

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

Cu titlu de manuscris  
C.Z.U.: 15.2.014.2:616.28(043.2)

**UNCU LIVIA**

**ELABORAREA PRODUSELOR FARMACEUTICE COMBINATE  
UTILIZATE ÎN TERAPIA AFECȚIUNILOR URECHII**

**316.01 – FARMACIE**

Teză de doctor habilitat în științe farmaceutice

Consultant științific:



Valica Vladimir, doctor habilitat în științe farmaceutice, profesor universitar

Consultant științific:



Prisăcari Viorel, doctor habilitat în științe medicale, profesor universitar, m.c. AȘM

Autor:



Uncu Livia, doctor în științe farmaceutice, conferențiar universitar

**CHIȘINĂU, 2024**

**©Uncu Livia, 2024**

## CUPRINS

ADNOTARE .....	7
АННОТАЦИЯ .....	8
ABSTRACT .....	9
LISTA TABELELOR .....	10
LISTA FIGURILOR .....	12
LISTA ABREVIERILOR .....	16
INTRODUCERE .....	19
<b>1. CERCETAREA ȘI UTILIZAREA PRODUSELOR FARMACEUTICE COMBinate</b> .....	<b>32</b>
<b>1.1. Particularități de elaborare a combinațiilor cu doze fixe de medicamente</b> .....	<b>32</b>
<i>1.1.1. Compatibilitatea substanțelor medicamentoase în combinații</i> .....	<i>35</i>
<i>1.1.2. Cercetări farmacotehnologice ale produselor combinate topice și perorale</i> .....	<i>36</i>
<i>1.1.3. Analiza și standardizarea combinațiilor cu doze fixe de medicamente</i> .....	<i>37</i>
<b>1.2. Utilizarea combinațiilor cu doze fixe în terapia unor maladii auriculare</b> .....	<b>42</b>
<i>1.2.1. Infecții bacteriene și fungice ale urechii</i> .....	<i>45</i>
<i>1.2.2. Hipoacuzia senzorieală</i> .....	<i>52</i>
<b>1.3. Principii de selectare a substanțelor active pentru elaborarea produselor farmaceutice combinate</b> .....	<b>54</b>
<i>1.3.1. Derivați de nitrofuran cu acțiune antibacteriană topică</i> .....	<i>55</i>
<i>1.3.2. Regenerante cu aplicare topică</i> .....	<i>56</i>
<i>1.3.3. Utilizarea fluorchinolonelor în tratamentul infecțiilor auriculare</i> .....	<i>57</i>
<i>1.3.4. Antifungice cu acțiune topică în tratamentul otomicozelor</i> .....	<i>58</i>
<i>1.3.5. Vasodilatatoare cerebrale și nootrope în farmacoterapia surdității</i> .....	<i>59</i>
<i>1.3.6. Produse de origine vegetală antibacteriene, antifungice și antioxidante în farmacoterapia afecțiunilor auriculare</i> .....	<i>60</i>
<b>2. MATERIALE ȘI METODE DE CERCETARE</b> .....	<b>64</b>
<b>2.1. Metodologia de cercetare/dezvoltare a produselor farmaceutice combinate</b> .....	<b>64</b>
<b>2.2. Materiale folosite în procesul de elaborare a formelor farmaceutice auriculare</b> .....	<b>68</b>
<b>2.3. Metode de analiză aplicate în procesul de cercetare și aparatajul utilizat</b> .....	<b>69</b>
<b>2.4. Metode de studiu preclinic a produselor farmaceutice elaborate</b> .....	<b>75</b>
<b>2.5. Metode de evaluare a rezultatelor obținute</b> .....	<b>81</b>
<b>3. PREFORMULAREA, OPTIMIZAREA ȘI TEHNOLOGIA PRODUSELOR FARMACEUTICE COMBinate PENTRU TRATAMENTUL UNOR AFECȚIUNI AURICULARE</b> .....	<b>84</b>

<b>3.1. Studiul pieței farmaceutice naționale a produselor farmaceutice combinate utilizate în tratamentul maladiilor urechii .....</b>	<b>84</b>
<b>3.1.1. Piața farmaceutică națională a medicamentelor combinate.....</b>	<b>84</b>
<b>3.1.2. Analiza sortimentului de preparate auriculare utilizate în otomicoze.....</b>	<b>86</b>
<b>3.1.3. Studiul pieței farmaceutice autohtone și internaționale a preparatelor combinate utilizate în tratamentul hipoacuziei senzoringurale.....</b>	<b>87</b>
<b>3.1.4. Preparatele utilizate în tratamentul otitei pe piața farmaceutică autohtonă.....</b>	<b>90</b>
<b>3.2. Preformularea picăturilor auriculare combinate .....</b>	<b>91</b>
<b>3.2.1. Studii de compatibilitate a substanțelor active între ele și cu excipienții prin metode DSC și FTIR .....</b>	<b>92</b>
<b>3.2.2. Elaborarea picăturilor auriculare cu conținut de IHF și MU pentru tratamentul otitelor supurative .....</b>	<b>101</b>
<b>3.2.3. Elaborarea picăturilor auriculare cu conținut de EC, CIP și UVB .....</b>	<b>107</b>
<b>3.3. Preformularea capsulelor combinate pentru tratamentul hipoacuziei senzoringurale cu conținut de PIR, NIC și extract uscat de păducel.....</b>	<b>112</b>
<b>3.3.1. Studii de compatibilitate a substanțelor active între ele și cu excipienții prin metode DSC, FTIR și difracție cu raze X.....</b>	<b>112</b>
<b>3.3.2. Elaborarea capsulelor combinate și determinarea parametrilor tehnologici ....</b>	<b>123</b>
<b>3.4. Optimizarea și tehnologia de obținere a picăturilor auriculare combinate .....</b>	<b>132</b>
<b>3.4.1. Optimizarea și tehnologia picăturilor auriculare cu conținut de IHF și MU ....</b>	<b>132</b>
<b>3.4.2. Optimizarea și tehnologia picăturilor auriculare cu conținut de CIP, EC și UVB .....</b>	<b>137</b>
<b>3.5. Optimizarea și tehnologia de obținere a capsulelor combinate.....</b>	<b>141</b>
<b>4. ANALIZA ȘI STANDARDIZAREA FORMELOR FARMACEUTICE ELABORATE: PICĂTURI AURICULARE ȘI CAPSULE COMBIMATE.....</b>	<b>148</b>
<b>4.1. Analiza picăturilor auriculare cu conținut de IHF și MU .....</b>	<b>148</b>
<b>4.1.1. Identificarea principiilor active prin reacții chimice și metode fizico-chimice. Studii de puritate. ....</b>	<b>148</b>
<b>4.1.2. Dozarea spectrofotometrică a principiilor active.....</b>	<b>152</b>
<b>4.1.3. Elaborarea și validarea metodei HPLC de dozare a IHF și MU din picături auriculare.....</b>	<b>153</b>
<b>4.2. Analiza picăturilor auriculare cu conținut de EC, CIP și UVB .....</b>	<b>159</b>
<b>4.2.1. Identificarea principiilor active prin reacții chimice și metode fizico-chimice. Studii de puritate. Analiza uleiului de busuioc prin spectrometrie de masă.....</b>	<b>159</b>
<b>4.2.2. Elaborarea și validarea metodei spectrofotometrice de dozare a nitratului de econazol și a clorhidratului de ciprofloxacina din picături auriculare .....</b>	<b>163</b>
<b>4.2.3. Determinarea CIP și EC din picături auriculare prin HPLC.....</b>	<b>166</b>
<b>4.2.4. Analiza gaz-cromatografică a UVB din picături auriculare.....</b>	<b>167</b>
<b>4.3. Analiza capsulelor combinate cu PIR, NIC și extract uscat de păducel.....</b>	<b>170</b>
<b>4.3.1. Identificarea principiilor active prin reacții chimice și metode fizico-chimice ...</b>	<b>170</b>

4.3.2. <i>Elaborarea și validarea metodei spectrofotometrice de dozare a PIR și NIC din capsule operculate</i> .....	173
4.3.3. <i>Determinarea PIR și NIC din capsule operculate prin HPLC</i> .....	177
4.3.4. <i>Analiza EP prin metoda HPLC</i> .....	181
4.4. <i>Standardizarea picăturilor auriculare combinate</i> .....	182
4.4.1. <i>Stabilitatea picăturilor auriculare cu IHF și MU în condiții de stres și determinarea termenului de valabilitate în condiții obișnuite</i> .....	182
4.4.2. <i>Stabilitatea picăturilor auriculare cu conținut de EC, CIP și ulei volatile de busuioc în condiții de stres și determinarea termenului de valabilitate în condiții obișnuite</i> .....	187
4.4.3. <i>Standardizarea picăturilor auriculare combinate și elaborarea DAN</i> .....	191
4.5. <i>Standardizarea capsulelor combinate</i> .....	193
4.5.1. <i>Stabilitatea capsulelor cu conținut de PIR, NIC și extract uscat de păducel în condiții de stres și determinarea termenului de valabilitate</i> .....	193
4.5.2. <i>Standardizarea capsulelor combinate și elaborarea DAN</i> .....	197
<b>5. STUDII DE INOFENSIVITATE ȘI EFICACITATE A PICĂTURILOR AURICULARE COMBINATE ȘI A CAPSULELOR ELABORATE</b> .....	203
5.1. <i>Determinarea toxicității acute a picăturilor auriculare și capsulelor combinate</i> ....	203
5.2. <i>Studii de ototoxicitate pentru produsele farmaceutice combinate elaborate</i> .....	209
5.3. <i>Cercetarea activității antibacteriene și antifungice a picăturilor auriculare antibacteriene și antifungice</i> .....	213
5.4. <i>Studiul activității antioxidante a capsulelor combinate</i> .....	217
<b>CONCLUZII ȘI RECOMANDĂRI</b> .....	221
<b>BIBLIOGRAFIE</b> .....	224
<b>ANEXE</b> .....	255
<b>Anexa 1. Rezultatele evaluării pieței preparatelor auriculare combinate</b> .....	255
<b>Anexă 2. Analiza prin DSC a compatibilității substanțelor active între ele și cu excipienții pentru picăturile auriculare cu IHF+MU, CIP+EC+UVB</b> .....	266
<b>Anexa 3. Analiza prin spectrometrie FT-IR a compatibilității substanțelor active între ele și cu excipienții pentru picăturile auriculare cu IHF+MU, CIP+EC+UVB</b> .....	267
<b>Anexa 4. Analiza reologică a picăturilor auriculare cu conținut de IHF+MU și CIP+EC+UVB</b> .....	270
<b>Anexa 5. Cedarea principiilor active din picături auriculare prin membrană semipermeabilă și membrane naturale</b> .....	274
<b>Anexa 6. Analiza prin DSC a compatibilității substanțelor active între ele și cu excipienții pentru capsulele combinate cu NIC+PIR+EP</b> .....	301
<b>Anexa 7. Cedarea NIC și PIR din capsule combinate</b> .....	303

<b>Anexa 8. Tehnologia de preparare a formelor farmaceutice combinate: picături auriculare cu IHF+MU, CIP+EC+UVB și capsule cu NIC+PIR+EP .....</b>	<b>311</b>
<b>Anexa 9. Optimizarea formulărilor picăturilor auriculare combinate cu conținut de IHF și MU (cu ajutorul Design-Expert 7 Stat-Ease Software (Minneapolis, SUA)).....</b>	<b>314</b>
<b>Anexa 10. Optimizarea formulărilor picăturilor auriculare combinate cu conținut de clorhidrat de CIP, nitrat de EC și ulei volatil de busuioc (cu ajutorul Design-Expert 7 Stat-Ease Software (Minneapolis, SUA)) .....</b>	<b>319</b>
<b>Anexa 11. Optimizarea formulărilor capsulelor combinate cu conținut de nicergolină (NIC), piracetam (PIR) și extract de păducel (EP) (cu ajutorul Design-Expert 7 Stat-Ease Software (Minneapolis, SUA)) .....</b>	<b>324</b>
<b>Anexa 12. Analiza picăturilor auriculare combinate cu IHF și MU .....</b>	<b>328</b>
<b>Anexa 13. Analiza picăturilor auriculare cu CIP, EC și UVB.....</b>	<b>332</b>
<b>Anexa 14. Analiza capsulelor combinate cu NIC, PIR și EP .....</b>	<b>340</b>
<b>Anexa 15. Stabilitatea și standardizarea produselor farmaceutice combinate: picături auriculare cu IHF și MU, picături auriculare cu CIP, EC și UVB și capsule cu NIC, PIR și EP .....</b>	<b>349</b>
<b>Anexa 16. Activitatea antimicrobiană și antioxidantă a produselor combinate .....</b>	<b>364</b>
<b>Anexa 17. Actele de implementare a inovațiilor în activitatea științifică și metodicodidactică .....</b>	<b>367</b>
<b>Anexa 18. Acte de implementare de la întreprinderi de producere a medicamentelor .....</b>	<b>372</b>
<b>Anexa 19. Certificate de înregistrare a obiectelor dreptului de autor și a drepturilor conexe și certificate de inovator .....</b>	<b>374</b>
<b>Anexa 20. Monografiile Farmacopeice .....</b>	<b>379</b>
<b>Anexa 21. Regulamente tehnologice.....</b>	<b>385</b>
<b>Anexa 22. Medalii/distincții la saloane de invenții.....</b>	<b>394</b>
<b>DECLARAȚIA PRIVIND ASUMAREA RĂSPUNDERII .....</b>	<b>397</b>
<b>CV AUTORULUI.....</b>	<b>398</b>

## ADNOTARE

### Livia Uncu. ELABORAREA PRODUSELOR FARMACEUTICE COMBINATE UTILIZATE ÎN TERAPIA AFECȚIUNILOR URECHII

Teză de doctor habilitat în științe farmaceutice, Chișinău, 2024

**Structura tezei:** introducere, 5 capitole, inclusiv review-ul literaturii, materiale și metode, 3 capitole originale, concluzii și recomandări, bibliografie din 378 de titluri, 22 Anexe, 205 pagini de text de bază, 87 figuri, 53 tabele. Rezultatele obținute sunt publicate în 135 de lucrări științifice, inclusiv 1 monografie, 1 manual de bază, 4 recomandări metodice.

**Cuvinte cheie:** afecțiunile urechii, produse combinate, picături auriculare, capsule, preformulare, optimizare, analiză, standardizare, metode instrumentale, eficacitate, inofensivitate.

**Scopul cercetării:** Prezenta lucrare are ca scop studiul preclinic complex privind elaborarea unor produse farmaceutice combinate sub formă de picături auriculare și capsule pentru tratamentul afecțiunilor urechii.

**Obiectivele cercetării:** 1. Evaluarea pieței farmaceutice autohtone a produselor auriculare. 2. Argumentarea teoretică și experimentală a metodologiei de elaborare a combinațiilor cu doză fixă de medicamente cu aplicație în tratamentul otitelor, otomicozelor și surdității. 3. Cercetarea compatibilității și a stabilității principiilor active IHF, MU, CIP, EC, UVB, NIC, PIR și extract uscat de păducel în combinații sub formă de amestecuri mecanice. 4. Studii de preformulare cu evaluarea disponibilității farmaceutice a picăturilor auriculare cu IHF și MU, cu CIP, EC și UVB și a capsulelor combinate cu NIC, PIR și EP. 5. Optimizarea formulării și elaborarea tehnologiei de fabricație, a metodelor de analiză, standardizarea picăturilor auriculare și a capsulelor combinate elaborate. 6. Studii de inofensivitate prin determinarea toxicității acute și a ototoxicității picăturilor auriculare și a capsulelor combinate elaborate. 7. Cercetarea activității antimicrobiene și antifungice pentru picăturile auriculare. 8. Evaluarea activității antioxidante a capsulelor combinate cu NIC, PIR și EP.

**Rezultatele principale noi pentru știință și practică:** În rezultatul acestui studiu complex au fost elaborate, analizate și standardizate trei produse farmaceutice combinate originale pentru terapia maladiilor auriculare. În premieră au fost combinate și cercetate sub aspect de compatibilitate fizico-chimică și stabilitate substanțele medicamentoase: CIP, EC, UVB, NIC, PIR, EP, IHF, MU, sub formă de amestecuri mecanice și cu substanțele auxiliare și elaborate compoziții noi, originale de picături auriculare și capsule combinate, destinate tratamentului complex a otitelor, otomicozei și surdității. Au fost elaborate și validate noi metode și tehnici de analiză concomitentă a principiilor active din formele farmaceutice. Produsele elaborate au fost standardizate și s-a elaborat DAN pentru normarea calității. S-a demonstrat eficacitatea și inofensivitatea preclinică a preparatelor combinate elaborate.

**Semnificația teoretică a cercetării:** Au fost fundamentate cunoștințele teoretice referitor la metodologia și abordarea științifică a procesului de elaborare a medicamentelor combinate și au fost obținute cunoștințe conceptuale noi privind compatibilitatea unor substanțe medicamentoase concrete între ele și cu excipienții, noi metode de analiză, fiind creat un suport teoretic pentru o abordare interdisciplinară și conceptuală sistemică în aspect de cercetare farmaceutică a procesului de elaborare a produselor farmaceutice combinate.

**Valoarea aplicativă:** Pentru fortificarea și completarea arsenalului de medicamente în tratamentul afecțiunilor urechii au fost elaborate și cercetate multilateral trei produse farmaceutice combinate sub formă de picături auriculare și capsule, care au fost standardizate. Rezultatele studiului au fost aplicate în procesul didactic, în procesul de cercetare și activitatea practică.

**Implementarea rezultatelor științifice:** În baza rezultatelor obținute au fost elaborate Documente analitice de normare a calității (3 Monografii farmaceutice și 3 Regulamente tehnologice), curriculum ale disciplinelor și recomandări metodice pentru procesul didactic de instruire a studenților și rezidenților la facultatea de Farmacie. Rezultatele cercetărilor realizate au fost implementate în cadrul departamentelor de cercetare/dezvoltare a întreprinderilor autohtone de producere, în activitatea științifico-practică a Centrului Farmaceutic Universitar „Vasile Procopișin” și a laboratoarelor Centrului Științific al Medicamentului a Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”.

## АННОТАЦИЯ

### Ливия Унку. РАЗРАБОТКА КОМБИНИРОВАННЫХ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ В ТЕРАПИИ ЗАБОЛЕВАНИЙ УША

Диссертация доктора хабилитат фармацевтических наук, Кишинев, 2024 г.

**Структура диссертации:** введение, 5 глав, включая обзор литературы, материалы и методы, 3 оригинальные главы, выводы и рекомендации, библиография из 378 наименований, 22 приложения, 205 страниц основного текста, 87 рисунков, 53 таблиц. Полученные результаты опубликованы в 135 научных работах, включительно 1 монографии, 1 базовом учебнике, 4 методических рекомендациях.

**Ключевые слова:** заболевания уха, комбинированные препараты, ушные капли, капсулы, преформулирование, оптимизация, анализ, стандартизация, эффективность, безвредность.

**Цель исследования:** комплексное доклиническое исследование по разработке некоторых комбинированных препаратов в виде ушных капель и капсул для лечения заболеваний уха.

**Задачи исследования:** 1. Оценка отечественного фармацевтического рынка аурикулярных препаратов. 2. Теоретическое и экспериментальное обоснование методологии разработки комбинаций с фиксированной дозой для применения в лечении отитов, отомикозов и глухоты. 3. Исследование совместимости и стабильности действующих веществ изогидрафура, метилурацила, ципрофлоксацина гидрохлорида, эконазола нитрата, эфирного масла базилика, ницерголина, пираретама и сухого экстракта боярышника в комбинациях в виде механических смесей. 4. Исследования по предварительной формулировке с изучением фармацевтической доступности ушных капель с изогидрафуралом и метилурацилом, с гидрохлоридом ципрофлоксацина, нитратом эконазола и эфирным маслом базилика, а также комбинированных капсул с ницерголином, пираретамом и экстрактом боярышника. 5. Оптимизация рецептуры и разработка технологии приготовления, методов анализа, стандартизация разработанных комбинированных ушных капель и капсул. 6. Исследования безвредности путем определения острой токсичности и ототоксичности разработанных комбинированных ушных капель и капсул. 7. Исследование антимикробной и противогрибковой активности ушных капель. 8. Исследование антиоксидантной активности комбинированных капсул с ницерголином, пираретамом и экстрактом боярышника.

**Принципиально новые результаты для науки и практики:** в результате проведенного комплексного исследования разработаны, проанализированы и стандартизированы три оригинальных комбинированных фармацевтических препарата для терапии заболеваний уха. Впервые скомбинированы и исследованы на физико-химическую совместимость и стабильность лекарственные вещества: ципрофлоксацина гидрохлорид, эконазола нитрат, эфирное базиликовое масло, ницерголин, пираретам, экстракт боярышника, изогидрафура, метилурацил, в виде механических смесей и со вспомогательными веществами и разработаны новые оригинальные составы ушных капель и капсул, предназначенных для комплексного лечения отитов, отомикозов и глухоты. Разработаны новые методы и методики одновременного анализа действующих веществ в лекарственных формах, которые прошли валидацию. Разработанные препараты были стандартизированы, а для нормирования качества была разработана НАД. Показана доклиническая эффективность и безопасность разработанных комбинированных препаратов.

**Теоретическая значимость исследования:** обоснованы теоретические знания о методологии и научном подходе к процессу разработки комбинированных лекарственных средств и получены новые концептуальные знания о совместимости отдельных лекарственных веществ друг с другом и со вспомогательными веществами, новых методах анализа, созданы предпосылки для теоретического обеспечения междисциплинарного и системного концептуального подхода в процессе фармацевтического исследования по разработке комбинированных фармацевтических препаратов.

**Прикладное значение:** для пополнения арсенала лекарственных средств при лечении заболеваний уха разработаны, исследованы и стандартизированы три комбинированных препарата в виде ушных капель и капсул. Результаты исследования внедрены в учебный процесс, в исследовательской и практической деятельности.

**Внедрение научных результатов:** на основании полученных результатов разработана НАД (3 фармакопейные статьи и 3 технологических регламента), учебные программы дисциплин и методические рекомендации для студентов, резидентов фармацевтического факультета. Результаты исследований внедрены в научно-исследовательских отделах отечественных производственных предприятий, в научно-практическую деятельность Университетского Фармацевтического Центра «Василий Прокопишин» и в лабораториях Научного Центра по Лекарствам Государственного Медицинского и Фармацевтического Университета им. *Николае Тестемичану*.



## ABSTRACT

### Livia Uncu. DEVELOPMENT OF COMBINED PHARMACEUTICAL PRODUCTS USED IN THE THERAPY OF EAR DISEASES

Thesis of habilitated doctor in pharmaceutical sciences, Chisinau, 2024

**Thesis structure:** introduction, 5 chapters, including literature review, materials and methods, 3 original chapters, conclusions and recommendations, bibliography of 378 titles, 22 appendices, 205 pages of basic text, 87 figures, 53 tables. The obtained results are published in 135 scientific papers, including 1 monograph, 1 basic textbook, 4 methodical recommendations.

**Key words:** ear diseases, combined products, ear drops, capsules, preformulation, optimization, analysis, standardization, instrumental methods, efficacy, harmlessness.

**Purpose of the research:** the purpose of this work is the complex preclinical study regarding the development of some combined pharmaceutical products in the form of ear drops and capsules for the treatment of ear diseases.

**Objectives of the research:** 1. Evaluation of the domestic pharmaceutical market of auricular products. 2. Theoretical and experimental argumentation of the methodology for the development of fixed dose combinations with application in the treatment of otitis, otomycosis and deafness. 3. Researching of the compatibility and stability of the active principles isohydrfural, methyluracil, ciprofloxacin hydrochloride, econazole nitrate, volatile basil oil, nicergoline, PIR and dry hawthorn extract in combinations in the mechanical mixtures. 4. Preformulation studies with evaluation of the pharmaceutical availability of ear drops with isohydrfural and methyluracil, with ciprofloxacin hydrochloride, econazole nitrate and volatile basil oil, and combined capsules with nicergoline, PIR and hawthorn extract. 5. Optimization of the formulation and development of manufacturing technology, analysis methods, standardization of ear drops and elaborated combined capsules. 6. Harmlessness studies by determining the acute toxicity and ototoxicity of the ear drops and of the developed combined capsules. 7. Research of the antimicrobial and antifungal activity for the ear drops. 8. Evaluation of antioxidant activity of combined capsules with nicergoline, PIR and hawthorn extract.

