acetamid se află la etapa de cercetare experimentală în laborator, nu există o metodă de determinare cantitativă a substanțelor active, aflate în comun.

Revista literaturii, referitoare la dozarea substanțelor medicamentoase fluocinolon acetamid și izohidrafural, individual, precum și în formele lor farmaceutice existente, denotă utilizarea pe larg a metodelor fizico-chimice de analiză [3-6]. Pentru determinarea cantitativă a fluocinolonului acetamid din unguentul combinat, a fost selectată metoda spectrofotometrică UV-VIS, care s-a dovedit a fi o metodă simplă, rapidă și exactă [3].

Material și metode

Cercetările experimentale au fost efectuate în cadrul Catedrei de chimie farmaceutică și toxicologică a Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, precum și în cadrul Laboratorului de analiză, standardizare și controlul medicamentelor al Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”.

Elaborarea metodei de dozare a fluocinolonului acetamid din unguentul combinat s-a efectuat în baza prevederilor ghidurilor Conferinței Internaționale de Armonizare „Q2R1: Pentru proceduri analitice și validare” [7].

În studiu s-a utilizat unguentul combinat, preparat în condiții de laborator. În calitate de substanțe active au servit fluocinolonul acetamid (*Sigma Aldrich*, concentrația 99,9%) și izohidrafuralul, sintetizat la Catedra de chimie organică a Universității de Stat din Moldova (concentrația 99,9%). De asemenea, s-a întrebunțat standardul analitic de fluocinolon acetamid (*Sigma Aldrich*, concentrația 99,9%).

Aparatură utilizată: spectrofotometrul *Agilent Technologies* 95-00, cuve din cuarț cu grosimea stratului de 10 mm, balanță analitică *OHAUS DV215 CD*.

La finalul cercetărilor s-a calculat concentrația fluocinolonului acetamid din unguentul combinat, în grame, utilizând formula de calcul ce are la bază legea Bouguer-Lambert-Beer, cu aplicarea soluției standard de fluocinolon acetamid:

$$X = \frac{A_x \times m_{st} \times V_{pst}}{A_{st} \times m_{ung} \times V_{px}} \times P, \text{ în care:}$$

A_x – absorbanta soluției probă;
 A_{st} – absorbanta soluției standard;
 m_{st} – masa standardului de fluocinolon acetamid, g;
 m_{ung} – masa unguentului luat pentru analiză, g;
 V_{pst}, V_{px} – diluțiile folosite la prepararea probelor și soluțiilor standard, ml;
 P – masa totală a unguentului, g.
 Rezultatele obținute au fost prelucrate statistic cu ajutorul programului SPSS 10.5.

Rezultate

Inițial au fost înregistrate spectrele de absorbție ale soluției standard de fluocinolon acetamid cu concentrația 10 μg/ml, soluției probă de fluocinolon acetamid cu concentrația 10 μg/ml și a soluției martor, preparate în aceleași condiții (Figura 1).

and fluocinolone acetonide as it is at the stage of experimental laboratory research.

The literature review of the assay of the drug substances: fluocinolone acetonide and isohydrofural and of them from their dosage forms indicates a widespread use of the physico-chemical methods of analysis [3-6]. The UV-VIS spectrophotometric method was selected for the assay of fluocinolone acetonide from the combined ointment, which is a simple, rapid and accurate method [3].

Material and methods

The experimental researches were made at the Chair of pharmaceutical and toxicological chemistry of *Nicolae Testemitanu* State University of Medicine and Pharmacy and at the Laboratory of Analysis, Standardization and Control of Drugs of *Nicolae Testemitanu* State University of Medicine and Pharmacy.

The elaboration of the method of assay of fluocinolone acetonide from the combined ointment was performed on the basis of the guidelines of the International Harmonization Conference „Q2R1: For analytical procedures and validation” [7].