**Fundamentally new results for science and practice:** as a result of this complex study, three original combined pharmaceutical products for the therapy of ear diseases were developed, analyzed and standardized. For the first time, medicinal substances were combined and investigated in terms of physico-chemical compatibility and stability: ciprofloxacin hydrochloride, econazole nitrate, volatile basil oil, nicergoline, PIR, hawthorn extract, isohydrfural, methyluracil, in the form of mechanical mixtures and with the auxiliary substances, and developed new, original compositions of ear drops and combined capsules, intended for the complex treatment of otitis, otomycosis and deafness. New methods and techniques for simultaneous analysis of active principles from pharmaceutical forms were developed and validated. The developed products were standardized and AND was developed for quality regulation. The preclinical efficacy and safety of the developed combined preparations have been demonstrated.

Theoretical significance of the research: the theoretical knowledge regarding the methodology and the scientific approach to the process of developing combined medicines were substantiated and new conceptual knowledge was obtained regarding the compatibility of certain medicinal substances with each other and with excipients, new analysis methods, being created a theoretical support for an interdisciplinary and systemic conceptual approach in the pharmaceutical research aspect of the process of developing of combined pharmaceutical products.

**Applicative value:** in order to strengthen and complete the arsenal of medicines in the treatment of ear diseases, three combined pharmaceutical products in the form of ear drops and capsules were developed and multilaterally researched and standardized. The results of the study were applied in the didactic process, in the research process and the practical activity.

**Implementation of the scientific results:** based on the obtained results, analytical quality standardization documents (3 Pharmacopoeia monographs and 3 technological regulations), curriculum of the disciplines and methodical recommendations for the didactic training process of students, residents of the faculty of pharmacy were developed. The results of the researches were implemented within the research/development departments of local production enterprises, in the scientific-practical activity of the *Vasile Procopisin* University Pharmaceutical Center and the laboratories Scientific Centre for Drug Research of the *Nicolae Testemitanu* State University of Medicine and Pharmacy.

## LISTA TABELELOR

Nr. tabelul	Denumirea tabelului	Pag.
Tabelul 3.1.	Formulările picăturilor auriculare combinate cu conținut de IHF și MU . . .	101
Tabelul 3.2.	Conținutul de PEG și PG în componența formulărilor de picături cu IHF și MU . . . . .	102
Tabelul 3.3.	Valorile pH-ului pentru 6 formulări (valori medii) de picături auriculare cu IHF și MU . . . . .	102
Tabelul 3.4.	Parametrii specifici permeației și eliberării IHF și MU din picăturile auriculare prin membrană sintetică la 45 min . . . . .	106
Tabelul 3.5.	Formulările picăturilor auriculare combinat cu conținut de CIP, EC și UVB . . . . .	108
Tabelul 3.6.	Conținutul de PEG și PS în componența formulărilor de picături cu CIP, EC și UVB . . . . .	108
Tabelul 3.7.	Rezultatele determinării pH-ului pentru picăturile cu CIP, EC și UVB . . . .	109
Tabelul 3.8.	Parametrii specifici permeației și eliberării CIP și EC din picăturile auriculare prin membrană sintetică la 45 min . . . . .	112
Tabelul 3.9.	Proprietățile fizico-chimice ale substanțelor active și a excipienților la preformularea capsulelor . . . . .	124
Tabelul 3.10.	Formulele capsulelor operculate combinate (cantități pentru o capsulă) . . .	124
Tabelul 3.11.	Cantitățile de substanțe necesare pentru prepararea a 25,0 g de pulbere, pentru determinarea parametrilor tehnologici la etapa de preformulare . . . .	125
Tabelul 3.12.	Parametrii farmaco-tehnologici (unghiul de înclinare și de repaus) ale formulărilor . . . . .	125
Tabelul 3.13.	Indicele Carr și indicele Hausner determinați pentru 4 formulări . . . . .	126
Tabelul 3.14.	Cedarea NIC (%) din capsule în mediul acid . . . . .	128
Tabelul 3.15.	Cedarea NIC din capsule în mediul neutru . . . . .	129
Tabelul 3.16.	Cedarea PIR din capsule în mediul acid . . . . .	130
Tabelul 3.17.	Cedarea PIR din capsule în mediul neutru . . . . .	131
Tabelul 3.18.	Cinetica dizolvării NIC din capsulele F1 și F2 în mediul acid . . . . .	131
Tabelul 3.19.	Cinetica dizolvării PIR din capsulele F1 și F2 din mediul acid . . . . .	132
Tabelul 3.20.	Valorile variabilelor independente utilizate în optimizarea formulării picăturilor auriculare combinate cu conținut de IHF și MU . . . . .	133
Tabelul 3.21.	Rezultatele experimentale ale variabilelor dependente . . . . .	133
Tabelul 3.22.	Formularea optimă a picăturilor auriculare combinate cu conținut de IHF și MU . . . . .	135
Tabelul 3.23.	Rezultatele teoretice și practice ale formulării optime de picături auriculare combinate cu conținut de IHF și MU . . . . .	136
Tabelul 3.24.	Valorile variabilelor independente utilizate în optimizarea formulării picăturilor auriculare combinate cu conținut de CIP, EC și UVB . . . . .	137
Tabelul 3.25.	Rezultatele experimentale ale variabilelor dependente la optimizarea picăturilor cu CIP, EC și UVB . . . . .	137
Tabelul 3.26.	Formularea optimă a picăturilor auriculare combinate cu conținut de CIP, EC și UVB . . . . .	140
Tabelul 3.27.	Rezultatele teoretice și practice ale formulării optime de picături auriculare combinate cu conținut de CIP, EC și UVB . . . . .	140

Nr. tabelul	Denumirea tabelului	Pag.
Tabelul 3.28.	Valorile variabilelor independente utilizate în optimizarea formulării capsulelor combinate cu conținut de NIC, PIR și EP .....	141
Tabelul 3.29.	Rezultatele experimentale ale variabilelor dependente .....	142
Tabelul 3.30.	Formularea optimă a capsulelor combinate cu conținut de NIC, PIR și EP .....	144
Tabelul 3.31.	Rezultatele teoretice și practice ale formulării optime de picături auriculare combinate cu conținut de NIC, PIR și EP .....	145
Tabelul 3.32.	Componența formulării optimale .....	145
Tabelul 4.1.	Rezultatele analizei prin cromatografie pe strat subțire a substanțelor individuale .....	150
Tabelul 4.2.	Rezultatele analizei prin CSS a amestecului mecanic și formei farmaceutice .....	151
Tabelul 4.3.	Valorile maximelor de absorbție ale substanțelor medicamentoase din picături .....	151
Tabelul 4.4.	Rezultatele determinării cantitative a IHF și MU din picături auriculare prin metoda spectrofotometrie UV-VIS .....	153
Tabelul 4.5.	Analiza de regresie în studiile de linearitate .....	155
Tabelul 4.6.	Determinarea IHF și MU picături auriculare (serii experimentale) prin metoda elaborată și validată .....	159
Tabelul 4.7.	Rezultatele analizei prin CSS a substanțelor în amestec mecanic și formă farmaceutică .....	161
Tabelul 4.8.	Ariile picurilor și timpii de retenție ale principalelor componente din UVB standard, substanță farmaceutică și picături auriculare, determinate prin metoda GC .....	170
Tabelul 4.9.	Analiza de regresie în studiile de linearitate .....	179
Tabelul 4.10.	Determinarea NIC și PIR în capsule (serii experimentale) prin metoda elaborată și validată .....	180
Tabelul 5.1.	Mortalitatea și toxicitatea acută la șoricei CIP+EC+UVB .....	205
Tabelul 5.2.	Toxicitatea acută a CIP+EC+UVB la administrarea perorală la șoareci după metoda Kurber .....	205
Tabelul 5.3.	Toxicitatea acută la șobolani CIP+EC+UVB .....	206
Tabelul 5.4.	Determinarea clasei de toxicitate a produsului CIP+EC+UVB conform TG 423: Acute Toxic Class Method (OECD) pentru administrarea enterală .....	206
Tabelul 5.5.	Mortalitatea și toxicitatea acută la șoricei IHF+MU .....	208
Tabelul 5.6.	Mortalitatea și toxicitatea acută la șoricei NIC+PIR+EP .....	208
Tabelul 5.7.	Toxicitatea acută la șobolani IHF+MU și NIC+PIR+EP .....	209
Tabelul 5.8.	Determinarea clasei de toxicitate a produsului IHF+MU și NIC+PIR+EP conform TG 423: Acute Toxic Class Method (OECD) pentru administrarea enterală .....	209
Tabelul 5.9.	Inofensivitatea ototoxică a picăturilor auriculare cu IHF și MU și a capsulelor cu NIC, PIR și EP .....	211
Tabelul 5.10.	Inofensivitatea ototoxică a picăturilor auriculare cu CIP, EC și UVB .....	212
Tabelul 5.11.	Activitatea antioxidantă a extractului uscat de păducel și a capsulelor combinate, determinată prin metodele DPPH și ABTS .....	218

## LISTA FIGURILOR

Nr. figurii	Denumirea figurii	Pag.
Figura 2.1.	Elementele cheie ale metodologiei QbD .....	65
Figura 2.2.	Schema tipică de dezvoltare preclinică a medicamentelor după Steinmetz.	66
Figura 2.3.	Metodologia de cercetare/dezvoltare preclinică a produselor farmaceutice combinate aplicată în lucrare .....	68
Figura 2.4.	Vâscozimetrul relațional MultiVisc Rheometer, Fungilab .....	71
Figura 3.1.	Numărul și ponderea fiecărui tip de preparate combinate înregistrate în Republica Moldova .....	85
Figura 3.2.	Cota preparatelor înregistrate din grupul „Organe senzitive” .....	85
Figura 3.3.	Ponderea remediilor combinate otologice pe piața farmaceutică a Republicii Moldova .....	86
Figura 3.4.	Vasodilatatoare după tipul formei farmaceutice în Republica Moldova (la data de 01.09.2023) .....	89
Figura 3.5.	Nootrope după tipul formei farmaceutice în Republica Moldova (la data de 01.09.2023) .....	89
Figura 3.6.	Picături auriculare după apartenența la grupele farmacoterapeutice .....	90
Figura 3.7.	Termograma DSC a substanțelor medicamentoase individuale (IHF și MU) și a amestecului lor binar 1:1 (m/m) .....	92
Figura 3.8.	Termogramele DSC ale substanțelor medicamentoase individuale (CIP și EC) (a, b) și a amestecului lor binar 1:1 (c) (m/m) .....	93
Figura 3.9.	Termogramele DSC ale substanțelor medicamentoase (IHF și MU), PEG-ului 400 și ale amestecurilor binare dintre substanțe medicamentoase cu PEG 400 1:1 (m/m) .....	94
Figura 3.10.	Termogramele DSC ale substanțelor medicamentoase (IHF și MU), PG și ale amestecurilor binare dintre substanțe medicamentoase cu PG 1:1 (m/m) .....	94
Figura 3.11.	Termogramele DSC ale PEG-ului 400 (a) și ale amestecurilor binare 1:1 (m/m) dintre CIP+PEG 400 (b) și EC+PEG 400 (c) .....	95
Figura 3.12.	Termogramele DSC ale PSului (a) și ale amestecurilor binare 1:1 (m/m) dintre CIP+PS (b) și EC+PS (c) .....	95
Figura 3.13.	Spectrele FT-IR ale substanțelor medicamentoase individuale (IHF și MU) și ale amestecurilor lor binare 1:1 (m/m) .....	96
Figura 3.14.	Spectrele FT-IR ale substanțelor medicamentoase individuale (CIP (a), EC (b) și UVB (c)) și ale amestecurilor lor binare 1:1 (m/m): CIP+EC (d), CIP+UVB (e), EC+UVB (f) .....	97
Figura 3.15.	Spectrele FT-IR ale amestecurilor binare dintre substanțe medicamentoase IHF cu PEG 400 (a); MU cu PEG 400 (b); 1:1 (m/m) ...	98
Figura 3.16.	Spectrele FT-IR ale amestecurilor binare dintre substanțe medicamentoase IHF cu PG (a); MU cu PG (b); 1:1 (m/m) .....	98
Figura 3.17.	Spectrele FT-IR ale amestecurilor binare dintre substanțele medicamentoase IHF cu Nipagină (a); MU cu Nipagină (b); 1:1 (m/m) ..	99
Figura 3.18.	Spectrele FT-IR ale amestecurilor binare dintre substanțele medicamentoase CIP cu PEG 400 (a); EC cu PEG 400 (b); 1:1 (m/m);UVB cu PEG 400 (c) .....	99

Nr. figurii	Denumirea figurii	Pag.
Figura 3.19.	Spectrele FT-IR ale amestecurilor binare dintre substanțele medicamentoase CIP cu PS (a); EC cu PS (b); 1:1 (m/m); UVB cu PS (c)	100
Figura 3.20.	Reogramele vâscozității în funcție de viteza de forfecare la $25\pm 0,1^{\circ}\text{C}$ și $37\pm 0,1^{\circ}\text{C}$ pentru formulările 1-6 de picături cu IHF și MU	102
Figura 3.21.	Reogramele tensiunii de forfecare în funcție de viteza de forfecare la $5\pm 0,1^{\circ}\text{C}$ și $37\pm 0,1^{\circ}\text{C}$ pentru formulările 1-6 de picături cu IHF și MU	103
Figura 3.22.	Cedarea MU și IH din picături auriculare prin membrană semipermeabilă	104
Figura 3.23.	Cedarea MU și IHF din picături auriculare prin membrană naturală: intestin de porc	105
Figura 3.24.	Cedarea MU și IHF din picături auriculare prin membrană naturală: ureche de porc	105
Figura 3.25.	Reogramele vâscozității în funcție de viteza de forfecare la temperatura de $25\pm 0,1^{\circ}\text{C}$ și $37\pm 0,1^{\circ}\text{C}$ pentru formulările cercetate de picături cu CIP, EC și UVB	108
Figura 3.26.	Reogramele tensiunii de forfecare în funcție de viteza de forfecare la $25\pm 0,1^{\circ}\text{C}$ și $37\pm 0,1^{\circ}\text{C}$ pentru formulările 1-4 de picături cu CIP, EC și UVB	109
Figura 3.27.	Cedarea CIP și EC din picături auriculare prin membrană semipermeabilă	110
Figura 3.28.	Cedarea CIP și EC din picăturile auriculare prin membrană naturală: intestin de porc	110
Figura 3.29.	Rezultatele cedării CIP și EC din picături auriculare prin membrană naturală: ureche de porc	111
Figura 3.30.	Comportamentul termic al NIC+PIR (a), NIC+EP (b) și PIR+EP (c)	113
Figura 3.31.	Spectrele FT-IR ale NIC, PIR și EP în regiunea $1800 - 650 \text{ cm}^{-1}$	116
Figura 3.32.	Spectrele FT-IR ale amestecurilor NIC/PIR (a), NIC/EP (b) și PIR/EP (c) în regiunea $4000 - 650 \text{ cm}^{-1}$	117
Figura 3.33.	Spectrele FT-IR ale excipienților: LM (a), AGS (b) și SM (c) în regiunea $4000 - 650 \text{ cm}^{-1}$	117
Figura 3.34.	Spectrele FT-IR ale amestecurilor: NIC/LM (a), NIC/AGS (b) și NIC/SM (c) în regiunea $4000 - 650 \text{ cm}^{-1}$	118
Figura 3.35.	Spectrele FT-IR ale amestecurilor: PIR/LM (a), PIR/AGS (b) și PIR/SM (c) în regiunea $4000 - 650 \text{ cm}^{-1}$	119
Figura 3.36.	Spectrele FT-IR ale amestecurilor: EP/LM (a), EP/AGS (b) și EP/SM (c) în regiunea $4000 - 650 \text{ cm}^{-1}$	120
Figura 3.37.	Difractogramele XRPD ale substanțelor active individuale și ale amestecurilor lor mecanice: NIC/PIR (a), NIC/EP (b), EP/PIR (c)	121
Figura 3.38.	Difractogramele XRPD ale amestecurilor mecanice pentru NIC cu: LM(a), AGS (b) și SM (c)	122
Figura 3.39.	Difractogramele XRPD ale amestecurilor mecanice pentru PIR cu: LM (a), AGS (b) și SM (c)	122
Figura 3.40.	Difractogramele XRPD ale amestecurilor mecanice pentru EP cu: LM (a), AGS (b) și SM (c)	123
Figura 3.41.	Profilurile de dizolvare ale NIC în mediul acid din cele 4 formulări	128
Figura 3.42.	Profilurile de dizolvare a NIC în mediul neutru din cele 4 formulări	129
Figura 3.43.	Profilurile de dizolvare ale PIR în mediul acid din cele 4 formulări	130

Nr. figurii	Denumirea figurii	Pag.
Figura 3.44.	Profilurile de dizolvare ale PIR în mediul neutru din cele 4 formulări . . . .	131
Figura 3.45.	Influența factorilor de formulare asupra vâscozității la $25\pm 0,1^{\circ}\text{C}$ și la $37\pm 0,1^{\circ}\text{C}$ . . . . .	134
Figura 3.46.	Suprafețele de răspuns ale factorilor de formulare și vâscozității (a – $25\pm 0,1^{\circ}\text{C}$ ; b – $37\pm 0,1^{\circ}\text{C}$ ) . . . . .	134
Figura 3.47.	Influența factorilor de formulare asupra coeficienților de difuzie a IHF și MU . . . . .	135
Figura 3.48.	Suprafețele de răspuns ale factorilor de formulare și coeficienților de difuzie a IHF (a) și MU (b) . . . . .	135
Figura 3.49.	Influența factorilor de formulare asupra pH-ului și suprafețele de răspuns ale factorilor de formulare și pH-ul formei farmaceutice . . . . .	136
Figura 3.50.	Influența factorilor de formulare asupra vâscozității la $25\pm 0,1^{\circ}\text{C}$ și la $37\pm 0,1^{\circ}\text{C}$ . . . . .	138
Figura 3.51.	Suprafețele de răspuns ale factorilor de formulare și vâscozității (a – $25\pm 0,1^{\circ}\text{C}$ ; b – $37\pm 0,1^{\circ}\text{C}$ ) . . . . .	138
Figura 3.52.	Influența factorilor de formulare asupra coeficienților de difuzie a CIP și EC . . . . .	139
Figura 3.53.	Suprafețele de răspuns ale factorilor de formulare și coeficienților de difuzie a CIP și EC . . . . .	139
Figura 3.54.	Influența factorilor de formulare și suprafețele de răspuns ale pH-ului formei farmaceutice . . . . .	140
Figura 3.55.	Influența factorilor de formulare asupra indicilor Carr și Hausner . . . . .	142
Figura 3.56.	Suprafețele de răspuns ale factorilor de formulare și ale indicilor Carr (a) și Hausner (b) . . . . .	143
Figura 3.57.	Influența factorilor de formulare asupra constantelor de dizolvare ale NIC și PIR . . . . .	144
Figura 3.58.	Suprafețele de răspuns ale factorilor de formulare și ale constantelor de dizolvare ale NIC (a) PIR (b) . . . . .	144
Figura 4.1.	Spectrele de absorbție UV-VIS ale soluțiilor standard și probă de IHF $5\mu\text{g/ml}$ (a) și ale soluțiilor standard și probă de MU $10\mu\text{g/ml}$ (b) din picături combinate cu IHF și MU . . . . .	152
Figura 4.2.	Cromatogramele soluțiilor standard și probă: IHF (A, $360\text{ nm}$ ) și MU (B, $240\text{ nm}$ ) la $360\text{ nm}$ (IHF, C) și $240\text{ nm}$ (MU, D) . . . . .	156
Figura 4.3.	Cromatogramele soluției placebo la $360\text{ nm}$ (A) și $240\text{ nm}$ (B) . . . . .	157
Figura 4.4.	Cromatogramele probelor expuse la condiții de stres hidrolitic acid (A1 și A2), oxidare (O1 și O2), temperatură (T1 și T2) . . . . .	158
Figura 4.5.	Cromatogramele probelor expuse la condiții de stres hidrolitic basic (B1 și B2), lumină (L1 și L2) . . . . .	158
Figura 4.6.	Spectrele de absorbție UV-VIS ale soluțiilor standard și probă de CIP $10\mu\text{g/ml}$ (a), ale soluțiilor standard și probă de EC $10\mu\text{g/ml}$ (b) și a soluției placebo din picături combinate cu CIP, EC și UVB . . . . .	162
Figura 4.7.	Spectrul de masa și cromatogramele uleiului volatile de busuioc . . . . .	163
Figura 4.8.	Spectrele de absorbție ale CIP (a) și EC (b) în studiile de linearitate . . . . .	164
Figura 4.9	Graficele de etalonare ale soluțiilor standard de CIP (a) și EC (b) (n=3 determinări) . . . . .	164

Nr. figurii	Denumirea figurii	Pag.
Figura 4.10.	Gaz- Cromatogramele standardelor de linalool, camfor și $\alpha$ -terpineol (a); standardului de UVB (b); UVB substanță farmaceutică (c) și a soluției probă de picături auriculare cu conținut de CIP, EC și UVB (c) . . . . .	169
Figura 4.11.	Spectrele de absorbție ale soluțiilor standard de PIR (a) și NIC (b) în soluție metanolică de HCl 0,1 M la determinarea linearității . . . . .	174
Figura 4.12.	Dreptele de etalonare ale soluțiilor standard de PIR (a) și NIC (b) (n=3 determinări) . . . . .	175
Figura 4.13.	Cromatogramele soluției standard de rutozidă (A), a soluției standard de EP (B) și a soluției probă din capsule combinate (C) . . . . .	182
Figura 4.14.	Modificările concentrației IHF și MU în urma hidrolizei acide (a) și bazice (b) . . . . .	184
Figura 4.15.	Modificările concentrației IHF și a MU în urma stresului oxidativ (a) și fotolitic (b) . . . . .	185
Figura 4.16.	Modificările concentrației IHF și MU în urma stresului termic 40 <sup>0</sup> C și 60 <sup>0</sup> C . . . . .	186
Figura 4.17.	Modificarea concentrației clorhidratului de ciprofloxacina și a nitratului de econazol în urma hidrolizei acide (a) și bazice (b) . . . . .	189
Figura 4.18.	Modificarea concentrației clorhidratului de ciprofloxacina și a nitratului de econazol în urma stresului oxidativ și fotolitic (oxidant sol. H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 3% (a) și sol. H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 35% (b); stres fotolitic (c) . . . . .	189
Figura 4.19.	Modificările concentrației clorhidratului de ciprofloxacina și a nitratului de econazol în urma stresului termic la 40 <sup>0</sup> C(a) și 60 <sup>0</sup> C (b) . . . . .	190
Figura 4.20.	Modificările concentrației în urma stresului oxidativ (oxidant sol. H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 5%) (1), stresului fotolitic (2) și stresului termic . . . . .	196
Figura 4.21.	Modificările concentrației rutozidei în EP din componența capsulelor supuse stresului fotolitic, oxidativ și termic . . . . .	196
Figura 5.1.	Acțiunea bactericidă (a) și bacteriostatică (b) a picăturilor auriculare cu IHF și MU comparativ cu amestecul mecanic de IHF și MU . . . . .	214
Figura 5.2.	Acțiunea bacteriostatică a picăturilor auriculare combinate cu CIP+EC+UVB, amestecului mecanic CIP+EC și amestecului mecanic CIP+EC+UVB, după expoziția de 24 și 48 ore (a) și 120 ore (b) . . . . .	215
Figura 5.3.	Acțiunea fungistatică a picăturilor auriculare combinate cu CIP+EC+UVB, amestecului mecanic cu CIP+EC și amestecului mecanic cu CIP+EC+UVB, după expoziția de 24 ore (a), 48 ore (b), 120 (c) ore . . . . .	216
Figura 5.4.	Graficul de etalonare pentru Trolox . . . . .	218

## LISTA ABREVIERILOR

ABTS	– Acidul 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfonic)
ACC	– Atribute critice de calitate
ADN	– Acidul dezoxiribonucleic
AGS	– Amidon glicolat de Sodiu
AMDM	– Agenția Medicamentelor și Dispozitivelor medicale
API	– Active Pharmaceutical Ingredient (Ingredient farmaceutic activ)
ARN	– Acidul ribonucleic
BACTEC	– Sistem pentru identificarea bacteriilor și fungilor în sânge („Bacterial Alert”)
BP	– Bulion peptonat
CAE	– Conductul auditiv extern
CEEPUS	– Central European Exchange Program for University Studies (Programul de Schimb Central European pentru Studii Universitare)
CI	– Confidence interval (Interval de încredere)
CIP	– Clorhidrat de Ciprofloxacina
CMA	– Critical material attributes (Atributele materiale critice)
CMI	– Concentrație minimă inhibitoare
CO <sub>2</sub>	– Dioxid de carbon
COVID-19	– Boala coronavirus 2019
CPP	– Critical process parameters (Parametrii critici de proces)
CQA	– Critical quality attributes (Atribute critice de calitate)
CSS	– Cromatografia pe strat subțire
CȘM	– Centrul Științific al Medicamentului
DAN	– Documentația analitică de normare a calității
DMFA	– Dimetilformamidă
DoEs	– Design-ul Experimentelor
DPOEA	– Distortion product otoemission (Otoemisiune pe produs de distorsiune)
DPPH	– 2,2 Diphenylpicrylhydrazil Radical Scavenging Capacity (Capacitatea de eliminare a radicalilor 2,2 Difenilpicridhidrazil)
DSC	– Differential scanning calorimetry (Calorimetrie cu scanare diferențială)
EC	– Nitrat de Econazol
EDTA	– Acidul etilendiamintetraacetic
EI	– Excipienții individuali
EMA	– European Medicines Agency (Agenția Europeană a Medicamentelor)



EP	– Extract de păducel
FDA	– Food and Drug Administration (Administrația pentru Alimente și Medicamente)
FDC	– Fixed Doses Combinations (Combinatii cu doze fixe)
FQN	– FluoroQuinolones (Fluorochinolone)
FT-IR	– Fourier Transform Infrared Spectroscopy (Spectroscopia în infraroșu cu transformare Fourier)
GC	– Gas Chromatography (Cromatografia de gaze)
GMP	– Good Manufacturing Practice (Bună practică de fabricație)
HESI	– High Energy electroSpray Impact (Impact de electrospray de înaltă energie)
HIV	– Human Immunodeficiency Virus (Virusul imunodeficienței umane)
HPLC	– High Performance Liquid Chromatography (Cromatografia de lichide de înaltă performanță)
DAD	– Diode Array Detection (Detecție cu matrice de diode)
ICH	– International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (Conferința internațională privind armonizarea cerințelor tehnice pentru înregistrarea produselor farmaceutice de uz uman)
ICH Q2(R1)	– Ghid ICH pentru Validarea procedurilor analitice: text și metodologie
IHF	– Izohidrafural
IQR	Interquartile range (Intervalul intercuartil)
IR	– Infraroșu
LD <sub>0</sub>	– Lethal dose 0 (Doză letală 0, Lipsa letalității)
LEASM	– Laboratorul de Elaborare, analiză și standardizarea medicamentelor
LM	– Lactoză Monohidrat
LOD	– Limit of Detection (Limita de detecție)
LOQ	– Limit of Quantification (Limita de cuantificare)
Me	– Mediana
MU	– Metiluracil
NIC	– Nicergilonă
OEA	– Otoemisiune acustică
OECD	– Organization for Economic Cooperation and Development (Organizația pentru Cooperare și Dezvoltare Economică)
OM	– Otomicoza
OMA	– Otita medie acută

OMCS	– Otita medie cronică supurată
OMS	– Organizației Mondiale a Sănătății
ORL	– Otorinolaringologie
OS	– Otita supurată
OTT	– Otoreea cu tub de timpanostomie
PG	– Propilenglicol
PIR	– Piracetam
PS	– Polisorbat 20
QbD	– Quality by Design (Calitate prin design)
QN	– Quinolones (Chinolone)
QTPP	– Quality target product profile (Profilului de calitate al produsului țintă)
RM	– Republica Moldova
RP-HPLC	– Reversed Phase High Performance Liquid Chromatography (Cromatografia lichidă de înaltă performanță în fază inversă)
RSM	– Response Surfaces Methodology (Metodologia Suprafețelor de Răspuns)
SD	– Standard deviation (Abaterea standard)
SIDA	– Sindromul imunodeficienței dobândite
SM	– Stearat de magneziu
SA	– Substanța auxiliară
SP	– Substanțe medicamentoase pure
SPM	– Studii preclinice a medicamentelor
SSN	– Surdității senzorieurale
SUA	– Statele Unite ale Americii
TA	– Toxicitatea acută
TEOEA	– Transient emission acoustic (Otoemisiune acustică tranzitorie)
USD	– United States Dollar (Dolarul Statelor Unite)
USMF	– Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”
UVB	– Uleiul volatil de busuioc
UV-Vis	– Ultraviolet-vizibil
$X_{max}$	– Valoarea maximă
$X_{min}$	– Valoarea minimă

## INTRODUCERE

### **Actualitatea și importanța temei abordate**

Este cunoscut faptul, că tratamentul cu un singur medicament, care vizează o anumită țintă nu mai este considerat a fi unul optimal în tratarea și gestionarea multiplelor maladii complexe, cum ar fi HIV/SIDA, diabet, boli cardiovasculare și altele. Și tot mai multe studii de specialitate relevă potențialele avantaje ale utilizării produselor farmaceutice multicomponent. Aceste avantaje se datorează direcționării multi-țintă, raportului fix de doze în combinațiile de medicamente, care concomitent au capacitatea de a reduce multitudinea factorilor de risc fără a crește rata efectelor adverse. Drept obiective de bază în dezvoltarea unor combinații de medicamente cu doze fixe pot fi considerate așa concepte, ca tratamentul a doua boli înrudite, precum și tratamentul insuficient al unor categorii de pacienți cu doze optime de monoterapie.

În prezent, medicamentele multicomponent reprezintă aproximativ o treime din medicamentele utilizate în practica generală și o cincime din terapia spitalicească. Pretinsele dezavantaje ale unor astfel de produse sunt deja în mare parte teoretice sau doctrinare, iar discriminarea împotriva medicamentelor combinate este discutabilă și nu ar trebui să împiedice o zonă potențial utilă de cercetare terapeutică. Mai multe produse combinate recente au realizat progrese notabile în terapie și sugerează, că acest lucru ar putea fi extins fără a implica mari costuri în procesul de elaborare. Numărul de produse multicomponent cu doze fixe elaborate anual a crescut de la 12 în 1980 la 25 în 1990 și la 58 în 2000 [207, 94].

Medicamentele multicomponent trebuie să corespundă anumitor criterii: principiile active individuale ar trebui să acționeze prin mecanisme diferite, fiind capabili să asigure efect aditiv sau sinergism de acțiune prin reducerea dozelor necesare ale agenților individuali; farmacocinetica lor nu trebuie să fie foarte diferită; asocierea componentelor nu trebuie să manifeste o toxicitate supraadăugată. Terapia cu mai multe componente poate părea mai costisitoare decât mono-terapia pe termen scurt, dar are economii semnificative pe termen lung, cauzate de rata mai mică de eșecuri în tratament, dezvoltarea mai lentă a rezistenței, care invocă în consecință costurile mai mici de tratament [38].

Succesul în crearea și dezvoltarea medicamentelor combinate necesită o abordare multilaterală incluzând următoarele: 1) paradigme de tratament în zona terapeutică; 2) complianța pacientului și impactul medicației personalizate; 3) variabilitatea pieței și a prețurilor; 4) dezvoltarea preclinică, farmaceutică și producerea industrială; 5) competiția de proprietate intelectuală; și 6) strategii de dezvoltare și de reglementare clinică [24].

Procesul de elaborare a medicamentelor combinate este unul extrem de complex și specific,

fiind influențat de numărul de componente, proprietățile fizico-chimice individuale, incompatibilitatea principiilor active sau interacțiunea lor, diferențe în profilurile de cedare, dimensiunea diferită a particulelor, dificultăți în elaborarea metodelor de analiză, etc. Toate aceste aspecte sunt specificate în principalele ghiduri europene și ale FDA privind combinațiile cu doze fixe de medicamente [79, 80, 291].

Pentru viitor se prognozează aplicarea tot mai mare a terapiei cu produse farmaceutice multicomponent, având ca scop un tratament de corecție pe termen lung, prin elaborarea unor forme farmaceutice cu sisteme complexe de eliberare a principiilor active pentru a minimaliza toxicitatea medicamentului, a reduce complicațiile de supradozare și, în cele din urmă pentru a crește complianța pacientului.

Aspectele expuse se referă totalmente și la o ramură mai îngustă a medicinei – otorinolaringologia (ORL), în special maladiile urechii. Creșterea alarmantă în ultimele decenii a numărului de persoane, care se confruntă cu diverse probleme ale aparatului auditiv generează discuții și cercetări în vederea sporirii eficacității tratamentului medicamentos. Scheme și metode de tratament cu diverse combinații medicamentoase sunt aplicate și în ORL, iar volumul indicațiilor terapeutice depinde de etapa maladiei: în faza acută preponderent farmacoterapie etiotropă și simptomatică, inclusiv cu preparate combinate; în faza subacută – diverse manipulări invazive și terapie medicamentoasă cu includerea în complex a imunomoduloarelor; în cazul unui proces cronic se adaugă metodele chirurgicale și remedii medicamentoase complexe. Astfel, intensitatea și calitatea terapiei la fiecare etapă determină succesul tratamentului, iar farmacoterapia contemporană a afecțiunilor ORL impune utilizarea preparatelor antibacteriene, antifungice, antiinflamatoare, desensibilizante, imunomodulatoare și simptomatice combinate [333, 358].

Aproximativ 7 mil de oameni anual pe Glob (2,57%) cauzează infecții ale urechii. La peste 50% din pacienții diagnosticați cu infecții auriculare se atestă și o infectare micotică secundară a organelor ORL, fiind în corelare cu zona geografică, condițiile climatice sau mediul de viață (temperatură, umiditate relativă), anotimp. Afectarea micotică primară a organelor ORL la fel este extrem de actuală. Conform datelor OMS, 20% din populația globului, adică fiecare a cincea persoană, este afectată de o infecție micotică. Aceasta se datorează varietății și răspândirii vaste a fungilor în natură. [351, 316]. Este destul de dificil de a stabili metode eficiente de tratament ale afecțiunilor micotice auriculare, în pofida administrării remediilor medicamentoase contemporane antimicotice, deoarece acestea sunt provocate de fungile condiționat-patogene ale genului *Candida*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Scopulariopsis*, *Mucor*, care dezvoltă otomicoze numai în prezența factorilor predispozanți. De asemenea micozele adesea se asociază cu o infecție secundară

însoțită și de manifestările inflamației [49].

În Republica Moldova incidența totală prin bolile urechii se află la cote sporite. Potrivit statisticilor oficiale, prevalența generală ale afecțiunilor inflamatorii ale urechii constituie, anual, 105 la 10 000 de locuitori. Pana la 1,5%–4% din populație suferă de diferite forme ale otitei medii cronice supurate. Cel puțin 30% din populație măcar o dată în viață a suferit de puseu de otită medie acută [217].

Surditatea și pierderea auzului sunt o problemă de sănătate de proporții pandemice și se va agrava pe măsură ce populația lumii îmbătrânește. Potrivit Organizației Mondiale a Sănătății (OMS), peste 1,5 miliarde de oameni, sau 1 din 5 din populația globală, suferă de pierdere a auzului. Acest număr va crește la aproape 2,5 miliarde până în 2050, cel puțin 700 de milioane dintre acești oameni se confruntă cu o pierdere a auzului invalidantă (pierdere auzului mai mare de 35 de decibeli) [108].

În Republica Moldova această problemă este actuală și impune dificultăți în soluționarea unor aspecte ale patologiei date, cum ar fi diagnosticul genetic și corijarea precoce ale formelor genetice de surditate. La evidenta specialiștilor în republică sunt peste 2000 copii și peste 10 000 adulți cu surditate sensorineurală [1].

Dificultatea identificării mecanismului de apariție a surdității a determinat imposibilitatea stabilirii, până în prezent, a unui tratament eficient, care să asigure cu certitudine o recuperare auditivă satisfăcătoare după administrare. Se utilizează scheme de tratament simptomatic cu aplicarea remediilor vasodilatatoare, antiinflamatoare, neurotonice, antivirale, antioxidanți ș.a. Astfel se impune necesitatea realizării unor noi cercetări în vederea perfecționării strategiei terapeutice a sindromului de hipoacuzie sensorineurală [132, 220, 358].

Studierea pieței farmaceutice autohtone și mondiale a demonstrat lipsa unor combinații cu doze fixe destinate tratamentului surdității și prezența unui număr foarte redus de medicamente combinate utilizate în tratamentul otitelor și otomicozelor. Majoritatea din ele se prezintă sub formă de unguente sau creme, și doar un număr mic de remedii se prezintă sub formă de picături auriculare (formă farmaceutică topică indicată pentru tratamentul infecțiilor bacteriene și micotice). În dependență de etiologia, patogeneză și localizarea maladiei auriculare, una dintre cele mai des utilizate forme farmaceutice pentru tratamentul acestor afecțiuni sunt picăturile auriculare combinate [202].

### **Scopul cercetării**

Studiul preclinic complex privind elaborarea unor produse farmaceutice combinate sub formă de picături auriculare și capsule pentru tratamentul afecțiunilor urechii.

### **Obiectivele cercetării**

1. Evaluarea pieței farmaceutice autohtone a produselor auriculare;
2. Argumentarea teoretică și experimentală a metodologiei de elaborare a combinațiilor cu doză fixă de medicamente cu aplicație în tratamentul otitelor, otomicozelor și surdității;
3. Cercetarea compatibilității și a stabilității principiilor active izohidrafural (IHF), metiluracil (MU), clorhidrat de ciprofloxacina (CIP), nitrat de econazol (EC), ulei volatil de busuioc (UVB), nicergolină (NIC), piracetam (PIR) și extract uscat de păducel (EP) în combinații sub formă de amestecuri mecanice;
4. Studii de preformulare cu evaluarea disponibilității farmaceutice a picăturilor auriculare cu IHF și MU, cu CIP, EC și UVB, și a capsulelor combinate cu NIC, PIR și EP.
5. Optimizarea formulării și elaborarea tehnologiei de fabricație, a metodelor de analiză, standardizarea picăturilor auriculare și a capsulelor combinate elaborate;
6. Studii de inofensivitate prin determinarea toxicității acute și a ototoxicității picăturilor auriculare și a capsulelor combinate elaborate.
7. Cercetarea activității antimicrobiene și antifungice pentru picăturile auriculare;
8. Evaluarea activității antioxidante a capsulelor combinate cu NIC, PIR și EP.

### **Ipoteza de cercetare**

Pornind de la actualitatea tematicii investigate, elaborarea unor preparate medicamentoase combinate originale, care ar soluționa o bună parte din problemele evidențiate este de o importanță majoră, fiind și o contribuție complexă în cercetarea farmaceutică autohtonă. Astfel, ideea unei etiologii vasculare a surdității brusc instalate, ca fiind una dintre cele mai probabile, cunoscută fiind vascularizația de tip terminal a cohleei și dependența acesteia de un singur ram terminal al arterei labirintice, precum și afectarea directă a nervului auditiv în hipoacuzia senzorieală a condus la argumentarea asocierii unui agent vasodilatator cu unul nootrop, precum și potențarea acțiunii acestora prin asocierea cu un antioxidant de origine vegetală cu tropism asupra celulelor neuronale. Asocierea infecțiilor bacteriene cu cele fungice dictează necesitatea combinării unei substanțe antibacteriene și a unui antifungic într-o formă topică, pentru atingerea unui efect terapeutic complex. Tratamentul complex al otitelor necesită o combinație dintre un antibacterian și un regenerant, care ar facilita procesul de vindecare a leziunilor cauzate de supurație.

### **Sinteza metodologiei de cercetare și justificarea metodelor de cercetare**

Principiile de cercetare multidisciplinară în farmacie au constituit bazele metodologice pentru acest studiu [59, 79].

În corelare cu conceptele de medicație modernă a patologiilor ORL [50] și principiile

generale ale metodologiei cercetării științifice farmaceutice (drug development) [366, 213] au fost fundamentate conceptele de elaborare a combinațiilor cu doze fixe de principii active în domeniul ORL, în premieră pentru Republica Moldova. Principiile de compatibilitate fizico-chimică, farmacologică și terapeutică a substanțelor medicamentoase în combinații [79] au servit ca reper pentru elaborarea schemei de principiu de cercetare/elaborare/dezvoltare a unui produs farmaceutic combinat (Figura 2.3).

A fost aplicat cu succes conceptului de Calitate prin Proiectare (Quality by Design, QbD) în proiectarea inteligentă, asistată de calculator (Computer Intelligent Drug Formulation Design) a formulărilor farmaceutice. Metodologia QbD permite o abordare sistematică a dezvoltării medicamentelor pentru a îmbunătăți calitatea prin metode analitice și de gestionare a riscurilor în timpul proiectării, dezvoltării și producției de noi medicamente. La baza abordării QbD stă principiul îmbunătățirii continue. Strategia de implementare QbD pledează pentru o abordare sistematică a dezvoltării produsului, începând cu obiective predefinite și punând accent pe controlul produsului și înțelegerea proceselor bazate pe știință solidă. Design-ul Experimentelor (DoEs) și Metodologia Suprafețelor de Răspuns (RSM) sunt componente valoroase ale acestei paradigme pentru a produce un spațiu de proiectare pentru variabilele de intrare ale formulării.

Ghidurile Europene cu referire la studiile de inofensivitate și principiile studiilor de toxicitate au servit ca bază metodologică pentru realizarea cercetărilor preclinice [210].

În studiile analitice și tehnologice au fost utilizate substanțe medicamentoase, excipienți, standardele de referință de calitate farmaceutică, cu certificate de calitate, fiind procurate de la companii autorizate. În studiile de optimizare a formulărilor s-au utilizat tehnici de analiză a suprafețelor de răspuns (Response Surface Methodology RSM), tehnici de analiză statistică regresională, factorială, etc. pentru reducerea variabilității produselor finale. În cercetările orientate spre studierea proprietăților fizico-chimice, de compatibilitate și de stabilitate, precum și de preformulare, formulare și standardizare au fost elaborate tehnici de determinare specifice produselor cercetate, cu utilizarea metodelor fizico-chimice: analiza termică DSC, difracție cu raze X, spectrometria de masă, cromatografia în strat subțire (CSS), cromatografia de lichide de înaltă performanță (HPLC), cromatografia de gaze (GC), spectroscopia FT-IR, spectrofotometria UV-VIS. Au fost aplicate metode farmaceutice de evaluare a calității și standardizare pentru picături auriculare și capsule. Validarea metodelor de analiză și studiile de stabilitate au fost realizate în conformitate cu ghidurile ICH și rigorile Farmacopeii Europene [123, 124, 125, 82].

Rezultatele cantitative au fost prelucrate prin metode statistice, conform prevederilor Farmacopeii Europene, folosind modele matematice: MS Excel 2007, Prisma 3, MPM, Origin Lab 8.0. Rezultatele experimentale au fost supuse analizei statistice descriptive, cu valorificarea

parametrilor statistici: media, intervalul de încredere 95% (CI), mediana (Me), abaterea standard (SD), abaterea intercuartilă (IQR), valoarea minimă ( $X_{\min}$ ) și maximă ( $X_{\max}$ ). S-a aplicat testul Shapiro-Wilk pentru normalitatea distribuției datelor, iar testele Kruskal-Wallis și ANOVA s-au utilizat pentru aprecierea semnificației diferențelor între grupuri. Calculele au fost efectuate, folosind IBM SPSS Statistics, versiunile 24 și 26.

### **Sumarul capitolelor tezei**

Teza este scrisă în limba română și conține următoarele compartimente: adnotare (în trei limbi), cuprins, lista de tabele, lista de figuri, lista abrevierilor, introducere, cinci capitole, concluzii și recomandări, bibliografia cu 378 de surse, 22 Anexe. Lucrarea este prezentată pe 406 pagini, inclusiv 205 pagini – text de bază, ilustrată cu 87 figuri și 53 tabele.

**Introducerea** include părțile componente în conformitate cu cerințele stabilite: actualitatea și importanța temei abordate, cu elucidarea celor mai importante realizări în cercetarea și dezvoltarea medicamentelor combinate prin prisma avantajelor, particularităților de elaborare și aplicării în tratamentul bolilor ORL; scopul și obiectivele cercetării; ipoteza de cercetare; sinteza metodologiei de cercetare și justificarea metodelor de cercetare; sumarul capitolelor tezei cu scopul de a prezenta succint imaginea asupra structurii tezei; problema științifică soluționată; noutatea și originalitatea științifică; semnificația teoretică; valoarea aplicativă a lucrării; implementarea rezultatelor științifice; aprobarea rezultatelor științifice.

**Capitolul 1**, intitulat „*Cercetarea și utilizarea produselor farmaceutice combinate*” este o sinteză a celor mai recente realizări în domeniul cercetării produselor farmaceutice combinate la nivel internațional și național. Capitolul este structurat în trei subcapitole, și vizează particularitățile de elaborare a combinațiilor cu doze fixe de medicamente, modalitățile de cercetare a compatibilității substanțelor medicamentoase în combinații, importanța cercetărilor farmacotehnologice ale produselor combinate cu aplicație topică și perorale, precum și specificul abordării procesului de analiză și standardizare a combinațiilor cu doze fixe de medicamente. A fost elucidat aspectul de utilizare a combinațiilor cu doze fixe în terapia infecțiilor bacteriene și fungice ale urechii și hipoacuziei sensorineurale. Un accent deosebit a fost pus pe principiile de selectare a substanțelor active pentru elaborarea produselor farmaceutice combinate, fiind caracterizate medicamentele cu potențial de utilizare din clasele nitrofuranilor cu acțiune antibacteriană topică, regenerantelor cu aplicare topică, fluorochinolonele în tratamentul infecțiilor auriculare, antifungicelor cu acțiune topică în tratamentul otomicozelor, vasodilatatoarelor și nootropelor în terapia surdității, precum și a produselor de origine vegetală antibacteriene, antifungice și antioxidante cu specific în farmacoterapia afecțiunilor auriculare.



**Capitolul 2 „Materiale și metode de cercetare”** expus în 5 subcapitole, tradițional cuprinde descrierea metodologiei cercetărilor în domeniul elaborării medicamentelor, bazată pe abordarea sistemică a conceptului „Quality by Design”. În acest capitol au fost descrise materialele folosite în procesul de elaborare a formelor farmaceutice auriculare (substanțe medicamentoase, substanțe farmaceutice auxiliare, standarde de referință, reagenți, solvenți). Sunt descrise metodele de analiză aplicate în procesul de cercetare și aparatajul utilizat, cu specificarea locului de petrecere a analizelor/cercetărilor, precum și metodele de studiu preclinic (toxicitate acută, ototoxicitate, acțiune antibacteriană și antifungică, acțiune antioxidantă) a produselor farmaceutice elaborate și metodele statistice de evaluare a rezultatelor obținute.

**Capitolul 3 „Preformularea, optimizarea și tehnologia produselor farmaceutice combinate pentru tratamentul unor afecțiuni auriculare”** debutează cu o analiză în ansamblu a pieței preparatelor auriculare combinate, realizată pe parcursul a zece ani, cu un accent pe sortimentul de produse otologice din țară și de peste hotare. Capitolul cuprinde o expunere a rezultatelor etapei de preformulare a produselor elaborate, cu descrierea studiilor de compatibilitate a substanțelor active între ele și cu excipienții prin metode DSC, FTIR și difracție cu raze X; a cercetărilor de biodisponibilitate *in vitro* în procesul de preformulare și a procedurilor de elaborare a picăturilor auriculare cu conținut de IHF și MU pentru tratamentul otitelor supurative, a picăturilor auriculare cu conținut de EC, CIP și UVB pentru tratamentul otomicozelor și a capsulelor combinate pentru tratamentul hipoacuziei senzorie neurale cu conținut de PIR, NIC și extract uscat de păducel. Totodată, sunt expuse rezultatele optimizării formulărilor cu aplicarea metodologiei de Drug Design (prin utilizarea softului Design Expert: design factorial și analiza suprafețelor de răspuns) și tehnologia de preparare a picăturilor auriculare și a capsulelor combinate.