For the experimental research, it was used the combined ointment containing isohydrofural and fluocinolone acetonide, which was prepared under laboratory conditions. The active drug substances were fluocinolone acetonide (*Sigma Aldrich*, 99.9% concentration) and isohydrofural, which was synthesized at the Chair of Organic Chemistry of the State University of Moldova (99.9% concentration). Also it was used the analytical standard of fluocinolone acetonide (*Sigma Aldrich*, 99.9% concentration).

It was used the apparatus: *Agilent Technologies* 95-00 spectrophotometer, a pair of 10 mm quartz cuvettes, the *OHAUS DV215 CD* analytical torque and laboratory glassware.

At the end of the research, the concentration of fluocinolone acetonide in the combined ointment, was calculated, in grams, using the Bouguer-Lambert-Beer law formula and the standard solution of fluocinolone acetonide:

$$X = \frac{A_x \times m_{st} \times V_{pst}}{A_{st} \times m_{ung} \times V_{px}} \times P, \text{ in which:}$$

A_x – absorbance of the sample solution;
 A_{st} – absorbance of the standard solution;
 m_{st} – mass of the standard fluocinolone acetonide, g;
 m_{ung} – mass of ointment taken for analysis, g;
 V_{pst}, V_{px} – the dilutions used to prepare samples and standard solutions, ml;
 P – total ointment mass, g.
 The obtained results were statistically processed using SPSS 10.5 software.

Results

Initially, it was recorded the spectra of 10 μg/ml standard solution of fluocinolone acetonide, 10 μg/ml sample solution of fluocinolone acetonide and blank solution, which were prepared under the same conditions (Figure 1).

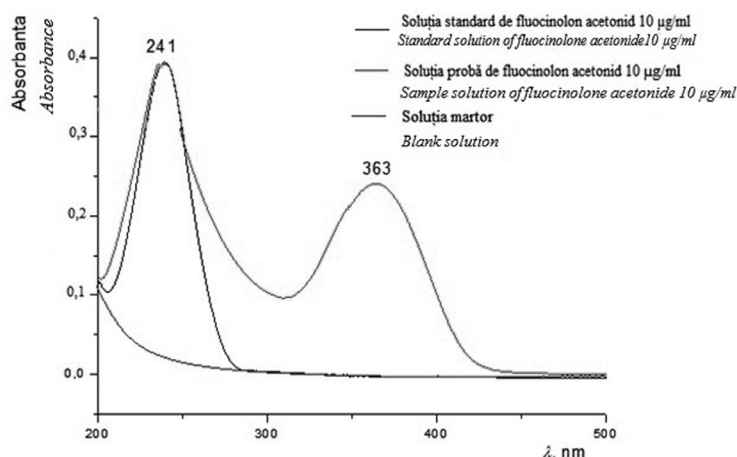


Fig. 1 Spectrele de absorbție ale soluțiilor standard, probă de fluocinolon acetonid 10 μg/ml și a probei martor.

Fig. 1 Spectra of absorption of standard, sample solutions of fluocinolone acetonide 10 μg/ml and blank solution.

Liniaritatea

S-a determinat absorbanta a șase soluții standard de fluocinolon acetonid cu concentrațiile: 2, 4, 6, 8, 10 și 20 μg/ml la lungimea de undă 241 nm. Determinările au fost repetate de 3 ori, deviația standard calculată fiind egală cu 0,004. În baza rezultatelor obținute, a fost trasată dreapta de etalonare (Figura 2).

Selectivitatea

O probă martor a fost analizată spectrofotometric UV-VIS. Valoarea absorbantei la lungimea de undă maximă de absorbție a fluocinolonului acetonid – 241 nm este 0,03 (Figura 2).

Precizia

A. Repetabilitatea. S-au analizat 6 probe de unguent cu concentrația fluocinolonului acetonid 10 μg/ml în aceeași zi și în aceleași condiții (Tabelul 1).