**Capitolul 4 „Analiza și standardizarea formelor farmaceutice elaborate: picături auriculare și capsule combinate”** include totalitatea metodelor analitice elaborate pentru identificarea, controlul purității, determinarea cantitativă a principiilor active din formele farmaceutice - picături auriculare și capsule combinate: identificarea principiilor active prin reacții chimice și metode fizico-chimice, studii de puritate prin cromatografie pe strat subțire, dozarea prin metodele spectrofotometrică UV-Vis, HPLC, GC, validarea metodelor de dozare în conformitate cu ghidurile ICH. În acest capitol un loc aparte îi revine studiilor de stabilitate prin metode accelerate și în timp real a celor trei produse combinate elaborate, cu determinarea termenului de valabilitate. La finele capitolului este redat procesul de standardizare a formelor farmaceutice în conformitate cu rigorile farmacopeice și elaborarea DAN pentru cele trei produse:

Monografii farmaceutice și Regulamente de producere.

**Capitolul 5 „Studii de inofensivitate și eficacitate a picăturilor auriculare combinate și a capsulelor elaborate”** este dedicat cercetărilor preclinice farmacologice, fiind expuse rezultatele studiilor de toxicitate acută și ototoxicitate pentru toate trei produse, cercetarea activității antibacteriene a picăturilor auriculare cu conținut de IHF și MU, cercetarea activității antibacteriene și antifungice a picăturilor auriculare cu conținut de CIP, EC și UVB, studiul activității antioxidante a capsulelor combinate cu NIC, PIR și EP.

#### **Problema științifică soluționată**

Cercetările experimentale efectuate au stat la baza dezvoltării și fundamentării conceptului de elaborare a combinațiilor cu doze fixe de principii active de origine sintetică și naturală, implementarea căruia asigură realizarea cercetărilor farmaceutice multilaterale de dezvoltare a medicamentelor combinate. În mod particular, funcționalitatea acestui concept a fost demonstrată prin aplicare în elaborarea produselor combinate pentru terapia unor maladii auriculare.

#### **Noutatea și originalitatea științifică**

În premieră a fost argumentat teoretic și elaborat conceptul de abordare metodologică a procesului de elaborare a unor combinații cu doză fixă de medicamente cu aplicație în tratamentul otitelor, otomicozelor și surdității. Analiza pieței produselor auriculare a stat la baza argumentării necesității elaborării de noi medicamente combinate cu aplicare în farmacoterapia maladiilor urechii.

În premieră au fost combinate și cercetate sub aspect de compatibilitate fizico-chimică și stabilitate substanțele medicamentoase: CIP, EC, UVB, NIC, PIR, EP, IHF, MU, și sub formă de amestecuri mecanice între ele și cu substanțele auxiliare.

Studiile de preformulare și formulare, de biodisponibilitate și optimizare efectuate s-au soldat cu elaborarea compozițiilor noi, originale de picături auriculare și capsule combinate, destinate tratamentului complex a otitelor, otomicozei și surdității.

Au fost elaborate și validate noi metode și tehnici de analiză concomitentă a principiilor active cercetate în combinații și a produselor lor de degradare. Pentru prima dată au fost evidențiate și argumentate particularitățile de standardizare a combinațiilor cu doze fixe sub formă de picături auriculare și capsule cu principiile active luate în studiu, prin elaborarea de DAN.

Prin cercetări microbiologice s-a demonstrat activitatea antibacteriană și antifungică a picăturilor auriculare elaborate, fiind elucidată capacitatea uleiului volatil de busuioc de a potența ambele acțiuni. În premieră a fost studiată ototoxicitatea IHF, MU, EC, NIC, PIR, EP, care au fost incluse în componența formelor farmaceutice elaborate. Pe cale experimentală la animale, a fost

determinată toxicitatea și demonstrată eficacitatea preparatelor combinate elaborate.

În rezultatul acestui studiu complex au fost elaborate, analizate și standardizate trei produse farmaceutice combinate originale pentru terapia maladiilor auriculare.

Cercetările originale efectuate sunt reflectate prin obținerea unui brevet de invenție, 13 certificate de inovator, 1 certificat de proprietate intelectuală, 10 acte de implementare în proces didactic, 6 acte de implementare la întreprinderi producătoare, 7 acte de implementare în procesul științifico-practic, 5 medalii de aur, 1 de argint și una de bronz, 2 premii de excelență la expoziții și saloane internaționale și naționale.

### **Semnificația teoretică**

Au fost fundamentate cunoștințele teoretice referitor la metodologia și abordarea științifică a procesului de elaborare a medicamentelor combinate prin prisma conceptelor de bază a farmacoterapiei contemporane a patologilor ORL. În rezultatul abordării multidisciplinare a procesului de combinare a substanțelor medicamentoase au fost obținute cunoștințe conceptuale noi privind compatibilitatea unor substanțe medicamentoase concrete între ele și cu excipienții formelor farmaceutice, precum și stabilitatea acestora. O importanță teoretică semnificativă prezintă și rezultatele obținute în urma elaborării de noi metode de analiză calitativă și cantitativă pentru substanțele incorporate în picături auriculare și capsule. Rezultatele obținute în cercetările microbiologice, de testare preclinică a inofensivității și eficacității preparatelor elaborate vor extinde viziunile teoretice existente a farmacoterapiei patologilor auriculare.

În baza acestor studii și a rezultatelor preconizate a fost creat un suport teoretic pentru o abordare interdisciplinară și conceptuală sistemică în aspect de cercetare preclinică a procesului de elaborare a produselor farmaceutice combinate.

### **Valoarea aplicativă a lucrării**

Argumentarea teoretică și experimentală a metodologiei de elaborare a combinațiilor cu doze fixe de medicamente cu aplicație în tratamentul otitelor, otomicozelor și surdității va servi drept suport metodologic pentru efectuarea studiilor similare în alte domenii farmacoterapeutice.

Metodele de analiză spectrale, cromatografice, termice elaborate au fost aplicate în procesul de lucru din cadrul Laboratorului Elaborare, analiză și standardizare a medicamentelor din cadrul CȘM.

Studiile proprietăților fizico-chimice, de compatibilitate ale principiilor active sub formă de amestecuri mecanice, de validare a metodelor de analiză au fost aplicate în procesul didactic la disciplinele chimie farmaceutică (manualul de Chimie farmaceutică volum I și 2 elaborări metodice) și Elaborarea medicamentelor și cercetare farmaceutică (2 elaborări metodice). Mai

multe aspecte ale cercetărilor efectuate au fost implementate în procesul didactic al studenților Facultății de Farmacie.

Rezultatele studiilor de preformulare și farmacotehnologice a picăturilor auriculare și capsulelor combinate au fost aplicate în procesul de lucru a departamentelor de cercetare/dezvoltare a întreprinderilor farmaceutice Eurofarmaco SRL, S.C. Balkan Pharmaceuticals SRL, Flumed-Farm SRL, precum și în activitatea științifico-practică a Centrului Farmaceutic Universitar „Vasile Procopișin”.

Toate cercetările efectuate au servit drept bază pentru elaborarea documentelor analitice de normare a calității pentru produsele elaborate: 3 monografii farmaceutice și 3 regulamente tehnologice, care au fost aprobate în cadrul Consiliului Științific al USMF „Nicolae Testemițanu”.

Cercetarea farmaceutică și farmaco-toxicologică a picăturilor auriculare și a capsulelor combinate elaborate servește ca suport pentru dosarele farmaceutice și preclinice de înregistrare a acestor medicamente.

### **Implementarea rezultatelor științifice**

În baza rezultatelor obținute au fost elaborate Documente analitice de normare a calității (3 Monografii farmaceutice și 3 Regulamente tehnologice), 3 curriculum ale disciplinelor și 4 recomandări metodice pentru procesul didactic de instruire a studenților la catedrele de profil a facultății de Farmacie a USMF „Nicolae Testemițanu”.

Produsele farmaceutice elaborate au fost implementate în cadrul departamentelor de cercetare-dezvoltare a întreprinderilor autohtone de producere Balkan Pharmaceuticals SRL, Flumed-Farm SRL, ICS Eurofarmaco SA, tehnologiile de obținere a picăturilor auriculare - în activitatea științifico-practică a Centrului Farmaceutic Universitar „Vasile Procopișin”, metodele de analiză, standardizare, studiile de compatibilitate și stabilitate a formelor farmaceutice noi - în cadrul laboratoarelor Centrului Științific al Medicamentelor a USMF „Nicolae Testemițanu”. Rezultatele obținute în cadrul cercetărilor sunt certificate prin acte de implementare: 10 acte de implementare în proces didactic, 6 acte de implementare la întreprinderi producătoare, 7 acte de implementare în procesul științifico-practic al CȘM și CFU.

### **Aprobarea rezultatelor științifice**

La tema tezei au fost editate 135 publicații științifice dintre care: 1 monografie; 60 articole, inclusiv 15 articole cu impact factor, 3 în reviste recunoscute în străinătate, 10 articole – categoria B și B+; 22 – categoria C; 3 – în proces de acreditare, 7 – în culegeri științifice; 1 manual de bază, 4 recomandări metodice pentru studenții. Din totalul publicațiilor, monografia, 3 articole (inclusiv 1 SCOPUS) și 4 teze sunt de singur autor, 22 articole și 26 teze – prim autor și 14 articole (inclusiv

2 cu factor de impact) și 30 teze – ultim autor.

Rezultatele cercetărilor au fost prezentate la diverse foruri științifice naționale și internaționale sub formă de rapoarte în plen/conferințe, comunicări și postere în număr de 74 participări active, confirmate prin programe și certificate de participare scanate, dintre care:

- congrese internaționale – 3 comunicări cu publicații (inclusiv 1 în plen) și 4 postere cu publicații:
  - *Al XIII-lea Congres național de farmacie*. Cluj-Napoca, 28-30.09.2006;
  - *The XIV National Congress of Pharmacy from România*. Tîrgu-Mureș, România, 13-16.10.2010;
  - *Congresul Național de Farmacie din România cu participare internațională, ediția XV-a „Viziune și inovație în practica farmaceutică Orizont 2020”*. Iași, România, 24-27.09.2014;
  - *Congresul Național de Farmacie din România, ediția a XVI-a, Farmacia – centru al interdisciplinarității științelor vieții*. București, 28.09-01.10.2016;
  - *Congresului Național de Farmacie, Ed. XVIII-a*. Universitatea din Oradea, Facultatea de Medicină și Farmacie, România, 15-17.09.2021;
  - *Congresul Național de Farmacie 2023 - Ediția a XIX-a*. Universitatea de Medicină și Farmacie „Iuliu Hațieganu” Cluj Napoca, România, 27-29.09.2023. **Raport în plen;**
- conferințe internaționale – 15 comunicări cu publicații (inclusiv 3 în plen) și 11 postere cu publicații:
  - *Конференция молодых ученых „Молодёжь — медицине будущего”, посвященная 165-летию со дня рождения В.В. Подвысоцкого*. Одесса, Украина, 19-20.04.2012;
  - *XXXI the session of the Balcan medical Days*. Chișinău, 22-24.09.2013;
  - *The 14th International Symposium and Summer School on Bioanalysis*. Bratislava – Smolenice, Slovenia, 28.06-06.07.2014;
  - *The 15th International Symposium and Summer School on Bioanalysis*. Tîrgu Mureș, România, 13-18.07.2015;
  - *Conferința națională de farmacie clinică Ediția I. „Farmacia Clinică - noi frontiere”*. București, România, 17-18.06.2016;
  - *The 16th CEEPUS Symposium and Summer School on Bioanalysis*. Warsaw, Poland, 2016.
  - *The 17<sup>th</sup> International Symposium and Summer School on Bioanalysis*. Congress Centre, Ohrid, Republic of Macedonia, 02-08.07.2017, **Raport în plen;**
  - *Conferința Națională de Farmacie Clinică, ediția a II-a „Provocări ale farmacoterapiei contemporane”*. București, România, 15-17.06.2017;
  - *The 18<sup>th</sup> International Symposium and Summer School on Bioanalysis*. Komarno, Slovakia, 25-30.06.2018;

- *The 19<sup>th</sup> International Symposium and Summer School on Bioanalysis*. Suior, Romania, 08-13.07.2019;
- *Conferința națională de Farmacie Clinică, ediția a treia „Farmacia clinică în secolul XXI”*, București, România, 19-21.09.2019;
- *Международная научно-практическая конференция “Медицинское образование XXI века: разработка модели “Университет 3.0”*. Витебск, Республика Беларусь. 01.11.2019 г. **Raport în plen**;
- *Simpozionul Național “Medicamentul de la idee la clinică”, sub egida Zilele Medicamentului*. Ediția a XXVII-a. Iași, România, 10-12.10.2019;
- *Scientific session of University academic staff*. George Emil Palade University of Medicine, Pharmacy, Science and Technology of Targu Mures, University days, Targu Mures, Romania; 09-14.12.2019;
- *The work of IV International Scientific and Practical Conference «Medical Drugs for Human. Modern Issues of Pharmacotherapy and Prescription of Medicine»*. Kharkov, Ukraine (on-line); 12-13.03.2020;
- *Международная научно-практическая конференция «Современные технологии в медицинском образовании», посвященной 100-летию Белорус. гос. мед. ун-та*. Республика Беларусь, г. Минск, 13-17.12.2021, (on-line);
- *20th International Symposium and Summer School on Bioanalysis*. The Medical School of the University, Pécs, Hungary, 24-30.06.2022;
- *21st International Symposium and Summer School on Bioanalysis*. „George Emil Palade” University of Medicine, Pharmacy, Science and Technology of Târgu Mureș, Romania, 10-15.07.2023. **Raport în plen**;
- congrese naționale cu participare internațională – 7 postere cu publicații și 2 comunicări orale fără publicații:
  - *Congresul al VI-lea al Farmaciștilor din Republica Moldova*. Chișinău, 05-06.11.2009;
  - *Congresul național consacrat aniversării a 75-a de la fondarea USMF „Nicolae Testemițanu”*. 21-23 octombrie 2020, Chișinău, Republica Moldova.
- conferințe naționale cu participare internațională – 5 comunicări (inclusiv 1 în plen) și 15 postere cu publicații; 5 comunicări fără publicații (inclusiv 2 în plen)
  - *Conferința științifică consacrată jubileului de 50 de ani de la fondarea Facultății de Farmacie și 80 de ani de la nașterea patriarhului farmaciei moldave Vasile Procopișin*. Chișinău, 31.10.2014;
  - *Conferință științifică cu genericul „Obținerea și cercetarea farmaceutică a unor noi*

*molecule și produse farmaceutice cu potențial terapeutic*". Chișinău, Republica Moldova, 31.01.2020. **Raport în plen;**

- *Conferința științifică cu participare internațională cu genericul: „Perspective în Cercetarea Produselor Farmaceutice de Origine Sintetică și Naturală”, Chișinău, Republica Moldova, 14.05.2021. **Raport în plen;***
- *Conferința științifico-practică cu participare internațională „Sistemul de asigurare a calității medicamentului – probleme și soluții”. Chișinău, Republica Moldova, 29.09.2021;*
- *Conferința Științifico-Practică Națională cu Participare Internațională „Actualități și Perspective în Studiul Farmaceutic al Plantelor Medicinale”. Chișinău, 01-02.10.2021;*
- *Conferința științifică națională cu participare internațională anuală „Cercetarea în biomedicină și sănătate: calitate, excelență și performanță”; USMF „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova, 20-22.10.2021;*
- *Conferința științifică anuală națională cu participare internațională „Cercetarea în biomedicină și sănătate: calitate, excelență și performanță”. Chișinău, Republica Moldova, 19-21.10.2022;*
- *Conferința științifică anuală națională cu participare internațională „Cercetarea în biomedicină și sănătate: calitate, excelență și performanță”. Chișinău, Republica Moldova, 18-20.10.2023.*

**Raport în plen;**

- *Conferința științifico-practică cu participare internațională ediția a 2-a, „Direcții de reformare a sistemului farmaceutic din perspectiva cursului european al Republicii Moldova”. Republica Moldova, Chișinău, 28.04.2023;*
- conferințe naționale – 2 comunicări cu publicații și 3 postere cu publicații; 2 comunicări fără publicații:
- *Conferința anuală „Zilele Universității”. Probleme medico-biologice și farmaceutice. Chișinău, Ediția a XI-a, 13-15.10.2010;*
  - *Conferința științifică națională anuală a colaboratorilor și studenților a IP USMF „Nicolae Testemițanu”. Chișinău, 15-17.10.2014;*
  - *Conferința științifico-practică cu genericul “Principii și direcțiile de dezvoltare a farmaciei moderne”. MoldMedezin. Chișinău, 12.09.2018;*
  - *Conferința științifico-practică „Abordarea sistemică – metodologie în cercetarea farmaceutică”. Chișinău, 16.04.2021;*
  - *Conferința științifico-practică a tinerilor cercetători, ediția a XII-a „Importanța consilierii pacientului în utilizarea rațională a medicamentelor”. Chișinău, 28.11.2023.*

# 1. CERCETAREA ȘI UTILIZAREA PRODUSELOR FARMACEUTICE COMBinate

## 1.1. Particularități de elaborare a combinațiilor cu doze fixe de medicamente

În ultimele decenii, industria farmaceutică a reevaluat potențialul de îmbunătățire a medicamentelor disponibile în prezent, inclusiv creșterea siguranței și eficacității utilizării acestora sau reducerea efectelor secundare ale terapiei. În special, sunt dezvoltate noi aplicații de medicamente (forme, căi de administrare) și tehnologii mai rentabile și îmbunătățite pentru producerea acestora. Importanța medicamentelor complexe care combină două sau mai multe substanțe active este în creștere. Unele studii arată că administrarea de produse combinate (combinații de substanțe active) poate fi mai eficientă decât utilizarea de substanțe active individuale în medicamente. Deși aceste îmbunătățiri pot părea o simplă modificare a medicamentelor existente, dezvoltarea unor astfel de modificări, păstrând în același timp proprietățile medicamentelor, necesită timp și cheltuieli considerabile. Medicamentele combinate cu doză fixă sunt avantajate de o serie de puncte forte precum: mecanismul de acțiune complementar cu efecte sinergice, reducerea efectelor adverse prin utilizarea dozelor mai mici de substanțe active, costuri relativ mai reduce, comoditatea în distribuire, îmbunătățirea aderenței și posibilitatea de a crea un plan de tratament mai simplificat. Însă, sunt și ele nelipsite de unele puncte slabe precum: dificultăți în ajustarea dozei și în identificarea sursei posibilelor efecte adverse, supra sau subdozare [167].

În literatura de specialitate sunt cunoscute mai multe definiții ale medicamentelor combinate cu doză fixă. De exemplu, Food and Drug Administration, SUA definește un produs combinat ca „un produs compus din orice combinație de medicament și dispozitiv sau produs biologic și un dispozitiv sau un medicament și un produs biologic sau un medicament, dispozitiv și un produs biologic” [274].

Conform definiției OMS, medicamentele combinate cu doză fixă sunt considerate medicamente noi și sunt acceptabile numai atunci când doza fiecărui ingredient este foarte bine cercetată și definită, iar combinația în sine are un avantaj dovedit față de compuşii individuali administrați separat în ceea ce privește efectul terapeutic, siguranța sau conformitatea. Acestea nu trebuie tratate ca versiuni generice ale produselor cu o singură componentă. Din punct de vedere al conformității, produsele combinate oferă un singur remediu, reducând numărul de medicamente luate zilnic și, prin urmare, sporind complianța pacientului [118].

Organizația Mondială a Sănătății (OMS) a anticipat că combinațiile cu doze fixe de medicamente vor fi o componentă importantă a îngrijirii pacienților internați. Conform listei modelului OMS de medicamente esențiale, includ combinații cu doze fixe de medicamente, dar numărul lor este



limitat și cuprinde doar unele clase terapeutice importante, cum ar fi antibacteriene, antivirale, antiretrovirale și antimalarice. Tendințele recente ale aprobărilor combinațiilor cu doze fixe de medicamente de către FDA arată că există aproape 63 de produse, devenind noua eră a dezvoltării de noi medicamente, deoarece pot trece cu ușurință prin procesul de reglementare [283].

Studiile de dezvoltare farmaceutică (preformulare) sunt deosebit de importante pentru produsele farmaceutice combinate cu doze fixe, deoarece necesită cercetări suplimentare precum: compatibilitatea chimică și fizico-chimică a substanțelor active între ele, precum și cu posibili excipienți, degradabilitatea fiecărei substanțe în condiții de stres în prezența celorlalte, uniformitatea conținutului fiecărui ingredient în dependență de forma farmaceutică.

Studiile de analiză dețin și ele unele particularități precum validarea fiecărei substanțe active în prezența celorlalte componente, cât și în prezența impurităților de sinteză sau a potențialelor produse de degradare în timpul dezvoltării metodelor analitice pentru controlul calității produsului finit, testarea stabilității și dizolvării.

De asemenea, sunt importante și studiile de bioechivalență, care oferă o punte între doi echivalenți farmaceutici atunci când sunt disponibile date privind siguranța și eficacitatea pentru unul dintre principiile active, dar nu pentru celălalt. Demonstrând că cele două produse duc la același profil pentru concentrația plasmatică în timp, datele de siguranță și eficacitate disponibile pentru unul dintre produse pot fi extrapolate la celălalt.

Datele privind bioechivalența pot fi, de asemenea, importante atunci când aceeași substanță activă este administrată în circumstanțe diferite, de exemplu înainte sau după alimente, la diferite populații de pacienți (cum ar fi copii versus adulți) sau prin diferite căi de administrare (cum ar fi subcutanat versus injecție intramusculară).

Validarea testelor de substanțe active în medii biologice este crucială pentru a genera un studiu semnificativ de biodisponibilitate și bioechivalență. Studiile preclinice pot să nu fie necesare dacă toate substanțele active au fost deja utilizate pe scară largă la om în aceeași combinație pentru o perioadă lungă de timp și siguranța combinației a fost bine demonstrată. Însă, în unele cazuri, sunt totuși obligatorii, de exemplu pentru determinarea unui nou raport de doze sau dacă siguranța combinației la om nu a fost încă demonstrată. Când sunt necesare, studiile preclinice trebuie să urmărească determinarea atât a efectelor farmacologice, cât și a efectelor adverse care pot fi așteptate de la combinația de substanțe active în timpul utilizării clinice [112].

Un rol important la elaborarea combinațiilor cu doze fixe de medicamente le revin studiilor de eficacitate și siguranță clinică, evaluarea risc-beneficiu fiind inevitabilă pentru o nouă combinație. Totodată, orice avantaje teoretice ale unei anumite combinații trebuie confirmat prin studii de eficacitate.

Studiile clinice trebuie concepute pentru a determina dacă combinația are un avantaj față de componentele active administrate singure la o populație substanțială de pacienți. Datele ar trebui să demonstreze că fiecare activ contribuie la efectul terapeutic al combinației [112].

În procesul de fabricare a FDC, regulile GMP sunt aplicate în mod obișnuit. Dar există unele aspecte specifice, care sunt urmărite cu strictețe: compatibilitatea substanțelor active între ele și cu excipienții; prezența sau absența semnelor de degradare a acestora în condiții de stres la amestecare; uniformitatea amestecului medicamentos; capacitatea metodelor aplicate pentru analiza cantitativă de a detecta și cuantifica simultan componentele din amestec; efectuarea testelor de dizolvare și asigurarea cedării simultane, ș.a. [279].

Determinarea calității produsului este la fel o provocare, fiind aplicate reguli specifice, cu luarea în calcul a celor mai nefavorabile situații, precum ajustarea limitelor de impurități se la substanța activă concretă, nu la total, normarea perioadei de valabilitate după substanța cea mai instabilă, iar precizia este stabilită în raport cu substanța cu cea mai mică doză [279].

Biodisponibilitatea și bioechivalența FDC trebuie, să corespundă criteriilor stabilite pentru componentele individuale, și poate să difere doar în cazuri de modificare cu bună intenție, special.

Toate avantajele clinice, terapeutice ale FDC trebuie confirmate prin studii științifice de eficacitate. Dacă un FDC este menit să acționeze asupra mai multor simptome ale unei boli, efectele trebuie să apară concomitent pentru ca produsul să poată fi considerat rațional. Dacă FDC se prezintă în mai multe concentrații, studiile clinice trebuie să demonstreze eficiența fiecărei concentrații [279].

Foarte multe provocări apar la etape de preformulare ale FDC în comparație cu produsele monocomponente. Sunt la ordinea subiectului și probleme legate de tehnologia de fabricație. Necesitatea abordării problemei interacțiunilor din timpul formulării prin prisma unor studii de compatibilitate, efectuate prin metode avansate, de exemplu DSC, sau difracția cu raze X, condiționează testarea stabilității mult mai riguros. Selectarea formulei de fabricație se face în baza proiectării experimentale multifactoriale, analizei suprafețelor de răspuns. Omogenitatea amestecurilor nu întotdeauna poate fi atinsă cu ușurință, mai ales atunci când există decalaje de concentrații ale componentelor [279].

Principiile reglementărilor pentru un medicament combinat cu doze fixe se bazează pe finalizarea tuturor studiilor de fază clinică.

Faza 1 include: Introducerea inițială a unui nou medicament experimental la om, Studii privind metabolismul medicamentelor, relațiile structură-activitate, mecanismul de acțiune la om, fenomenele biologice sau procesele bolii.

Faza 2 include: Studii clinice controlate pentru a evalua eficacitatea medicamentului pentru o anumită indicație la pacienții cu anumită afecțiune și pentru a determina efectele secundare comune

pe termen scurt și riscurile asociate cu medicamentul.

Faza 3 include: Studii controlate extinse într-o mare măsură pe populație. Acestea sunt efectuate pentru a colecta informații suplimentare privind eficacitatea și siguranța pentru evaluarea beneficiului-risc global.

Cadrul pentru eliberarea unei autorizații de introducere pe piață pentru un produs combinat cu doză fixă este același cu cel pentru medicamente monocompente și este rezumat în Autorizația de introducere pe piață a produselor farmaceutice a OMS, cu referire specială la produsele cu mai multe surse (generice).

Toate cererile de înregistrare a unui produs combinat cu doză fixă trebuie să includă un proiect de „informații despre produs” sau „rezumat al caracteristicilor produsului” pentru bolile indicate și orice prospect informativ.

În cazul în care un produs combinat cu doză fixă înlocuiește direct un regim stabilit de produse cu o singură entitate, în legătură atât cu substanțele active, cât și cu dozele și pentru aceeași indicație un studiu de bioechivalență poate furniza dovezi adecvate de siguranță și eficacitate.

Regimul stabilit ar trebui să aibă siguranța și eficacitatea bine caracterizate, iar produsele combinate cu doză fixă ar trebui să se fi dovedit a fi de bună calitate, inclusiv conformitatea cu un cod adecvat de bună practică de fabricație (GMP) în timpul producției [159].

Cercetările privind elaborarea de noi produse farmaceutice sunt în continuă evoluție, actuale și necesare, pentru lărgirea arsenalului de remedii cu aplicare în terapia diverselor maladii [195, 258].

### ***1.1.1. Compatibilitatea substanțelor medicamentoase în combinații***

Produsele combinate cu doze fixe sunt frecvente în tratamentul hipertensiunii, diabetului, virusului imunodeficienței umane și tuberculozei. Din perspectiva pacientului, acestea oferă confort, doze mai mici de substanțe active și economii de costuri. Dintr-o perspectivă clinică, îmbătrânirea populației din țările dezvoltate va avea nevoie de mai multe medicamente pentru a trata bolile și comorbiditățile legate de vârstă, iar medicamentele FDC vor simplifica regimul de administrare și vor spori conformitatea pacientului. Potrivit unui studiu, numărul de produse FDC a crescut de-a lungul anilor și este are ca tendință să continue [61].

Pentru elaborarea medicamentelor combinate sigure și de înaltă calitate, sunt esențiale studiile de compatibilitate, în urma cărora se determină atât potențialele interacțiuni între componente, cât și se evaluează stabilitatea formulării. De regulă studiul de compatibilitate se face în timpul fazei incipiente de dezvoltare a medicamentului, mai exact la preformulare. Detectarea precoce a potențialului de incompatibilitate al componentelor este crucială pentru a preveni instabilitatea chimică și fizică a produsului finit. Deși excipienții sunt inerți, au fost observate

cazuri de degradare a acestora cu formarea impurităților.

Testarea compatibilității a două substanțe active dintr-un medicament antituberculos cu doze fixe și evaluarea impactului excipienților celor mai obișnuite forme de dozare solide asupra stabilității a două substanțe active: izoniazida și rifabutina, este un exemplu de studiu în acest domeniu. Degradarea severă din cauza incompatibilității substanțelor active a fost raportată anterior pentru forme FDC antituberculoase. În studiu au fost evaluați cei mai frecvenți excipienți utilizați în formele farmaceutice orale: amidon, manitol, lactoză monohidrat, dioxid de siliciu, croscarmeloză de sodiu, cros повідonă, stearat de magneziu, laurilsulfat de sodiu celuloza microcristalină. Aceștia nu au prezentat influențe semnificative asupra stabilității FDC propus pentru formulare. De asemenea, cantitatea impurităților ca produse de degradare nu au prezentat interacțiuni nici în testele de stabilitate pe termen de 18 luni. Studiul a confirmat în continuare că nu a avut loc pierderea conținutului și degradarea substanțelor active datorită prezenței celei de-a doua substanțe active sau a excipienților, în mediu acid. În cele din urmă, studiul a confirmat posibilitatea de a combina izoniazida și a rifabutina pentru FDC [234].

Deși se folosesc principii foarte similare la elaborarea FDC, ca și la cele monocomponente, există unele diferențe suplimentare datorate asocierii componentelor precum: compatibilitatea substanțelor medicamentoase, testul de stabilitate, proprietăți fizico-chimice, biodisponibilitate/bioechivalență, metode analitice și criteriile de acceptare pentru impurități, testarea la stres și determinarea termenului de valabilitate al produselor FDC [315].

Proprietățile fizico-chimice și stabilitatea fiecărui principiu activ dintr-un FDC vor defini abordările de formulare pentru a menține stabilitatea în timpul perioadei de valabilitate a produsului medicamentos combinat. De exemplu, higroscopicitatea unei substanțe medicamentoase active poate influența stabilitatea celui alt principiu activ din produsul combinat. Pe baza strategiei de formulare, fabricarea unui FDC poate fi la fel de simplă ca amestecarea a două sau mai multe substanțe medicamentoase active, cu condiția ca acestea să fie compatibile fizic și chimic și stabile cu excipienții necesari [118].

### ***1.1.2. Cercetări farmacotehnologice ale produselor combinate topice și perorale***

Utilizarea administrării topice a medicamentelor care acționează direct la locul afectat poate oferi o eficacitate mai mare și cu mai puține efecte secundare decât medicamentele administrate sistemic. În practica medicală, de obicei se aplică topic medicamentele din următoarele clase: corticosteroizi, antibacteriene, antivirale, antifungice și antiinflamatoarele nesteroidiene. Pentru formele solide, de exemplu comprimate, Utilizarea medicamentelor topice combinate asigură condiții specifice pentru pacienții de vârstă înaintată sau copii, precum și pentru

cei cu disfagie, dar și atunci când este nevoie de un medicament fără conținut de zahăr sau alcool [121].

Pentru formele solide, de exemplu comprimate și capsule, pentru evaluarea proprietăților farmacotehnologice se efectuează determinarea densității volumetrice, curgerii, unghiului de repaus, compresibilitatea, friabilitatea și rezistența comprimatelor la strivire. Fluibilitatea se evaluează folosind indicele Carr și indicele Hausner. Densitatea în vrac este greutatea unei unități de volum dintr-o pulbere plasată liber într-un cilindru de măsurare. Acesta depinde de densitatea unei substanțe, de dimensiunea și forma particulelor și de compatibilitatea acestora. Fluibilitatea caracterizează capacitatea unui material de a se scurge din recipient (o pâlnie de alimentare) sub propria greutate. Fluibilitatea este exprimată în secunde, raportată la 100 g de probă. O caracteristică indirectă a fluidității este unghiul de repaus. Materialele pulverulente formează un deal conic pe un plan orizontal după ce au fost turnate dintr-o pâlnie. Unghiul dintre înclinația și baza acestui deal se numește unghi de repaus și este exprimat în grade. Indicele Carr și indicele Hausner sunt utilizați pentru a descrie curgerea unei pulberi. Potrivit lui Carr, o fluiditate excelentă este între un indice Carr de 5% până la 15%; un indice Carr de peste 25% arată în mod normal o fluiditate slabă [129].

### *1.1.3. Analiza și standardizarea combinațiilor cu doze fixe de medicamente*

În ultimii ani, cererea de livrare a medicamentelor combinate a condus la dezvoltarea multor combinații inovatoare de produse farmaceutice și dispozitive medicale într-o gamă largă de domenii terapeutice. Pe măsură ce combinațiile cu doze fixe de medicamente continuă să fie dezvoltate, sunt necesare metode analitice care pot fi utilizate pentru a sprijini dezvoltarea și a asigura calitatea acestor produse.

În timp ce aceste combinații au potențialul de a îndeplini nevoi medicale majore nesatisfăcute, ele prezintă, de asemenea, provocări unice în dezvoltare, analiză și standardizare. Una dintre aceste provocări este dezvoltarea și validarea metodelor analitice pentru a evalua potența, puritatea și stabilitatea componentei farmaceutice a medicamentului combinat. Există trei obiective pentru metodele analitice de testare: să analizeze conținutul de medicament, să măsoare substanțele înrudite cunoscute și să detecteze produsele de degradare a medicamentului.

La fel ca pentru produsele farmaceutice tradiționale, se utilizează metodele analitice precum spectrofotometria UV-Vis, HPLC, cromatografia în strat subțire.

Odată dezvoltate, metodele analitice trebuie validate în conformitate cu Ghidul ICH, Validarea procedurilor analitice: text și metodologie (ICH Q2(R1)). O considerație suplimentară importantă pentru validarea metodelor pentru combinațiile cu doze fixe de medicamente în comparație cu cele

tradiționale produse farmaceutice este robustețea. În experimentele de validare a robusteții, ar trebui adăugate provocări suplimentare pentru a evalua robustețea preparării probei [157].

Cel mai notabil progres în domeniul spectroscopiei UV-Vis a fost experimentat în ultimele două decenii. Integrarea ecuațiilor matematice contribuie la descoperirea de noi căi în domeniul cercetării pentru aplicarea metodelor spectroscopice UV-Vis în determinarea medicamentelor combinate în doză fixă cu componente minore.

Prin spectrofotometria UV-Vis are loc tratarea componentei minore prin o serie de posibilități diferite precum: metoda bazată pe procesul de îmbunătățire a semnalului spectral, metoda bazată pe obținerea spectrului ascuns, metoda bazată pe adaos standard, metoda bazată pe spectre de raport.

Aceste metode sunt cea mai bună alegere atunci când concentrația componentei minore se abate de la legea Beer, care se întâmplă în situația de concentrații scăzute în care procesul de determinare a acestui compus prin metode spectrofotometrice devine imposibil fără utilizarea acestor tehnici care cresc concentrația componentei minore pentru a se încadra în liniaritatea metodei [250].

Cromatografia în strat subțire, deși este o tehnică veche, se aplică pe larg în domeniul analizei farmaceutice, în special pentru analiza unei game largi de materiale organice și anorganice, datorită avantajelor sale distinctive, cum ar fi curățarea minimă a probei, gamă largă de faze mobile, flexibilitate în distincția probelor, capacitate mare de încărcare a probei și capacitate scăzută de încărcare a probei.

Cromatografia în strat subțire joacă un rol crucial în stadiul incipient al dezvoltării medicamentului, atunci când informațiile despre impuritățile și produsele de degradare din substanța medicamentoasă și produsul medicamentos sunt inadecvate, fiind identificate și determinate diferite impurități ale produselor farmaceutice.

Cromatografie lichidă de înaltă performanță (HPLC) este aplicată pe larg în analiza și standardizarea medicamentelor atât monocomponente, cât și combinate datorită specificității și preciziei înalte. Pentru realizarea acestora, un rol important îl are alegerea abordării de detecție pentru a garanta că toate componentele sunt detectate. Unul dintre detectoarele utilizate pe scară largă în HPLC este detectorul UV care este capabil să monitorizeze mai multe lungimi de undă simultan. Dacă este prezent în cantitate adecvată, detectorul UV asigură detectarea tuturor componentelor care absorb UV [176].

Este dificil să se dezvolte o metodă HPLC unică de controlul calității pentru un medicament combinat pentru a separa toate impuritățile, deoarece numărul analiților și a impurităților care trebuie detectate pot varia semnificativ. Un alt parametru critic pentru analiza cromatografică a

unui medicament combinat este lungimea de undă pentru detectare. Deși atât substanțele active, cât și impuritățile lor au absorbție în jur de 223 și 270 nm, lungimea de undă optimă pentru detectare a fost determinată a fi de 223 nm. În schimb, toate componentele au prezentat intensitate variată la 270 nm, ceea ce ar duce la o variabilitate mai mare a factorilor de răspuns [247].

Cromatografia de gaze este o tehnică puternică de separare pentru detectarea compușilor organici volatili, care permite determinarea cantitativă precisă a amestecurilor complexe, inclusiv a urmelor de compuși. Cromatografia gazoasă este, de asemenea, un instrument important pentru analiza impurităților [176].

Farmacopeea Europeană ediția 10 recomandă identificarea CIP prin metoda spectrofotometrică în infraroșu, iar impuritățile – prin cromatografia în strat subțire, cu faza mobilă: acetonitril, amoniac concentrat, metanol și clorură de metilen, la lungimea de undă 254 nm. Substanțele înrudite se determină prin cromatografia lichidă, dimensiunea coloanei:  $l = 0.25$  m,  $\varnothing = 4.6$  mm; faza staționară gel de silice octadecilsilil dezactivat pe bază pentru cromatografia, la *temperatura de* 40°C, iar faza mobilă: se amestecă 13 volume de acetonitril și 87 volume a unei soluții de acid fosforic de 2,45 g/L, ajustată în prealabil la pH 3,0 cu trietilamină, la lungimea de undă 278 nm [81].

Mai multe metode analitice pentru determinarea cantitativă a fluorochinolonei în formulările farmaceutice au fost raportate în literatura științifică precum: electroforeză capilară, spectrofotometria UV-Vis, titrare și HPLC.

Un studiu realizat în 2014 de către Scherer R., Pereira J., Firme J., confirmă determinarea CIP în formulări farmaceutice utilizând metoda HPLC cu detecție UV. Faza mobilă utilizată a fost un amestec de soluție apoasă de 0,025 acid fosforic M (ajustat la pH 3,0±0,1 cu trietanolamină) și acetonitril (60:40) la un debit de 1,0 ml/min. Soluția standard de ciprofloxacina a fost preparată în soluție de acid acetic la o concentrație de 0,2% 500,0 mg/ml din care au fost preparate concentrații pentru a evalua eficiența metodei, inclusiv curba de calibrare externă. S-a demonstrat că, metoda HPLC elaborate este simplă, specifică, precisă și rapidă în fază inversă pentru determinarea conținutului de ciprofloxacina în trei forme farmaceutice: generică, similară și compusă [263].

Un alt studiu realizat în a. 2023 de către Kh. Elgandy și coautorii, descrie o metodă de cromatografie simplă, sensibilă și precisă: RP-HPLC pentru estimarea simultană a CIP, ofloxacinei și marbofloxacinei în forma lor combinată sau individual. Separarea HPLC a fost realizată pe o coloană analitică Hypersil (C18, 150 mm × 4,6 mm, dimensiunea particulei 5 μm) sau echivalent. Un amestec de trietanolamină (1 %), acetonitril (80 %) și apă a fost utilizat ca fază mobilă, cu un debit de 1,2 ml/min și o lungime de undă a detectorului de 280 nm la temperatura ambiantă. În metoda HPLC, timpii de retenție ai CIP, ofloxacinei și marbofloxacinei s-au dovedit

a fi de 1,854, 2,480 și, respectiv, 4,688 min., iar liniaritatea a fost obținută în intervalul 25–80  $\mu\text{g/mL}$  pentru toate cele trei substanțe active [77].

Deși metoda HPLC este prioritară pentru analiza amestecurilor, există necesitatea de a ajusta și optimiza o serie de parametri pentru a mări sensibilitatea, precum: debitul, compoziția fazei mobile, pH-ul mediului, selectarea coloanei cromatografice și a lungimii de undă a detectorului.

Au fost dezvoltate mai multe metode de identificare și dozare a CIP în forme farmaceutice. Tehnica HPLC de analiză, folosind ca fază mobilă amestecul de acetonitril: apă purificată și trimetilamină în raportul 80:20:0,3 cu pH 3,3 la 279 nm [142]. A fost dezvoltată și validată o tehnică HPLC pentru testul CIP în plasmă umană post excitație la 278 nm, unde precipitarea proteinei a fost efectuată înainte de analiză [128]. Un alt studiu a fost efectuat prin utilizarea unui test HPLC izocratic al CIP în plus la trei dintre metaboliții medicamentului în ser și probe de urină diluată [263, 153].

Actualmente, există numeroase studii în care au fost elaborate metode spectrofotometrice de analiză a CIP împreună cu alte substanțe medicamentoase. De exemplu, elaborarea unei metode spectrofotometrice de ordin zero pentru analiza CIP într-un amestec cu metronidazol [17].

O altă metodă de control spectrofotometrică UV-Vis a fost dezvoltată pentru determinarea CIP într-un amestec cu tinidazol [26].

Spectrometria de masă este una dintre cele mai recente instrumente din domeniul analitic, găsindu-și aplicarea și în studiile de analiză a amestecurilor și oferă sensibilitate și selectivitate înaltă [183].

În Farmacopeea Europeană ediția 10, nitratul de econazol se identifică prin spectrofotometrie de absorbție în infraroșu. Substanțele înrudite chimic se determină prin HPLC,, la *temperatura de* 35°C, iar faza mobilă formată din metanol și soluție de amoniu acetat sau din metanol și acetonitril la lungimea de undă 225 nm.

Metodele raportate pentru determinarea azotatului de econazol în formulările farmaceutice includ titrimetria, spectrofotometria, spectrofotometria derivată, HPLC, cromatografia gazoasă, cromatografie în strat subțire și electroforeza capilară. Au fost publicate, de asemenea, o varietate de separări enantiomerice folosind metoda HPLC.

Un studiu realizat în a. 2008 indică determinarea nitratului de econazol prin HPLC, având faza mobilă: metanol-apă și detecția la 220 nm. Metoda validată este rapidă și eficientă și permite separarea azotatului de econazol în prezența produselor de degradare, a impurităților și a excipienților săi, fără a utiliza soluții tampon sau modificatori de pH. Deoarece a fost posibilă identificarea și cuantificarea impurităților înrudite chimic ale azotatului de econazol (alcool 4-



clorobenzilic și alfa-(2,4- diclorfenil)-1H-imidazol-1-etanol), metoda propusă poate fi utilizată ca metodă de indicare a stabilității [106].

În Farmacopeea Europeană ediția 10, nicergolina se identifică prin metoda spectrofotometrică UV-Vis, având absorbție maximă la 288 nm și minimă la 251 nm. O altă metodă de determinare este spectrofotometrie de absorbție în infraroșu. Substanțe înrudite se determină prin HPLC, în calitate de soluție de referință se folosește acetonitril, temperatura de 40°C și lungimea de undă 288 nm.

Studiile au arătat că pentru analiza NIC au fost dezvoltate metode ca: spectrofotometria UV-Vis, electroforeza capilară, spectrofluorimetria și HPLC, metode ce implică aparataj simplu, disponibil în majoritatea laboratoarelor de control al calității, sunt rentabile, ușor în operare, sensibilitate, exactitate și precizie înalte. Nicergolina a fost analizată cu succes prin metoda spectrofotometrică extractivă, atât ca compus pur, cât și din formă farmaceutică. Metodele propuse sunt adecvate și valabile pentru aplicare în laboratoare, fiind simple, rapide, precise și nu implică niciunul condiții critice [152].

Farmacopeea Europeană ediția 8 recomandă identificarea PIR prin spectrofotometrie de absorbție în infraroșu. Substanțele înrudite chimic se determină prin metoda HPLC, faza mobilă fiind: acetonitril și soluție de hidrogenfosfat potasic, ajustat la pH 6,0 cu acid fosforic diluat, la lungimea de undă 205 nm.

Studiul în literatură a relevat că au fost dezvoltate o serie de metode pentru estimarea PIR: HPLC, electroforeza capilară, cromatografia pe strat subțire. Actualmente, spectrofotometria derivată este o metodă foarte apreciată, fiind o variantă a spectrofotometriei UV-Vis micro computerizate modern. Un studiu realizat în a. 2010 demonstrează că metoda spectrofotometrică derivată dezvoltată este o metodă simplă, precisă, exactă și economică, fără a fi necesar utilizarea solvenților sau reactivilor scumpi sau toxici. Pe baza datelor studiului de validare, se poate concluziona că metoda propusă este exactă și precisă pentru analiza PIR [28].

Un alt studiu realizat în a. 2014 demonstrează cuantificarea simultană a PIR și a levetiracetamului cu detecția ultravioletă RP-HPLC, în care s-a folosit o coloană Nucleosil C18 cu dimensiunea de 10 m. Faza mobilă a fost un amestec de trietilamină și acetonitril (70 : 30), cu viteza 1 mL/min. și lungimea de undă de 205 nm. Rezultatele au fost evaluate prin intermediul parametrilor statistici care califică reproductibilitatea și selectivitatea metodei pentru cuantificarea PIR, levetiracetamului și a impurităților acestora, dovedind astfel proprietăți indicatoare de stabilitate. Metoda propusă este semnificativ importantă, permițând separarea constituentului principal PIR de levetiracetam [269].

Farmacopeea Europeană ediția 10 recomandă identificarea EP prin cromatografia în strat

subțire cu soluție de referință de acid clorogenic, hiperozidă și rutozidă, faza mobilă: acid formic anhidra, apă, metil etil cetonă, acetat de etil (10:10:30:50).

O publicație din a. 2017 descrie o tehnică HPLC cu detecție spectrofotometrică UV pentru determinarea calitativă și cantitativă a vitexinei, rutozidei, hiperozidei și quercetinei în plantele de păducel. Curbele de calibrare pentru cele patru flavonozide au prezentat o liniaritate bună în intervalele studiate [259].

HPLC-DAD a fost o metodă mai fiabilă și mai precisă pentru determinarea EP, în comparație cu metodele spectrofotometrice, despre care se știe că suferă de prezența unor substanțe ne fenolice interferente și de lipsa de sensibilitate la favan-3-oli și acizi hidroxicinamici, respectiv. Stadiul fenologic și originea geografică au influențat semnificativ conținutul fenolic total și profilul fenoli [90].

Într-un alt studiu la fel se utilizează metoda HPLC pentru detectarea matricei de diode UV pentru analiza calitativă și cantitativă a procianidinelor până la nivelul hexameric în probele de păducel. Metodă HPLC poate fi utilizată pentru analiza calitativă și cantitativă a unei serii complexe de procianidine oligomerice de păducel până la nivel hexameric. Au fost de asemenea cuantificate concentrațiile a doi tetrameri necunoscuți și a unui hexamer. Metoda a fost valabilă în ceea ce privește repetabilitate, recuperare, liniaritate și sensibilitate [278].

Se descrie și determinarea spectrofotometrică a conținutului total de flavonozide din frunzele de busuioc. Raportul de solvent și volumul soluției stoc au prezentat o influență importantă asupra răspunsului metodei. După alegerea condițiilor optimizate, metoda a prezentat o precizie mai mică de 6% pentru repetabilitate și mai mică de 8% pentru precizie intermediară, coeficient de corelație de 0,9984, și nu a putut fi observată nicio influență importantă pentru variațiile timpului de complexare cu triclorura de aluminiu. Cu toate acestea, timpul și temperatura extracției au fost critice pentru și trebuie controlate cu atenție în timpul analizei [273].