B. Precizia intermediară. S-au analizat 6 probe de unguent cu concentrația fluocinolonului acetonid 10 μg/ml în zile diferite, dar în aceleași condiții (Tabelul 1).

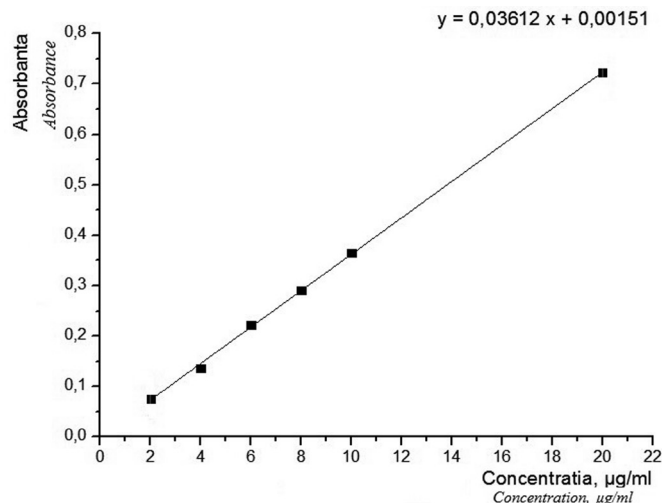


Fig. 2 Dreapta de etalonare a fluocinolonului acetonid.

Fig. 2 Calibration curve of fluocinolone acetonide.

Linearity

It was determined the absorbance of six standard solutions of fluocinolone acetonide with concentrations of 2, 4, 6, 8, 10 and 20 μg/ml at the wavelength of 241 nm. The determinations were repeated 3 times, the standard deviation was 0.004. The calibration curve was drawn using the obtained results (Figure 2).

Selectivity

A blank sample was analyzed by UV-VIS spectrophotometric method. The value of absorbance at the maximum wavelength of absorption of fluocinolone acetonide – 241 nm is 0.03 (Figure 2).

Precision

A. Repetability. Six samples of ointment having the concentration of fluocinolone acetonide 10 μg/ml were analyzed on the same day and under the same conditions (Table 1).

B. Intermediate precision. Six samples of ointment having the concentration of fluocinolone acetonide 10 μg/ml were analyzed on different days, but under the same conditions (Table 1).

Tabelul 1. Rezultatele repetabilității și preciziei intermediare.

Table 1. Results of repeatability and intermediate precision.

Nr. No.	Repetabilitatea Repeatability		Precizia intermediară Intermediate precision	
	Absorbanța Absorbance	Concentrația, g Concentration, g	Absorbanța Absorbance	Concentrația, g Concentration, g
1	0,37702	0,02503	0,37708	0,02524
2	0,37225	0,02524	0,37624	0,02519
3	0,36748	0,02460	0,36941	0,02473
4	0,37082	0,02482	0,37012	0,02478
5	0,37129	0,02485	0,37029	0,02479
6	0,37177	0,02489	0,37077	0,02482
Media Average	0,37177	0,02491	0,37232	0,02492
Deviația standard Standard deviation	0,0031	0,0002	0,0034	0,0002
Deviația standard relativă,% Relative standard deviation, %	0,827	0,864	0,9136	0,9136

Limita de detecție a fost determinată folosind formula de calcul: $LOD = (3,3 \times SD)/a$, în care:

LOD – limita de detecție;

SD – deviația standard;

a – panta dreptei de etalonare.

Valoarea limitei de detecție calculată este egală cu 0,365.

Limita de cuantificare a fost determinată folosind formula de calcul: $LOQ = (10 \times SD)/a$, în care:

LOQ – limita de cuantificare;

SD – deviația standard;

a – panta dreptei de etalonare.

Valoarea limitei de cuantificare calculată este egală cu 1,107.

Exactitatea metodei a fost determinată prin metoda îmbogățirii probelor, fiind calculat procentul recuperării. Pentru fiecare nivel de concentrație, determinările au fost efectuate în triplicat (Tabelul 2).

Robustețea metodei a fost cercetată prin variația lungimii de undă maxime de absorbție a fluocinolonului acetonid. Determinările au fost repetate de 3 ori pentru fiecare lungime de undă testată pe o probă a fluocinolonului acetonid cu concentrația 10 $\mu\text{g/ml}$ (Tabelul 3).

Discuții

Pentru elaborarea metodei de dozare spectrofotometrice, inițial s-a determinat lungimea de undă maximă de absorbție a fluocinolonului acetonid prin prepararea unei soluții standard apoase de fluocinolon acetonid cu concentrația 10 $\mu\text{g/ml}$. S-a înregistrat spectrul de absorbție al soluției standard

The limit of detection was determined using the equation: $LOD = (3.3 \times SD)/a$, in which:

LOD – limit of detection;

SD – standard deviation;

a – slope of the calibration curve.

The limit of detection was calculated and was found to be 0.365.

The limit of quantification was determined using the equation: $LOQ = (10 \times SD)/a$, in which:

LOQ – limit of quantification;

SD – standard deviation;

a – slope of the calibration curve.

The limit of quantification was calculated and was found to be 1.107.

The accuracy of the method was determined by the sample enrichment method, and the percentage of recovery was calculated. For each concentration level, determinations were made in triplicate (Table 2).

The robustness of the method was investigated by varying the maximum absorption wavelength of fluocinolone acetonide. The determinations were repeated 3 times for each test wavelength of a 10 $\mu\text{g/ml}$ fluocinolone acetonide sample (Table 3).

Discussion

To develop the spectrophotometric method of assay, the maximum absorption wavelength of acetonide fluocinolone was initially determined by preparing a standard aqueous solution of fluocinolone acetonide at a concentration of 10

Tabelul 2. Rezultatele exactității metodei elaborate de dozare a fluocinolonului acetonid din unguentul combinat.

Table 2. Results of accuracy of developed method of assay of fluocinolone acetonide from the combined ointment.

Nivelele de concentrație, % Level of concentration, %	Concentrația probei, $\mu\text{g/ml}$ Concentration of sample, $\mu\text{g/ml}$	Concentrația teoretică a probei cu adaos, $\mu\text{g/ml}$ Theoretical concentration of spiked sample, $\mu\text{g/ml}$	Concentrația în proba cu adaos \pm SD, $\mu\text{g/ml}$ (n=3) Concentration in spiked sample \pm SD, $\mu\text{g/ml}$ (n=3)	Recuperare \pm SD, % Recovery \pm SD, %
80	5	13	12,99 \pm 0,01	99,91 \pm 0,055
100	5	15	15,02 \pm 0,02	99,84 \pm 0,051
120	5	17	16,89 \pm 0,02	101,77 \pm 0,51

Notă: SD – deviația standard.

Note: SD – standard deviation.

Tabelul 3. Rezultatele robusteții metodei spectrofotometrice UV-VIS de dozare a fluocinolonului acetonid din unguentul combinat.

Table 3. Results of the robustness of UV-VIS spectrophotometric method of assay of fluocinolone acetonide from the combined ointment.

Nr. No.	Valorile absorbanței Absorbance values		
Lungimea de undă Wavelength	240 nm	241 nm	242 nm
1	0,37202	0,37364	0,37551
2	0,37112	0,37412	0,37612
3	0,37151	0,37422	0,37541
Media / Average	0,37155	0,37399	0,37568
Deviația standard / Standard deviation	0,00045	0,00031	0,00038
Deviația standard relativă, % Relative standard deviation, %	0,121	0,083	0,102

obținute în regiunea 200-500 nm. Absorbția maximă s-a observat la 241 nm.

Metoda elaborată a prezentat liniaritate în limitele concentrațiilor 2-20 µg/ml, coeficientul de corelație fiind 0,99946 și ecuația regresiei liniare: $y=0,03612 \times x + 0,00151$.