## **1.2. Utilizarea combinațiilor cu doze fixe în terapia unor maladii auriculare**

Aplicarea cu succes a unui remediu terapeutic în medicația oricărei maladii, poate ulterior induce dezvoltarea rezistenței la componentul respectiv. Această condiție fiind actuală inclusiv pentru preparatele care sunt utilizate în tratamentul infecțiilor bacteriene. La momentul dat, rezistența agenților patogeni la terapia antimicrobiană continuă a fi o problemă actuală la nivel mondial, fiind asociată cu nivel înalt de morbiditate și mortalitate. Rezistența la antibiotice omoară în jur de 700.000 de oameni anual în întreaga lume și acest număr ar putea crește la 10 milioane până în anul 2050, dacă nu se întreprind măsuri pentru a limita rezistența sau a dezvolta noi antibiotice [215]. Provocările asociate cu infecția bacteriană se datorează în mare parte deficitului

actual de terapii eficiente, lipsei măsurilor de prevenire și lipsei de noi antibiotice, care dictează necesitatea dezvoltării de noi opțiuni de tratament și terapii antimicrobiene alternative [99].

Printre cele mai răspândite afecțiuni în otorinolaringologie se regăsesc bolile inflamatorii ale urechii. În jur de 20-70% de adulți și copii, în urma infecțiilor respiratorii suportate, dezvoltă otita medie acută. La 35% de copii în primul an de viață a fost diagnosticată otita medie acută de cel puțin o dată sau de două ori, la 7-8% - de mai multe ori, la 65% de copii cu vârsta până la 3 ani - de 1-2 ori, iar 35% - de mai multe ori. La vârsta de 3 ani se pot îmbolnăvi până la 71% de copii. Motivul dezvoltării hipoacuziei senzorie-neurale la maturi în 25,5% cazuri constă în faptul, că acești pacienți au suportat anterior otită purulentă acută sau cronică [371].

Otita externă acută (OEA) este comună în întreaga lume, cu o incidență mai mare în zonele tropicale decât în zonele temperate din cauza temperaturii și umidității mai ridicate. Afectează 4 din 1000 de adulți și copii din Statele Unite în fiecare an și poate pune viața în pericol la pacienții care au diabet, sunt imunocompromiși sau au primit radiații la nivelul capului și gâtului, necesitând terapie antimicrobiană agresivă [360].

Managementul modern al terapiei infecțiilor auriculare este îndreptat spre folosirea unui tratament complex și inovativ, cu preparate din noile generații, dat fiind faptul că la momentul actual există deja o creștere dramatică a cazurilor de rezistență la antibiotice [319]. Un exemplu elocvent este prevalența anumitor tulpini de stafilococi, ca *S. pneumoniae*, care a devenit rezistent la majoritatea claselor de antibiotice, totodată ducând și la producția lor de  $\beta$ -lactamaze.

În tratamentul otitelor de obicei se justifică tratamentul policomponent, cu administrarea locală a unor preparate complexe (picături auriculare, unguente, spray-uri) cu conținut de antibiotice, antifungice, antiinflamatoare, decongestionante, analgezice și antihistaminice [338]. De cele mai multe ori sunt întâlnite prescripții cu antiinflamatorii steroidieni, care ajută la reducerea edemului și pruritului. Din acest motiv în practica contemporană se pune tot mai mult accent pe crearea unor remedii combinate, iar cercetările în această direcție sunt menite să arate biodisponibilitatea acceptabilă, gradul de toxicitate, interacțiunea dintre medicamente, compatibilitatea dintre acestea și stabilitatea sistemului la etapa de preformulare și altele [104].

Deși dezvoltarea rezistenței la antibiotice necesită o atenție deosebită în momentul indicării terapiei antimicrobiene sistemice, în cazul utilizării terapiei locale situația e diferită. Urechea medie infectată deschisă (adică, otita medie supurată cronică [OMCS] sau otoreea cu tub de timpanostomie [OTT]) și OEA sunt probleme care pot fi adesea tratate adecvat și eficient cu medicamente ototopice. De fapt, prima linie de terapie ar trebui să fie medicamentele ototopice, cuplate cu curățarea canalului extern și măsurile de precauție pentru urechea uscată. În funcție de etiopatogeneza și localizarea afecțiunii, una dintre cele mai frecvent utilizate forme farmaceutice

pentru tratamentul otitelor acute și cronice sunt picăturile auriculare [198, 201]. Desigur, există și circumstanțe care impun utilizarea antibioticelor sistemice, fie în principal, fie în combinație cu preparate topice pentru tratamentul maladiilor auriculare infecțioase.

La etapa de selectare a strategiei terapeutice în tratamentul infecțiilor auriculare, este necesar să se țină cont de tipul agenților patogeni. Cei mai frecvenți agenți patogeni bacterieni observați includ *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis*, speciile *Proteus* și speciile *Klebsiella*, împreună cu unele specii anaerobe.

Combinările moderne de medicamente sunt o componentă importantă în arsenalul de medicamente care facilitează farmacoterapia și extind opțiunile de tratament [32]. Avantajele asocierii medicamentelor constau în: creșterea efectului farmacologic dorit la administrarea unor doze minime de substanță activă prin acțiune sinergică, micșorarea ratei și intensității reacțiilor adverse, dirijarea farmacocineticii medicamentului în direcția necesară, creșterea toleranței medicației pacienților pentru tratamentul prescris în tratarea patologiei [317].

Cele mai utilizate preparate ototopice conțin o combinație dintre un aminoglicozid (cum ar fi neomicina), polimixină B și un steroid local. Neomicina, fiind eficientă împotriva speciilor *S.aureus* și *Proteus*, totuși, are activitate limitată împotriva *Pseudomonas*, anaerobilor și tuturor streptococilor. Polimixina este eficientă împotriva pseudomonadelor, precum și a organismelor sensibile la neomicină. Aceste preparate nu au activitate antifungică sau antivirală.

Medicamentele fluorochinolone, precum ciprofloxacina și ofloxacina, sunt pe larg utilizate în terapia maladiilor auriculare, prezentând eficiența împotriva tulpinilor de *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *M. catarrhalis*, tulpini de *Staphylococcus* și tulpini de *Pseudomonas*, dar iarăși, fără a manifesta activitate antifungică sau antivirală. Ambele fluorochinolone locale au profiluri similare de eficacitate și siguranță, atunci când membrana timpanică este intactă. Cu toate acestea, picăturile auriculare cu ofloxacină au avantajul suplimentar de a fi în prezent singura formă ototopică cu aprobarea Food and Drug Administration pentru utilizare în urechea medie deschisă. Riscul de ototoxicitate este neglijabil atunci când se aplică picături combinate de aminoglicozide sau picături de acid acetic pe membrana timpanică intactă. Aceste preparate sunt eficiente și mai puțin costisitoare, fiind incluse în terapia de primă linie a infecțiilor auriculare. În cazul în care sunt necesare antibiotice sistemice, se încurajează metoda dirijată pe cultură, în interesul limitării oportunităților de dezvoltare a organismelor rezistente la antibiotice [119]. Corticosteroizii sunt uneori folosiți în combinație cu chinolonele atunci când există o inflamație a canalului auditiv sau a mucoasei urechii medii sau dacă este prezent țesutul de granulare. Deseori în această afecțiune se administrează dexametazona în asociere cu ciprofloxacina [343]. Terapia contemporană optează pentru utilizarea combinată a diferitor substanțe medicamentoase din diferite grupe farmacologice

cu scopul de a acționa prin diferite mecanisme cu micșorarea toxicității acestora [373]. O valoare indispensabilă pentru tratamentul afecțiunilor auriculare este conferită de posibilitatea asocierii într-o formă farmaceutică a compușilor chimici și principiilor active de origine vegetală. Unele uleiuri esențiale au demonstrat activitate sinergică antimicrobiană în combinație cu antibioticele. Cercetările recente demonstrează capacitatea linalolului, care este componenta principală a uleiului esențial de busuioc, de a potența efectul antibacterian al antibioticelor, inclusiv al fluorochinolonelor, prin reducerea concentrației minime inhibitoare a CIP de aproximativ 4 ori [326].

În urma evaluării pieței farmaceutice autohtone a combinațiilor cu doze fixe de medicamente, s-a constatat un număr redus de medicamente combinate înregistrate în RM, în comparație cu țările vecine. Din numărul total de medicamente combinate, remediile utilizate în afecțiunile auriculare ocupă un procent foarte mic, circa 0,16%, dintre care jumătate constituie remedii analgezice, anestezice și antiinflamatoare, restul fiind preponderent medicamente antiinfecțioase. Acest fapt accentuează necesitatea dezvoltării formelor medicamentoase combinate noi cu aplicare în tratamentul infecțiilor auriculare [212].

### ***1.2.1. Infecții bacteriene și fungice ale urechii***

Bolile auriculare se datorează, în majoritatea cazurilor, infecțiilor bacteriene, care provoacă diferite modificări fizico-chimice la nivelul conductului auditiv și duc la apariția patologiei urechii. Aceasta din urmă este cauzată de mai multe condiții: factori externi (căldura și umiditatea ridicată, pătrunderea apei în ureche, igiena personală inadecvată, încercările de curățare a canalului urechii externe cu diverse obiecte) și factori interni (disfuncțiile hormonale, imunodeficiențe, dop epidermic, absența cerii) [2].

Otita este o maladie acută a canalului auditiv, cel mai des cauzată de bacterii sau viruși, fiind sau nu însoțită de supurația mucoasei auditive. Datele din literatură, susțin că circa 17-23% din totalul afecțiunilor ORL – sunt anume otitele medii și externe. Totodată se poate spune că incidența acestor maladii crește de la an la an, având o tendință puternică de a acoperi în special vârsta fragedă a copilăriei, ocupând locul II după infecțiile virale ale căilor respiratorii. [245, 25].

Infecția urechii externe este cauzată de microorganisme, poate cuprinde pavilionul urechii, cât și conductul auditiv extern, fără distrugerea membrane timpanice. Acest tip de infecție reprezintă aproximativ de la 5% până la 20% din totalul cazurilor referitoare la ureche, nas și gât. De obicei, este caracterizată de un proces inflamator local, dar uneori poate difuza la alte țesuturi, dacă nu se începe un tratament adecvat. Infecția urechii externe este unul dintre cele mai frecvente tipuri de infecții ale urechii cu care se confruntă medicii zilnic [149].

Otomicoza (OM) este o infecție fungică superficială comună care afectează canalul auditiv extern (CAE). Infecția se poate prezenta sub formă acută, subacută sau cronică și este de obicei unilaterală, forma bilaterală fiind mai frecventă la pacienții imunocompromiși [3].

OM conductului auditiv extern se atestă la 63% de pacienți), caracterizată prin dezvoltarea fungilor în conductul auditiv extern (CAE) este declanșată de factori, cum ar fi: accesul liber al aerului atmosferic, oxigenului și dioxidului de carbon, ca mediu pentru nutriția și dezvoltarea fungilor, structura anatomică a CAE, lipsa acțiunii directe a razelor solare, condiții termice prielnice pentru dezvoltarea fungilor. OM urechii medii se întâlnește mai rar (20% de pacienți), la acest tip de OM, deseori timpanul este hiperemiat, infiltrat, cu perforații de diverse dimensiuni. Infecția cu fungi poate fi favorizată de: eliminări purulente, antibioticoterapie masivă, traumarea pielii conductului auditiv extern și altele [154].

OM este prezentă la nivel global, cu prevalență variind de la 9% la 30% la pacienții cu semnele și simptomele infecției CA [7]. Conform unui studiu recent realizat în anul 2018 (Kiakoji K., ș.a.), această maladie este adesea întâlnită la toate grupele de vârstă, în special 19-55 ani (vârsta minimă fiind 4,5 luni și maximă 89 ani), cu prevalență relativ egală la ambele sexe (50,67% la bărbați și 49,33% la femei), iar cele mai întâlnite simptome au fost pierderea auzului, secreție, durere și prurit [148]. OM este răspândită în cea mai mare parte în zonele calde, umede, tropicale și subtropicale, datorită umidității ambientale ridicate, a căldurii și a zonei neiluminate din canalul urechii care promovează creșterea fungică. În asociere cu factorii predispozanți locali, cum ar fi cum ar fi infecția cronică a urechii, utilizarea uleiurilor, steroizilor, prezența infecțiilor fungice în organism, cum ar fi vaginita sau onicomicozele, probabilitatea de instalare a OM este mai înaltă [316]. În același timp, incidența crescută a infecțiilor fungice poate fi o consecință a utilizării pe scară largă a antibioticelor, corticosteroizilor, citostaticelor și a medicamentelor imunosupresoare [363].

Majoritatea agenților patogeni fungici izolați din tampoanele de urechi aparțin taxonului *Aspergillus*, reprezentat de *A. niger*, *A. terreus*, *A. flavus*, *A. fumigatus*, pe lângă taxonul *Candida*, reprezentat de *C. albicans* și *C. Luistaniae* [238]. Principalul agent cauzal al infecțiilor fungice nosocomiale este reprezentat de *Candida albicans*, în timp ce *Aspergillus fumigatus* este cel mai răspândit agent patogen fungic din aer. *Aspergillus* este un mucegai saprofit și este unul dintre colonizatorii primari ai substraturilor artificiale. Creșterea sa rapidă și producerea unui număr mare de conidii mici, uscate, îl fac un contaminant semnificativ în ceea ce privește calitatea aerului și potențialele boli legate de expunerea umană [134].

Cel mai recent studiu realizat în nordul Chinei din 2017 până în 2018 denotă prevalarea speciilor de *Aspergillus Niger*, *A. Welwitschiae*, la pacienții diagnosticați cu OM [138]. Ca regulă,

totuși, cel mai frecvent agent patogen este *Aspergillus niger* (37,59%), deseori în combinație cu *Candida glabrata* (18,8%) [40]. Cazuri izolate de OM pot fi cauzate de fungii genului *Mucor*, *Alternaria*, *Kladosporium* etc. [363].

Pe parcursul vieții, oamenii contactează adesea cu ciupercile prezente în biosferă, iar unul dintre organele de simț predispușe în mod special pentru colonizarea fungică este urechea [254]. Afectarea barierelor de protecție ale analizatorului auditiv poate conduce la declanșarea unei infecții micotice auriculare [332].

Fapt ce este demonstrat în cazul administrării antibioticilor pentru tratarea bolilor auriculare, unde pe lângă efectul antibacterian pronunțat, frecvent se manifestă reacții adverse importante ca otomicoza. Aceasta argumentează utilizarea antimicoticelor în tratamentul bolilor auriculare [15, 36].

Otomicoza este de obicei o infecție benignă și superficială, adesea asimptomatică în stadiile incipiente și nu este considerată amenințătoare de viață. Cu toate acestea, în anumite situații, infecția poate deveni recurentă datorită mediului ideal pentru creșterea fungică oferit de CAE. Este important de menționat că infecția se poate răspândi și poate afecta urechea medie în aproximativ 10% din cazuri. Durerea, care poate varia ca severitate, durerea de cap și tinitusul sunt, de asemenea, frecvente. Edemul și roșeața CAE, descumarea epitelului și afectarea auzului sunt adesea constatări clinice prezente la pacienții cu OM [354].

La pacienții care sunt imunocompromiși se pot dezvolta forme acute invazive fatale de infecție fungică în urechea medie și internă. Aceasta poate duce la meningită sau invazie fungică a mucoasei și distrugerea oaselor mastoide. Înfrățirea progresivă a bolii fungice invazive poate fi însoțită de paralizie facială acută, dezechilibru și surditate [276]. Lipsa ghidurilor și protocoalelor terapeutice oficiale a dus la dezacorduri între experți cu privire la tratamentul optim pentru infecțiile fungice. În plus, durata tratamentului este, de asemenea, nedefinită. Astfel, luarea în considerare atentă a dovezilor, a factorilor pacientului și a raționamentului clinic este crucială în determinarea celei mai adecvate abordări. Mulți autori consideră că este necesar să se identifice agentul cauzal și să se aleagă cel mai eficient antimicotic pe baza sensibilității specifice determinate anterior. Cu toate acestea, alți autori sugerează că este recomandabil să se selecteze un tratament adecvat pe baza eficacității generale și a caracteristicilor medicamentului, indiferent de tipul de agent patogen.

La momentul de față, terapia actuală a infecțiilor include patru clase chimice principale de antimicotice: azoli (imidazoli, triazoli, tiazoli), echinocandine (caspofungin, micafungin și anidulafungin), fluoropirimidine (5-fluorocitozină) și poliene (amfotericină B, nistatina și natamicină) [49]. În Franța, nistatina este recomandată ca tratament local de primă linie a

otomicozei, utilizată de obicei în combinație cu oxitetraciclina, polimixina B și dexametazona timp de până la 15 zile [115]. Alți agenți antifungici, cum ar fi miconazolul, bifonazolul, izoconazolul și ciclopiroxolamina, pot fi, de asemenea, utilizați pentru tratamentul otomicozei. Cu toate acestea, studiile *in vitro* și monitorizarea tratamentului au arătat că aceste antifungice au un efect inegal asupra drojdiilor și mucegaiurilor, miconazolul fiind mai puțin eficient împotriva diferitelor specii din genul *Candida* [117].

Unele studii au raportat, de asemenea, o bună eficacitate *in vitro* a efinaconazolului, lanconazolului și luliconazolului împotriva speciilor *Aspergillus*, dar au fost observate sensibilități mai mici ale ravuconazolului împotriva *A. tubingensis* și *A. niger*, care sunt cei mai răspândiți agenți cauzali ai otomicozei [196]. Într-un studiu efectuat în anul 2022, care a comparat eficacitatea clinică a sertaconazolului cu alți imidazoli, au fost raportate efecte satisfăcătoare la pacienții cu OM, dar nu a fost observată nicio diferență semnificativă în comparație cu tratamentul cu miconazol și clotrimazol [146]. Conform unor date, terbinafina, naftifina și clornitrofenolul au fost cele mai eficiente în tratamentul local pentru otomicoza indusă de mucegai, în timp ce clotrimazolul sau alilaminele (terbinafină și naftifina) s-au dovedit a fi cea mai bună alegere pentru otomicoza *Candida*. Sa observat că tratamentele antifungice locale trebuie aplicate cel puțin 3-4 săptămâni cu monitorizare constantă de laborator [117].

Otomicoza necesită tratament prompt și are o tendință de recidivă, în această ordine de idei s-a constatat că clotrimazolul este unul dintre remediile eficiente de tratament împotriva OM. S-a constatat că eficacitatea azolilor depinde de durata tratamentului. O săptămână de tratament cu clotrimazol a vindecat doar 35% dintre pacienți, în timp ce 4 săptămâni de tratament au vindecat 70%. Grupul de azoli s-a dovedit a fi destul de eficient în tratarea otomicozei [265].

Un alt reprezentant din clasa imidazolilor este sertocanazolul, ce conține un inel de benzotiofen care crește capacitatea medicamentelor de a forma pori în membrana celulelor fungice, iar celula fungică va muri din cauza pierderii adenzin-trifosfatului prin acești pori. Speciile sensibile la sertaconazol s-au dovedit a fi: *Candida albicans*, *Epidermophyton floccosum*, *Trichophyton mentagrophytes* și *Trichophyton rubrum*. Conform studiului clinic (Shadman N., Hooshang G., Ali F., 2022), sertaconazolul a ameliorat simptomele de otalgie, otoree și plenitudine auditivă în primele două săptămâni, iar pruritul urechii a fost ameliorat în a patra săptămână. Rezultatele studiului denotă că sertaconazolul a avut o rată de răspuns de 96,43%, ceea ce denotă o eficacitate foarte înaltă [372].

Pentru tratamentul sistemic al bolilor fungice ale urechii, sunt utilizate Nistatina, Lamisil, Pimafucin, Clotrimazol, Diflucan, Flucostat etc. Conform unor studii clinice și de laborator, cele mai eficiente medicamente în tratamentul infecțiilor ORL sunt: Diflucan, Pimafucin și Lamisil. În



tratamentul local al otomicozei cauzate de genul *Aspergillus* se utilizează Nitrofungin și Exoderil, iar pentru genul *Candida* se utilizează Pimafucin și Clotrimazol. În procesele fungice asociate (*Aspergillus* și *Candida*) medicamentul antifungic Exoderil (clorhidrat de naftifină) s-a dovedit cel mai eficient [324].

Având în vedere polietiologia bolii (posibilitatea prezenței florei bacteriene și fungice), tratamentul trebuie să includă substanțe medicamentoase cu acțiune antibacteriană și antimicotică, ce se realizează prin utilizarea picăturilor auriculare combinate [177]. Iar pentru tratamentul infecției bacteriene asociate sunt preferate fluorochinolonele, care au un spectru extins de acțiune și sunt lipsite de ototoxicitate. Pentru a evita problemele care pot apărea la aplicarea separată a medicației antifungice și antibacteriană (erori de dozare, durate de aplicare, etc.) sunt preferate combinațiile topice de medicamente [316]. Combinația EC cu CIP sub formă de picături auriculare poate fi eficientă în tratamentul otitei externe mixte și ca opțiune pentru tratamentul otomicozei datorită acțiunii antifungice cu spectru larg. Fiind considerat unul dintre cei mai activi agenți antifungici împotriva ciupercilor *Aspergillus* (principalii agenți patogeni ai otomicozei), econazolul este preferențial clotrimazolului, față de care acest gen a dezvoltat rezistență.

Otita supurată (OS) este o infecție bacteriană prelungită și adesea recurentă a urechii medii și a cavității mastoide, definită prin perforarea membranei timpanice și otoree, care durează mai mult de 2 săptămâni, conform Organizației Mondiale a Sănătății (OMS). Infecția se dezvoltă de obicei în copilăria timpurie, cu un vârf în jurul vârstei de 2 ani, dar poate persista până la vârsta adultă. OS este una dintre cele mai frecvente boli infecțioase întâlnite în practica otorinolaringologiei, tabloul caracteristic fiind otoreea cronică sau persistentă timp de 2 până la 6 săptămâni printr-o membrană timpanică perforată [177].

Organizația Mondială a Sănătății estimează că între 65 și 330 de milioane de oameni suferă de OS în întreaga lume. Prevalența a OS mai mare de 4% indică o „problemă critică de sănătate publică. Cea mai mare povară a acestei afecțiuni se găsește în țările cu venituri mici din Africa Subsahariană și Oceania, cu un număr mai mare în rândul copiilor sub 5 ani. În Statele Unite, OS apare la o rată mai mică de 1%, în timp ce în multe țări în curs de dezvoltare sunt observate ratele mai mari de 4%. Cu toate acestea, prevalența globală a OS nu poate fi explicată pe deplin prin statutul socioeconomic al unei anumite țări, datele de prevalență disponibile afișând eterogenitate în regiunile cu statut socioeconomic similar [177].

OMS consideră că stabilirea intervențiilor la nivel de îngrijire primară și la nivel comunitar poate avea un impact potențial asupra ratelor de prevalență ale OS.

*Morbiditatea în bolile cronice ale urechii.*

Cercetările efectuate în țările industrializate dezvăluie că aproximativ 80% dintre preșcolari

ar fi putut trece prin cel puțin un singur episod de otită medie acută (OMA) înainte de a împlini trei ani, iar aproape 40% vor avea șase sau mai multe recidive până la atingerea vârstei de șapte ani. Comparabil cu alte boli transmisibile, impactul OMA variază semnificativ între diferite țări, în funcție de prevalența complicațiilor supurative, cum ar fi mastoidita, rata de incidență a meningitei și probabilitatea de dezvoltare a sechelelor asociate cu OS. Pierderea auzului apare frecvent în OS ca o hipoacuzie conductivă ușoară până la moderată în până la 50% din cazuri. Infecția bacteriană a urechii medii se poate răspândi și la urechea internă, ceea ce poate duce la toxicitatea permanentă a celulelor părului cohlear și ca rezultat poate avea loc pierderea auzului sensorineural. Se estimează că 534 de milioane de oameni sunt afectați în întreaga lume de un anumit grad de hipoacuzie, dintre care 80% sunt în țările în curs de dezvoltare. Rate mai mari de pierdere a auzului în aceste regiuni pot fi legate de incidența crescută de OS. OMS estimează că până la 28 000 de decese anuale pot fi atribuite OS la nivel global [177]. Aceste rezultate fac din OS o problemă majoră de sănătate publică care necesită o atenție imediată pentru a-i reduce prevalența la nivel mondial.

Deși virusurile sunt cea mai frecventă etiologie în otita medie, bacteriile la fel prezintă o cauză a otitei medii cronice supurate la copii. Etiologia este de obicei polimicrobiană. În funcție de factorii precum locația geografică, starea imunității personale, istoricul utilizării antibioticelor și alte elemente ale gazdei implicate, microbiologia OS variază foarte mult. Spectrul bacterian cel mai adesea identificat în urechea medie afectată este dominat de *Pseudomonas aeruginosa*, care este considerată clinic semnificativă datorită capacității sale de a dezvolta biofilme și capacității de rezistență la antibiotice. Alături de acesta, *Staphylococcus aureus* conviețuiește de obicei cu un impact inflamator similar, deoarece această bacterie poate genera toxine dăunătoare care declanșează leziuni tisulare. La fel sunt întâlnite și *Enterobacteriaceae*, cum ar fi *Proteus spp.* și *Klebsiella pneumoniae*. Microbiologia OS implică existența diverselor microorganisme, incluzând ocazional o relație sinergică între aerobi și anaerobi, cum ar fi *Peptostreptococcus spp.* și *Prevotella spp.* Mai puțin frecvente sunt *Aspergillus spp.* și *Candida spp.* care se întâlnesc mai mult la pacienții imunocompromiși. *Mycobacterium tuberculosis* este o cauză rară de infecție cronică a urechii medii, dar otomastoidita tuberculoasă trebuie luată în considerare la un pacient care prezintă scurgeri cronice ale urechii [143].

Incidența crescută a OS în rândul copiilor se explică prin faptul că, trompa lui Eustachio la copii este mai scurtă, mai orizontală, cu un cartilaj mai slab, care poate îngreuna deschiderea acesteia. Pe lângă aceasta, sistemul imunitar imatur și o susceptibilitate mai mare la infecții la copii cresc riscul acestora [5]. Alți factori de risc includ tratamentul inadecvat pentru infecțiile urechii, igiena precară și factorii de mediu. Deoarece patogeniza și microbiologia variată a OS nu sunt pe deplin înțelese, este

important să se investigheze prevalența diferiților agenți patogeni în diferite zone [131].

Recent se consideră că biofilmul bacterian are un rol major în dezvoltarea infecțiilor ORL, inclusiv otitei medii. Formarea biofilmului facilitează infecțiile bacteriene cronice și reduce eficacitatea terapiei antimicrobiene [4].

OS poate fi clasificată în 2 tipuri distincte: tubotimpanic și aticoantral, în funcție de partea afectată a membranei timpanice [155, 168].

Chiar dacă patogeneza este multifactorială, debutul clinic este frecvent un episod de OMA, complicat de perforarea membranei timpanice și o suprainfecție ulterioară a urechii medii cu bacterii care pătrund prin canalul urechii externe [60]. S-a demonstrat că, utilizarea greșită și excesivă a antibioticelor în ultima vreme au dus la modificări ale tulpinilor bacteriene importante, precum și a răspunsurilor acestora la antibiotice. Prin urmare, actualizarea regulată a informațiilor privind prevalența și antibiograma acestor microorganisme pentru otita medie cronică ar ajuta la tratamentul pacientului [169].

Dintre antibioticele topice, chinolonele sunt mai eficiente decât alte antibiotice topice, iar în combinație cu toaleta auditivă prezintă rentabilitate înaltă în comparație cu alte tratamente [187].

*Chinolonele* sunt incluse în tratamentul de elecție, recomandat de OMS, pentru OS din cauză activității înalte împotriva *P. aeruginosa* și lipsei efectelor secundare potențiale - cohleotoxicitate și vestibulotoxicitate, atribuite aminoglicozidelor. Medicamentele antipseudomonale beta-lactamice, cum ar fi ceftazidima, sunt utilizate în cazurile care necesită un regim parenteral. Ticarcilina-clavulanat este un agent alternativ care este eficient împotriva *Pseudomonas* sp. și *S. Aureus* [253].

Ciprofloxacina, datorită spectrului larg de acțiune împotriva microorganismelor gram-pozitive și gram-negative, prezintă eficacitate înaltă în tratamentul infecțiilor urechii sub formă de picături auriculare [18].

Pe baza rezultatelor testării sensibilității antimicrobiene, chinolonele topice pot fi considerate ca terapia antibacteriană preferințială a OS. Cu toate acestea, antisepticele topice, cum ar fi acetatul de aluminiu, acidul acetic sau acidul boric, pot fi opțiuni mai fezabile datorită unei eventuale rezistențe antimicrobiene [292]. Antisepticele pot fi utilizate individual sau în combinație cu alte tratamente pentru OS, cum ar fi antibioticele sau toaleta auditivă, însă acestea pot provoca iritații ale pielii urechii externe, manifestându-se sub formă de disconfort, durere sau mâncărime [120].

Aplicarea pe larg a corticoterapiei, ca adjuvant al tratamentului antibacterian, pentru a mărgini răspândirea infecției, și a reduce eozinofilia duce la scăderea efectului [239]. În practica medicală frecvent este întâlnită asocierea dintre dexametazonă și ciprofloxacina sau fluocinolon și

ciprofloxacină sub formă de picături auriculare combinate pentru tratamentul otitei medii [202].

Tratamentul *chirurgical* sau timpanostomia (incizia membranei timpanice) se indică atunci când tratamentul medicamentos nu oferă răspuns, iar afecțiunea nu este la stadiul de regresie, sau în cazul apariției complicațiilor [177, 137].

Cu scopul obținerii unei terapii eficiente a OS, este justificată utilizarea formelor farmaceutice combinate, cu conținut de agenți antibacterieni, antiinflamatori, antifungici și antiseptice [105]. Preparatele locale, în special picăturile auriculare, sunt de regulă mai preferabile, datorită absorbției sistemice scăzute, acțiunii polivalente, comodității și simplității de utilizare [321]. În tratamentul infecției auriculare un rol important are stimularea proceselor reparative în faza de epitelizare pentru formarea țesutului nou. Mecanismul de recuperare a plăgilor infecțioase nu este uniform, însă o condiție importantă pentru regenerare este stimularea sintezei de ARN, ADN și proteine. În același timp are loc eliberarea de substanțe vasoactive și factori de creștere, care activează fibroblastele, celulele endoteliale și macrofagi. Cel mai mare interes prezintă acele preparate, efectul regenerator al cărora se datorează mai multor mecanisme de acțiune. Un astfel de efect polivalent îl au pirimidinele. MU este utilizat demult cu succes ca un stimulator de reparație a țesuturilor sub formă de unguent și supozitoare. Preparatul are mai multe proprietăți, care determină efectul său de vindecare a rănilor: antiinflamator, anabolizant și imunostimulator [235]. OS rămâne o boală infecțioasă cronică semnificativă a copilăriei, cu implicații globale [54].

### ***1.2.2. Hipoacuzia senzorieurală***

Hipoacuzia reprezintă scăderea acuității auditive sau este asociată cu orice dificultate de percepție a sunetului. Pierderea auzului, fie ea parțială sau totală, influențează viața oamenilor, creând obstacole în încadrarea acestora în societate [335].

Expunerea frecventă la zgomot puternic poate deteriora celulele păroase sensibile la sunet din urechea internă, deci este important de protejat auzul de mediile dăunătoare. Clasificarea hipoacuziilor în funcție de mecanismul de producere distinge hipoacuzia de transmitere, neurosenzorială (de percepție) și hipoacuzia mixtă [277].

Datele statistice denotă, că circa 466 de milioane de oameni din întreaga lume suferă de o disfuncție auditivă, dintre care 34 de milioane sunt copii. Se estimează că până în 2050 peste 900 de milioane de persoane vor suferi de surditate cu grad de invaliditate. Pierderea auzului din cauza neadresării la timp are ca rezultat pierderi globale anuale de 750 miliarde USD [361]. Incidența pierderii auzului senzorieural variază în diferite țări. În Statele Unite ale Americii, hipoacuzia senzorieurală instalată brusc afectează între 5-27 la 100.000 de persoane în fiecare an, cu aproximativ 66.000 de cazuri noi anuale [48].

La momentul de față în Republica Moldova sunt înregistrate peste 5 mii de persoane care suferă de deficiențe de auz [103]. Incidența acestei boli a crescut în ultimii ani, ceea ce poate fi asociat cu factori precum stilul de viață rapid, munca de mare intensitate și poluarea fonică a mediului în societatea [197, 257].

Dintr-o perspectivă moleculară, în dezvoltarea acestei afecțiuni pot fi implicați o serie de factori, cum ar fi mutații genetice, modificări epigenetice și anomalii ale proteinelor [267].

Pe lângă nivelul molecular, etiologia și mecanismele acesteia implică, de asemenea, diverse aspecte, cum ar fi bolile neurodegenerative, infecția, intoxicația și hipoxia. În perioada pandemiei au fost înregistrate o serie de cazuri cu instalarea hipoauziei senzorieurale în rândul persoanelor infectate cu virusul COVID-19, care nu au raportat acuze de genul dat, și nici au fost supuși factorilor de risc cum ar fi zgomotul [289]. La fel, toxinele precum medicamentele ototoxice și solvenții organici pot provoca, leziuni ale nervului auditiv, ducând la apariția surdității senzorieurale [136]. Printre factorii care afectează endoteliul vascular se întâlnesc: hiperlipoproteinemia, hipertensiunea arterială, fumatul, diabetul zaharat. Iar în rândul pacienților cu comorbidități cardio-vasculare, ateromatoza vasculară afectează vascularizația cohleară și indirect poate duce la o reacție inflamatorie, cu eliberarea de specii reactive de oxigen [58].

#### *Strategii pentru prevenirea hipoacuziei și metode de tratament.*

În general, se sugerează că jumătate din toate cazurile de pierdere a auzului pot fi prevenite prin măsuri de sănătate publică. La copiii cu vârsta de sub 15 ani, 60% din pierderea auzului este atribuibilă unor cauze care pot fi prevenite. Această cifră este mai mare în țările cu venituri mici și medii (75%) comparativ cu țările cu venituri mari (49%) [8].

Cauzele prevenibile ale pierderii auzului în copilărie includ: infecții precum oreion, rujeola, rubeola, meningita, infecții cu citomegalovirus și otita medie cronică (31%); complicații la momentul nașterii, cum ar fi asfixia, greutatea redusă la naștere, prematuritatea și icterul (17%); utilizarea medicamentelor ototoxice în perioada sarcinii (4%); altele (8%) [251].

Instrumentele principale aplicate în prevenirea și tratamentul pierderii auzului senzorieural sunt terapia medicamentoasă, reabilitarea auditivă și metodele de intervenție individualizate [374]. Deoarece majoritatea cazurilor sunt idiopatice, managementul este empiric [270]. Ca regulă, se recomandă odihna la pat, terapia cu steroizi, inhalarea carbogenului, medicamente vasodilatatoare și vasoactive, oxigenoterapia hiperbară [192]. Tratamentul hipoacuziei senzorieurale necesită o conduită specifică, în special combinată, care ar conduce la sporirea hemodinamicii în regiunea urechii interne, ameliorarea metabolismului, proprietăților reologice ale sângelui și stimularea analizatorului auditiv [330, 331].

Eficiența terapeutică s-a demonstrat în cazul utilizării medicamentelor precum

*antioxidanții, neurotonice* (ex. PIR) și imunomodulatorii, care joacă un rol în protejarea funcției nervoase cohleare și auditive. Este justificată includerea în schemele de tratament pentru hipoacuzia senzorieurală a NIC [191], care manifestă efectele de îmbunătățire a circulației cerebrale prin creșterea volumului sangvin și stimularea metabolismului la nivelul creierului [97].

Recent, transplantul de celule stem a fost aplicat treptat și în tratamentul hipoacuziei senzorieurale [163]. Protezele auditive sunt pilonul de bază al tratamentului în cazurile cronice și există diferite tipuri. Implanturile cohleare și utilizarea lor variază la nivel mondial [281].

Deși medicația este unul dintre principalele tratamente pentru hipoacuzia senzorieurală, eficacitatea sa nu este întotdeauna ideală, fiind determinată de apariția reacțiilor adverse greu tolerate sau grave. În plus, terapia cu medicamente necesită o utilizare pe termen lung pentru a obține o eficacitate mai bună, ceea ce poate cauza sarcini psihologice și economice pentru unii pacienți. Prin urmare, tratamentul hipoacuziei senzorieurale trebuie să ia în considerare factori precum starea fizică a pacientului, severitatea bolii, obiectivele și riscurile tratamentului și să adopte un plan de tratament individualizat.

### **1.3. Principii de selectare a substanțelor active pentru elaborarea produselor farmaceutice combinate**

Medicamentele cu combinație fixă oferă posibilitatea de a simplifica administrarea în cazul în care o combinație de substanțe active este deja recunoscută cu o revendicare terapeutică existentă. Alternativ, un medicament cu combinație fixă poate fi dezvoltat de *novo* pentru a aborda o nouă revendicare terapeutică.

O atenție deosebită trebuie acordată dozelor fiecărei substanțe active din medicamentul cu combinație fixă, fiecare combinație de doze fiind justificată științific și relevantă clinic. Combinația propusă ar trebui să se bazeze întotdeauna pe principii terapeutice valide. De asemenea, profilul combinat de siguranță (și eficacitate) al tuturor substanțelor active din medicamentul cu combinație fixă trebuie să fie luate în calcul.

#### *Cerințe de date clinice pentru o combinație fixă de medicament.*

Este necesar să se justifice gruparea farmacologică și medicală pentru combinația specială de substanțe active din medicamentul cu combinație fixă și pentru indicația terapeutică dorită. La fel, ar trebui să țină seama și de doze, inclusiv de frecvența dozării și schema de dozare a substanțelor active incluse în medicamentul cu combinație fixă. Un aspect important al medicamentului cu o combinație fixă, include evaluarea potențialelor avantaje clinice ale terapiei combinate în raport cu utilizarea monoterapiilor, pentru a determina dacă produsul îndeplinește cerințele privind eficacitatea și siguranța. Totodată, farmacocinetica substanțelor active

individuale trebuie bine înțeleasă [111].

Selectarea farmacoterapiei în baza cunoașterii relațiilor structură-activitate, a grupelor funcționale farmacofore oferă mai multe avantaje [174]. Biodisponibilitatea este o caracteristică biofarmaceutică importantă a ingredientelor farmaceutice active (API), care este adesea corelată cu solubilitatea lor în apă. Una dintre metodele de creștere a solubilității este liofilizarea [280].

Proprietăți fizico-chimice precum hidrofobicitatea moleculei, efectul electronic și efectul steric sunt direct legate de structura chimică a compusului și pot fi corelate cantitativ de activitatea farmacologică. Rolul proprietăților fizico-chimice, care sunt dependente de structurile moleculare, ar trebui luate în considerare în primul rând, pentru că nu pot fi schimbte barierele, dar pot fi elaborate forme de dozare, în care influența proprietăților fizico-chimice, cum ar fi solubilitatea, pH-ul, viteza de dizolvare etc. pot ar fi modificate într-o direcție pozitivă. [218].

Investigarea proprietăților fizice și chimice ale unei substanțe medicamentoase – singură sau combinată cu excipienți este crucială în timpul studiilor de preformulare. Cunoașterea acestora este primul pas în dezvoltarea rațională a unei forme de dozare [252, 130, 242]. Iar cunoașterea principiilor de relațiile structură-activitate (SAR), care se referă la o serie de tehnologii puternice de proiectare a medicamentelor, tehnologii create pentru a studia relațiile dintre structura chimică și activitatea biologică a unei molecule, oferă șanse de a reduce din timpul și cheltuielile de dezvoltare a medicamentului [237, 74, 214, 76].

### ***1.3.1. Derivați de nitrofuran cu acțiune antibacteriană topică***

Până în prezent, au fost introduse multe molecule și super molecule sintetice din punct de vedere chimic și natural, cu efecte antibacteriene [74, 214].

Nitrofuranii ( $C_8H_6N_4O_5$ ) sunt chimioterapice sintetice cu un spectru larg de activitate împotriva majorității bacteriilor Gram-pozitive și Gram-negative, ciupercilor și protozoarelor. Astăzi, cercetările asupra nitrofuranilor s-au concentrat pe proiectarea și sintetizarea complexilor hibridi ai acestor compuși pentru a minimiza efectele secundare și a crește eficiența tratamentului. Efectul antibacterian al nitrofuranilor rezultă din produse de reducere slab caracterizate care sunt derivate din degradarea medicamentului de către enzimele bacteriene nitroreductaze.

Complexarea nitrofuranilor cu benzotiazol a dus, de asemenea, la o potență crescută împotriva unei varietăți de agenți patogeni importanți precum *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* și *Salmonella typhimur* [264].

Derivații de nitrofuran au fost utilizați ca antibacterieni încă de acum aproape 8 decenii și se caracterizează prin activitatea lor puternică împotriva unei game largi de organisme patogene.

Nitrofurantoina, nifuroxazida și furazolidona sunt câteva medicamente antibacteriene din

compuşii heterociclici care conţin sistemul inelar nitrofuran. În plus, există şi lucrări publicate privind proprietăţile antituberculoase promiţătoare ale derivaţilor de nitrofuran. Pentru a-şi exercita acţiunea antimicrobiană, derivaţii de nitrofuran sunt activaţi metabolic în interiorul microorganismului. Acest lucru se realizează prin enzima microbiană nitroreductaza care reduce gruparea nitro ( $-\text{NO}_2$ ) pentru a produce diverşi radicali liberi care în cele din urmă dăunează microorganismului. Principalele caracteristici farmacoforice ale 5-nitrofuranelor sunt o grupare nitro ( $-\text{NO}_2$ ) direct legată de un inel furan în plus faţă de o porţiune hidrazonă care contribuie la stabilitatea generală a inelului de nitrofuran, facilitând formarea radicalilor liberi [170].

Izohidrafuralul (IHF, izonicotinoilhidrazonă aldehidă 5-nitro-2-furan) este un compus organic stabil din clasa antibacterienilor de tip nitrofuran. IHF a fost sintetizat din 5-nitrofurfural şi izoniazidă şi s-a dovedit a fi de două până la patru ori mai activ faţă de bacteriile Gram-negative şi Gram-pozitive şi prezintă de nouă ori mai puţină toxicitate decât compusul de bază nitrofurazonă împotriva unui număr mai mare de microorganisme responsabile de infecţiile nosocomiale şi stabilitatea pe termen lung. Cu toate acestea, nu există date pentru compararea activităţii antimicrobiene a IHF cu nitrofurantoina, care este utilizată în mod obişnuit [244, 21].

### ***1.3.2. Regenerante cu aplicare topică***

În ultimii ani s-au făcut progrese semnificative în înţelegerea mecanismelor de reparare a rănilor, inclusiv rolul monocitelor şi macrofagelor, diferenţierea fibroblastelor şi funcţiile miofibroblastelor, precum şi coordonarea dintre sistemul imunitar şi tulpina tisulară [31].

Produsele pe bază de medicină regenerativă pot fi clasificate în următoarele două categorii: terapii pe bază de celule şi terapii fără celule. Adecvarea terapiei bazate pe medicina regenerativă pentru regenerarea pielii se bazează pe proprietăţi, cum ar fi diferenţierea multidirecţională, auto-replicarea, imuno-modularea, reglarea inflamaţiei, angiogeneza şi hemostaza, care se manifestă prin eliberarea diferitelor citokine şi factori de creştere [268].

La rândul lor, şi macrofagele joacă un rol imunomodulator major după 3 zile de formare a plăgii şi sunt reglatori cheie ai micromediului inflamator local. Odată cu dezvoltarea continuă a cercetării şi a medicinei regenerative, celulele stem, ca o nouă stea importantă în domeniul medicinei regenerative, vor continua să contribuie la progresul medicinei [133].

Uracilul este o nucleobază de pirimidină comună şi naturală în care inelul pirimidinic este substituit cu două grupări oxo- în poziţiile 2 şi 4. Găsit în ARN, se împerechează bazele cu adenina şi înlocuieşte timina în timpul transcripţiei ADN-ului [44]. Uracilul este, de asemenea, o componentă a mai multor coenzime care acţionează împreună cu enzimele în mai multe procese ale metabolismului carbohidraţilor [39]. Derivaţii de uracil, cum ar fi citozina, 1-metil citozina şi



citidina sunt molecule foarte importante, deoarece sunt blocuri de construcție ale acidului dezoxiribonucleic (ADN) și acidului ribonucleic (ARN) [266].

Medicamentele pe bază de pirimidină stimulează regenerarea țesuturilor și imunitatea, 6-MU fiind cunoscut pentru efectele sale pozitive asupra regenerării celulare [135, 219].

### ***1.3.3. Utilizarea fluorchinolonelor în tratamentul infecțiilor auriculare***

Chinolonele antibacteriene (QN) și fluorochinolonele (FQN) reprezintă una dintre cele mai importante clase de agenți antimicrobieni din multe puncte de vedere: spectrul de activitate, administrări și distribuția tisulară, fiind utilizate în primul rând pentru combaterea infecțiilor bacteriene. Necesitatea descoperirii continue de noi derivați a apărut, având în vedere această amenințare majoră, pentru a ține pasul cu adaptarea bacteriilor [215, 214, 19].

Fluorochinolonele (FQN) antibacteriene au un efect bactericid implicând un anumit mecanism de acțiune, și anume inhibarea replicării și transcripției ADN-ului. Acest mecanism este realizat prin interacțiunea cu complexe de ADN și enzimele ADN girază (o topoisomereză de tip II) și topoisomeraza IV [164].

Ciprofloxacina este un agent antibiotic din clasa fluorochinolonelor utilizat pentru tratarea infecțiilor bacteriene, cum ar fi infecțiile tractului urinar și pneumonia. Ciprofloxacina are aprobarea FDA pentru tratarea infecțiilor tractului urinar, infecțiilor cu transmitere sexuală (gonoree și chancroid), infecții ale pielii, oaselor, articulațiilor, prostatita, febra tifoidă, infecțiile gastrointestinale, infecțiile tractului respirator inferior, antraxul, ciuma și salmoneloză. În plus, ciprofloxacina este o opțiune de tratament adecvată la pacienții cu infecții mixte sau la pacienții cu factori predispozanți pentru infecții Gram-negative [147, 282].

Spectrul antibacterian al CIP include: *Streptococcus pneumoniae* (doar izolate sensibile la penicilină), *Enterococcus faecalis* (doar izolate sensibile la vancomicină), *Staphylococcus epidermidis* (doar izolate sensibile la meticilină), *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus aureus* (numai izolate meticilină-sensibile), *Streptococcus* spp., *Citrobacter koseri* (diversi), *Proteus mirabilis*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Morganella morganii*, *Haemophilus influenzae*, *Haemophilus parainfluenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis*, *Campylobacter jejuni*, *Proteus vulgaris*, *Providencia rettgeri*, *Providencia stuartii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi* [19].

CIP este aprobată de FDA pentru tratamentul infecțiilor tractului urinar, infecțiilor cu transmitere sexuală (gonoree și chancroid, infecții ale pielii și țesuturilor moi, infecții osoase, articulare, prostatita, pneumonie, febră tifoidă, infecții gastrointestinale, infecții ale tractului respirator inferior, antrax prin inhalare (profilaxia post-expunere), ciuma și salmoneloză,

exacerbarea bacteriană acută a bronșitei cronice. Este necesar de menționat că ciprofloxacina nu ar trebui să fie tratamentul empiric de primă linie pentru infecțiile tractului respirator dacă *Streptococcus pneumoniae* susceptibil la penicilină este agentul patogen primar. CIP este o opțiune de tratament adecvată la pacienții cu infecții mixte sau la pacienții cu factori predispozanți pentru infecții Gram-negative [164].

#### **1.3.4. Antifungice cu acțiune topică în tratamentul otomicozelor**

În ultimii ani cercetările privind descoperirea de noi clase de medicamente antifungice au luat amploare [367, 236].