Metoda de dozare elaborată este selectivă, deoarece spectrul probei martor a prezentat o absorbție infimă la 241 nm.

Rezultatele repetabilității și preciziei intermediare denotă că metoda elaborată este precisă, valorile deviației standard relative fiind mai mici decât 2%, în ambele cazuri.

Metoda de dozare elaborată este exactă, deoarece valorile medii ale recuperării la nivelele de concentrație 80%, 100% și 120% au fost apropiate de 100% și deviațiile standard calculate sunt mai mici decât 1.

Variația maximumului de absorbție a fluocinolonului acetonid cu ± 1 nu a avut influență majoră asupra valorilor absorbanțelor, deviațiile standard relative fiind mai mici decât 1.

Concluzii

A fost elaborată o metodă spectrofotometrică în ultraviolet și vizibil de dozare a fluocinolonului acetonid dintr-un unguent combinat cu izohidrafural. Rezultatele validării demonstrează că metoda elaborată este simplă, rapidă, exactă și reproductibilă. Astfel, metoda spectrofotometrică în ultraviolet și vizibil elaborată și validată ar putea fi inclusă în Documentele Analitice de Normare a calității unguentului combinat cu conținut de izohidrafural și fluocinolon acetonid.

Declarația de conflict de interes

Autorul declară lipsa conflictului de interes.

Referințe / references

1. Patel A. Development and validation of stability indicating HPTLC method for simultaneous estimation of fluocinolone acetonide and miconazole nitrate in ointment. *Austin Chromatogr.*, 2014; 1 (5): 1023-1032.
2. Prisacari V., Buraciov S., Dizdari A., Țapcov V., Gulea A., Bârcă M., Bodrug M., Colțun M. Substanțe antibacteriene și antifungice noi din materia primă locală. *Akademos*, 2010; 2 (17): 66-75.
3. Chmielewska A., Konieczna L., Lamparczy H. Development of a reversed phase HPLC method for analysis of fluocinolone acetonide in gel and ointment. *Acta Chromatography*, 2006; 16: 80-91.
4. European Pharmacopoeia 7.0, 2011; 2041-2042.
5. United States Pharmacopoeia 30, NF 25. United States Pharmacopoeial Convention, Inc. 2007; 2263-2264.
6. British Pharmacopoeia, 2009; Monographs: Medicinal and Pharmaceutical Substances Fluocinolone Acetonide.
7. 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. November 2005. http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q2_R1/Step4/Q2_R1_Guideline.pdf (accesat pe 12.02.2017).

µg/ml. The absorption spectrum of the standard solution in 200-500 nm region was recorded. Maximum absorption was at 241 nm.

The developed method presented linearity within the limits of 2-20 µg/ml, the correlation coefficient being 0.99946 and the equation of the linear regression: $y=0.03612 \times x + 0.00151$.

The developed assay method is selective, because the blank spectrum had a slight absorption at 241 nm.

The results of repeatability and intermediate precision indicate that the developed method is accurate, the relative standard deviation was less than 2% in both cases.

The developed assay method is accurate because the mean recovery values at 80%, 100% and 120% concentration levels were close to 100% and the calculated standard deviations are less than 1.

The variation of the maximum absorption of fluocinolone acetonide by ± 1 had no major influence on the absorbance values, the relative standard deviations was less than 1.

Conclusions

It was developed a spectrophotometric method in ultraviolet and visible of assay of fluocinolone acetonide from a combined ointment with isohydrofural. The results of validation demonstrate that the developed method is simple, rapid, accurate and reproducible. Thus, the developed and validated spectrophotometric method in ultraviolet and visible could be included in the Analytical Quality Control documents of the combined ointment containing isohydrofural and fluocinolone acetonide.

Declaration of the conflict of interests

The author declares lack of any conflict of interests.