Utilizarea prelungită a antibioticelor topice modifică flora locală a canalului urechii, ducând la proliferarea fungică și otomicoză. Pacienții cu otomicoză apelează la sfatul specialiștilor ORL atunci când starea lor devine constantă, în ciuda mai multor cure de antibiotice topice

Există cel puțin șase clase principale de medicamente pentru tratamentul infecțiilor fungice: azoli, poliene, analogi nucleozidici, echinocandine, antiseptice și hidroxichinoline. Azolii topici sunt utilizați datorită disponibilității lor largi, riscului scăzut de ototoxicitate și ratelor scăzute de rezistență la medicamentele antifungice. Exemplele includ bifonazol, clotrimazol, eberconazol, fluconazol și miconazol. Clotrimazolul este cel mai utilizat azol local. Poate fi eliberat sub formă de loțiune 1% sau cremă topică, cu durata tratamentului variind de la câteva zile la patru săptămâni. Efectele secundare sunt adesea localizate și limitate la înroșirea pielii și arsuri. Clotrimazolul are o rată raportată de eficacitate în otomicoză care variază de la 50% la 100%. Azolii topici pot fi utilizați și în cazurile de timpane perforate [184].

Medicamentele antifungice aplicate în otomicoză nu vindecă întotdeauna boala și, în plus, tratamentul ar trebui să îmbunătățească semnele fiziologice ale canalului urechii externe. Utilizarea acidului boric într-o soluție de alcool pentru tratamentul bolii este asociată cu o rată de recurență de 23%. În plus, utilizarea soluțiilor antifungice, cum ar fi clotrimazol sau nistatina, poate fi eficientă pentru tratamentul infecțiilor cu *Candida*, dar infecțiile cu *Aspergillus* răspund slab la tratament. Acest lucru se întâmplă în timp ce o gamă largă de ciuperci au fost raportate că provoacă otomicoză, iar cea mai comună specie este *Aspergillus*. Prin urmare, este necesar un regim de tratament adecvat pentru tratament. Pe de altă parte, utilizarea pe scară largă și inutilă a tratamentului antibacterian pentru otita medială și externă poate provoca o creștere excesivă a fungilor în această zonă, astfel încât efectele adverse ale utilizării antibioticelor cu spectru larg sunt creșterea secundară a ciupercilor și creșterea prevalenței otomicozei [188].

Unele cercetări arată că clotrimazolul este unul dintre cele mai eficiente agenți pentru managementul otomicozei, cu o rată de eficacitate raportată de 95% până la 100%. Conform unui

studiu prospectiv randomizat se poate concluziona că utilizarea picăturilor topice de clotrimazol 1% și cremă de clotrimazol 1% sunt la fel de eficiente în gestionarea otomicozei. Crema duce la o senzație de blocare mai mare în primele șapte zile în comparație cu picăturile. Unele studii atestă o recuperare a otomicozei folosind betadină locală și clotrimazol [184].

O meta-analiză recentă compară rezultatele utilizării antifungicelor topice cu antisepticele tradiționale topice în tratamentul otomicozelor [362]. Dovezile sugerează că clotrimazolul are o diferență mică sau deloc în rezoluția micologică în comparație cu alți azoli topici [160].

Antifungicele topice sunt în general utilizate din cauza eficacității lor ridicate și datorită potențialului scăzut de efecte adverse sistemice. Aceste medicamente sunt combinate în diferite tipuri de vehicule, cum sunt creme, loțiuni, geluri sau spray-uri pentru a facilita penetrarea și eficacitatea în funcție de locul de implicare. Ele pătrund cu ușurință în stratul cornos atunci când sunt aplicate pe suprafața pielii, ceea ce duce la uciderea ciupercilor sau la inhibarea creșterii lor, realizând eradicarea clinică și micologică [260].

**Econazolul** este un antifungic topic utilizat pentru a trata tinea pedis, tinea cruris, tinea corporis, candidoza cutanată și tinea versicolor. EC este un antimicotic cu spectru larg, cu o anumită acțiune împotriva bacteriilor Gram-pozitive. Se folosește local în dermatomicoze, atât pe cale orală, cât și parenterală. Se aplică local în tratamentul tinea pedis, tinea cruris și tinea corporis cauzate de *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton tonsurans*, *Microsporum canis*, *Microsporum audouini*, *Microsporum gypseum* și *Epidermophyton floccosum*, în tratamentul cutisului, candidiei și tratamentul tineei versicolore [93]. Aplicarea locală a EC este bine tolerată, cu apariția rară a reacțiilor adverse; în studiile clinice, 3% dintre pacienții tratați cu econazolul au prezentat reacții adverse, inclusiv eritem, arsuri, usturime și prurit [116].

Astăzi asistăm la o creștere semnificativă a articolelor de revizuire bazate pe noi abordări alternative de formulare cu scopul de a îmbunătăți penetrarea medicamentelor antifungice [93].

### ***1.3.5. Vasodilatatoare cerebrale și nootrope în farmacoterapia surdității***

Provocarea clinică în îngrijirea unui pacient cu hipoacuzie senzorieurală bruscă este de a determina o cauză specifică a pierderii auzului. Alegerea tratamentului ar trebui să se bazeze în mod ideal pe cauză. Deoarece cauza este adesea necunoscută, majoritatea studiilor au implicat o strategie de tratament multimodală bazată pe presupunerea că unul sau mai multe medicamente sau tehnici vor inversa modificările fiziopatologice ale sistemului auditiv. S-a postulat frecvent că surditatea senzorieurală are origine vasculară, iar vasodilatatoarele și substanțele reologice sunt utilizate pe scară largă [136]. Vasodilatatoarele măresc calibrul vaselor de sânge și astfel îmbunătățesc fluxul sanguin, în timp ce substanțele vasoactive/reologice cresc fluxul prin vasele

de sânge prin alte mecanisme, cum ar fi modificarea vâscozității fluidului [58]. Nicergolina, un antioxidant, derivat al ergolinei, oferă efecte neuroprotectoare și crește circulația urechii interne, inhibă nu numai peroxidarea lipidelor, ci și generarea radicalilor liberi din neutrofile. Utilizarea clinică a nicergolinei precum în tratarea demenței, tulburărilor vasculare și de echilibru, în special în vertij și tinitus, este recomandată pe scară largă [251]. Studiile nicergolinei privind prevenirea și tratamentul surdității sunt limitate. Totuși, comparativ cu alte vasodilatatoare cerebrale, anume nicergolina este preferată pentru ameliorarea simptomelor surdității. Există mai multe date cu privire la efectele adverse ale derivaților de ergot, dar meta analiza datelor sugerează că nicergolina are un profil de siguranță acceptabil, în ciuda faptului că este un derivat de ergot, nicergolina este un medicament sigur și bine tolerat [191].

Este justificată utilizarea preparatelor nootrope, care influențează pozitiv metabolismul neuronal, cu ameliorarea funcționalității conexiunilor intercorticale și corticosubcorticale [281].

Piracetamul, în calitate de neurotonic, ameliorează procesele metabolice neuronale în leziunile cerebrale hipoxice, toxice, traumatice sau involutive. Totodată se atestă un efect pozitiv asupra proprietăților vâscoelastice ale sângelui, cu prognoze favorabile pentru recuperarea pierderii auzului [374].

Aceste date bibliografice justifică selectarea piracetamului și nicergolinei pentru combinare în aceeași formă farmaceutică, cu aplicare potențială în tratamentul surdității.

### ***1.3.6. Produse de origine vegetală antibacteriene, antifungice și antioxidante în farmacoterapia afecțiunilor auriculare***

Pe parcursul istoriei, plantele au fost folosite pentru tratamentul diferitelor tulburări, indiferent de profilurile lor de siguranță și eficacitate. Studiile anterioare au indicat că aproximativ 80% din populația globului se bazează pe medicina tradițională pentru asistența medicală primară.

Mai multe lucrări științifice au documentat screening-ul farmacologic al extractelor de plante care sunt exploatate ca sursă de importanți agenți terapeutici [272].

#### ***Plante medicinale aromatice cu potențial antimicrobian și antifungic.***

Creșterea rezistenței microorganismelor la antibiotice și apariția de noi boli necesită dezvoltarea urgentă a unor medicamente noi, puternice și eficiente. Plantele medicinale sunt promițătoare, deoarece oferă surse unice și regenerabile de noi compuși antibacterieni, antifungici [6, 100, 211].

Plantele medicinale aromatice sunt folosite în mod tradițional ca surse de uleiuri volatile pentru a trata diferite tipuri de boli infecțioase, inclusiv otomicoza. Agenții antifungici naturali ar putea oferi soluții alternative cu mai puține efecte secundare sau fără efecte secundare. Astfel, utilizarea lor

combinată cu agenți terapeutici standard ar putea îmbunătăți eficacitatea tratamentului. Uleiurile esențiale (EO) sunt antimicrobiene bine-cunoscute deoarece posedă proprietăți antifungice, antibacteriene, antiinflamatorii și antioxidante. Proprietățile antimicrobiene ale EO derivă în principal din compoziția lor, din cantitatea de compuși dominanți și din metoda utilizată pentru a le testa eficacitatea. Datorită naturii lor lipofile, EO și componentele lor active pătrund și se acumulează cu ușurință în stratul dublu lipidic al membranelor citoplasmice. Ținta principală a OE este membrana celulară sau peretele celular. Membrana își pierde integritatea în timp ce permeabilitatea și fluiditatea sunt crescute. Acest lucru întrerupe multe activități celulare (cum ar fi producția de energie, transportul cu membrană). În special, EO care conțin un procent ridicat de compuși fenolici, precum carvacrolul, eugenolul și timolul, au o capacitate mai mare de a modifica permeabilitatea și funcția proteinelor membranei celulare, prin pătrunderea în stratul fosfolipidic al peretelui bacterian, blocând funcțiile normale ale proteinelor. Bacteriile Gram-pozitive sunt mai sensibile la EO decât Gram-negative, datorită complexității membranei lor exterioare, care acționează ca o barieră la permeabilitatea membranei celulare. Astfel, proprietatea naturală antifungică a uleiurilor esențiale produce un efect toxic asupra structurii și funcției membranei celulare care inhibă creșterea agenților patogeni fungici [12, 10].

În cadrul unei cercetări recente, activitatea antifungică a fost testată împotriva principalelor specii de ciuperci care cauzează otomicoza, și anume: *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Candida sp* și *Aspergillus tamarii*. Un rezultat semnificativ a demonstrat uleiul esențial de busuioc, care a avut efect antifungic natural împotriva tuturor agenților patogeni fungici testați. Unii cercetători au raportat că estragolul, eugenolul, linalolul și cinamatul de metil sunt componentele importante antimicrobiene și antifungice care sunt prezente în uleiul esențial de busuioc [102, 101, 145].

La compararea activității uleiurilor esențiale între tulpinile de *S. aureus* sensibile și rezistente la antibiotice, s-au observat niveluri similare de activitate. Cercetările sugerează, că mecanismul care asigură rezistența bacteriană la antibiotice nu a oferit rezistență la uleiurile esențiale [6].

#### ***Uleiul volatil de busuioc.***

Busuiocul *Ocimum basilicum* L. este considerat o sursă valoroasă de compuși chimici cu acțiune antibacteriană și antioxidantă, iar unii dintre compuși se dovedesc a fi eficienți ca fungistatici și insecticizi. UVB conține compuși naturali volatili, o gamă largă de constituenți chimici produși de metabolismul secundar al plantelor și utilizați pentru aplicații în diverse industrii, cum ar fi farmaceutică, cosmetică, parfumerie, produse dentare și orale și aroma terapie și industria alimentară. De asemenea, UVB a fost aplicat în medicina tradițională cu efecte pozitive împotriva febrei și tusei, gripei, astmului și bronșitei. Busuiocul folosit în dieta balcanică este descris ca având proprietăți radioprotectoare, antiinflamatorii, anti stres, antidiabetice și antipiretice.

În literatura de specialitate, UVB-urile au fost descrise pentru proprietățile lor antibacteriene, antifungice, antioxidante, analgezice, antiinflamatorii, hepatoprotectoare și imunomodulatoare. UVB-urile sunt, de asemenea, utilizate ca o parte importantă a pesticidelor biologice, deoarece au proprietăți repelente, larvicide și insecticide [318, 23, 126, 13].

Astăzi, mai multe studii au investigat profilul fitochimic al plantei de busuioc. S-a determinat prezența polifenolilor și flavonozidelor în extractul metanolic din *O. basilicum* prin utilizarea cromatografiei lichide de înaltă performanță (HPLC), și anume: quercetină, rutozidă, kaempferol și acid cafeic. Cercetările recente au indicat, că extractul metanolic de busuioc include doisprezece compuși fenolici activi, precum acid p-hidroxi benzoic, acid ferulic, acid galic acid p-qumaric, acid benzoid, kaempferol, catechină, quercetină, acid clorogenic, acid cafeic, acid cinamic și acid elagic, identificați prin fracționare pe coloană [208].

Cercetările din domeniu demonstrează că uleiul esențial de busuioc a afișat efecte antagoniste împotriva multor bacterii, în special împotriva *E. coli* și *S. typhimurium* și a obținut un efect antimicrobian semnificativ mai bun decât antibioticul comercial, gentamicina [126]. Mai multe studii evaluează activitatea antimicrobiană a nanoemulsiilor de ulei esențial ca fiind una net superioară comparativ cu cea a uleiurilor esențiale [87].

#### **Păducel. *Crataegus monogyna*.**

Speciile de păducel sunt surse bogate de compuși chimici bioactivi naturali, cu proprietăți terapeutice valoroase, precum antioxidante, antimicrobiene, antiinflamatoare și imunomodulatoare [194]. Unele studii au raportat, că principalii compuși fenolici ai păducelului includ epicatechina, procianidina B<sub>2</sub>, quercetina, hiperozida, izoquercitrina și acidul clorogenic, printre ei, conținutul de epicatechină și procianidină B<sub>2</sub> a fost mult mai mare decât cel al altor compuși fenolici, care a fost practic similar cu rezultatele prezente [365].

Cercetările denotă, că există o corelație liniară între eliberarea de fenoli totali sau flavonozide totale din păducel și capacitatea de a elimina radicalii liberi. Capacitatea antioxidantă a fenolilor liberi din păducel depinde de organele sale, diferită, de asemenea, în funcție de metodele de extracție, de exemplu, extractele cu metanol și etanol au manifestat efecte antioxidante mai bune [290].

#### **Sinteza capitolului 1**

Evaluarea realizărilor în domeniul cercetării produselor farmaceutice combinate la nivel internațional și național a scos în evidență importanța și beneficiile unor astfel de medicamente. O analiză detaliată a particularităților de elaborare a combinațiilor cu doze fixe de medicamente, cu specificarea provocărilor care apar la diverse etape de dezvoltare și căile de soluționare a acestora

denotă necesitatea abordării sistemice complexe a procesului de cercetare în domeniul medicamentelor combinate. Evidențierea modalităților de cercetare a compatibilității substanțelor medicamentoase în combinații, importanța cercetărilor farmacotehnologice ale produselor combinate cu aplicație topică și perorale, precum și specificul abordării procesului de analiză și standardizare a combinațiilor cu doze fixe de medicamente a contribuit la conturarea unor aspecte metodologice de cercetare/dezvoltare a produselor combinate. Analiza datelor despre utilizarea combinațiilor cu doze fixe în terapia infecțiilor bacteriene și fungice ale urechii și a hipoacuziei senzorieurale a demonstrat actualitatea și necesitatea terapiei concomitente complexe cu mai multe preparate a acestor patologii, și importanța cercetărilor de elaborarea a produselor farmaceutice combinate pentru terapia maladiilor ORL. O importanță majoră îi revine procesului de selectare a principiilor activi pentru elaborarea combinațiilor cu doză fixă, și în acest context, au fost caracterizate multilateral și a fost argumentată combinarea medicamentelor cu potențial de utilizare din clasele nitrofuranelor cu acțiune antibacteriană topică, regeneranților cu aplicare topică, fluorchinolonelor în tratamentul infecțiilor auriculare, antifungicelor cu acțiune topică în tratamentul otomicozelor, precum și a produselor de origine vegetală antibacteriene, antifungice și antioxidante cu specific în farmacoterapia afecțiunilor auriculare. Aceste studii analitice de sinteză au permis elaborarea în premieră a unor combinații originale de medicamente.

## 2. MATERIALE ȘI METODE DE CERCETARE

### 2.1. Metodologia de cercetare/dezvoltare a produselor farmaceutice combinate

Procesul de dezvoltare a medicamentelor, cunoscut și sub denumirea de „Drug Development”, este o metodologie complexă și riguroasă care implică numeroase etape, teste și reglementări. Acest proces poate dura ani și presupune o colaborare strânsă între diverși cercetători, companii farmaceutice, organizații guvernamentale și alte părți interesate. Prin procesul de proiectare și descoperire a medicamentelor, sunt identificați potențiali agenți terapeutici noi, folosind diferite modele computaționale, experimentale și clinice [71]. Cu toate că suntem martori la importante progrese în cercetarea farmaceutică, farmacologică, descoperirea medicamentelor este încă un proces lung, costisitor, dificil și uneori inefficient. Sunt bine cunoscute etapele de bază în proiectarea medicamentelor, pornind de la identificarea compușilor care sunt complementari ca formă și structură cu ținta moleculară cu care interacționează și se leagă. Actualmente în proiectarea medicamentelor au intervenit tehnici de modelare computerizată și abordări bioinformatică [346].

În general, procesul de dezvoltare a medicamentelor constă din trei etape principale: descoperirea unui candidat de medicament, dezvoltare preclinică folosind modele/teste pe celule și animale, studii clinice pe subiecți umani. Doar parcurgerea acestor pași de bază pot să asigure etapele următoare de obținere a aprobării de reglementare, producere și comercializare. Aceste etape diferă după conținut, durată, resurse și alți parametri, iar criteriul de bază care face diferența este tipul produsului medicamentos și scopul pentru care este elaborat.

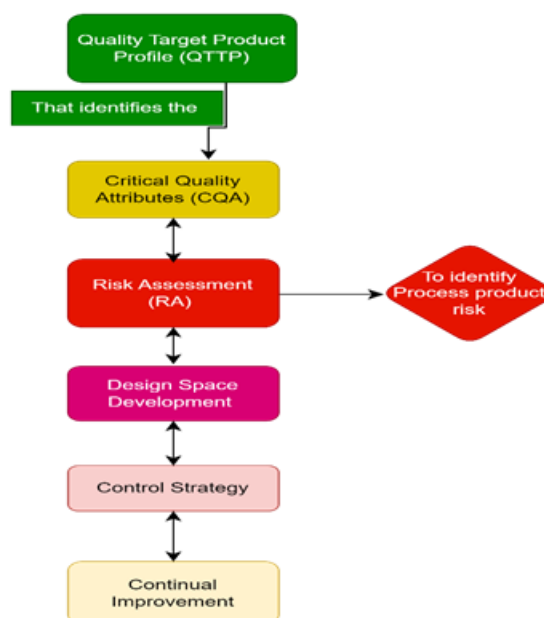
Metodologia de bază, aplicată în procesul de elaborare a medicamentelor este cea de „Calitate prin Design” (Quality by Design (QbD)), care este o abordare sistematică a dezvoltării, producerii și controlului produselor farmaceutice, și pune accent pe înțelegerea și controlul atributelor critice de calitate (ACC) ale produsului și procesului. QbD ajută la asigurarea faptului că un produs îndeplinește caracteristicile de calitate și performanță prevăzute și poate ajuta la identificarea și prevenirea potențialelor probleme de fabricație. În loc să ofere calitate prin testarea produselor, QbD își propune să asigure calitatea farmaceutică prin încorporarea calității în produse de la început [209, 27].

Metodologia Quality by Design (QbD) permite o abordare sistematică a dezvoltării medicamentelor pentru a îmbunătăți calitatea prin metode analitice și de gestionare a riscurilor în timpul proiectării, dezvoltării și producției de noi medicamente. La baza abordării QbD stă principiul îmbunătățirii continue. Strategia de implementare QbD pledează pentru o abordare sistematică a dezvoltării produsului, începând cu obiective predefinite și punând accent pe



controlul produsului și înțelegerea proceselor bazate pe știință solidă. Design-ul Experimentelor (DoEs) și Metodologia Suprafețelor de Răspuns (RSM) sunt componente valoroase ale acestei paradigme pentru a produce un spațiu de proiectare pentru variabilele de intrare ale formulării. În prezent, conceptul de QbD poate fi utilizat pentru a optimiza majoritatea operațiunilor de operare a unității farmaceutice [140].

Caracteristicile cheie ale QbD se bazează pe identificarea și înțelegerea procesului, precum și stabilirea controalelor pentru a se asigura că acestea sunt îndeplinite în mod consecvent. QbD pune accent pe monitorizarea și evaluarea continuă a produsului și procesului, precum și pe utilizarea acestor informații pentru a îmbunătăți și optimiza calitatea, respectă liniile directoare și cerințele actuale de reglementare pentru a asigura calitatea, siguranța și eficacitatea produsului [171]. Elementele cheie ale QbD sunt rezumate în figura 2.1



**Fig. 2.1. Elementele cheie ale metodologiei QbD [209]**

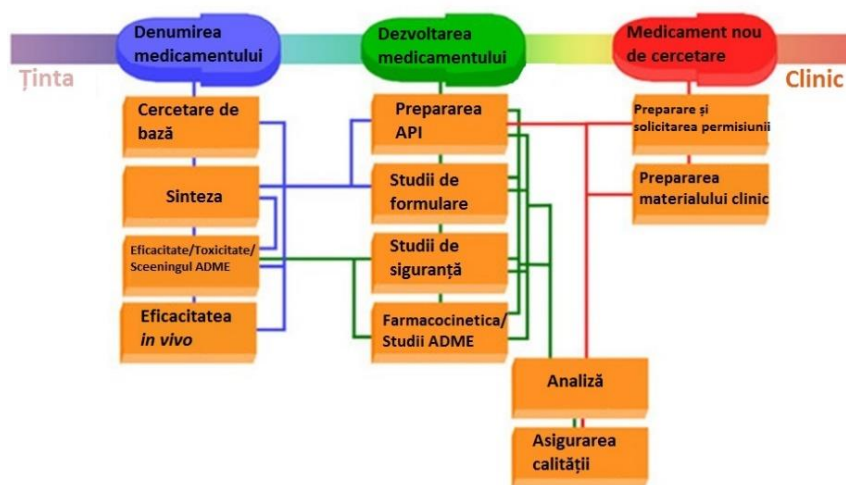
Profilului de calitate al produsului țintă (QTPP) este un rezumat prospectiv al caracteristicilor de calitate ale unui produs medicamentos care ar trebui atinse pentru a asigura calitatea dorită, ținând cont de siguranța și eficacitatea produsului medicamentos. Identificarea atributelor critice de calitate (CQA) se face prin evaluarea riscurilor conform ghidului ICH Q9, fiind asociate cu substanța medicamentoasă, excipienții, intermediarii (în materialele procesate) și produsul medicamentos finit, identificate pe baza calității, siguranței, eficacității și multidisciplinare [185].

Atributele materiale critice (CMA) ale substanței medicamentoase sunt identificate prin caracterizarea fizică a substanței medicamentoase (aspect fizic, solubilitate pH, higroscopicitate, polimorfism, etc.), caracterizarea chimică (pH, pKa, stabilitate), caracterizarea biologică

(coeficient de partiție) [232].

Pentru a produce un produs de calitate dorită, un proces de dezvoltare farmaceutică implică frecvent o serie de activități unitare (de ex., amestecarea, măcinarea, granulara, uscarea și așa mai departe) și este necesar de selectat parametrii critici de proces (CPP) dintr-o listă de CPP-uri potențiale care a fost realizată pe baza analizei de risc [271]. Termenul „spațiu de proiectare” se referă la ansamblul condițiilor de funcționare în care se așteaptă ca un proces sau produs să funcționeze conform intenției și să îndeplinească standardele de calitate cerute în domeniul QbD [364].

O schemă tipică generală de dezvoltare preclinică a unui medicament a fost descrisă de Karen L Steinmetz și Edward G Spack [275]. care constă din cinci etape majore: fabricarea substanței medicamentoase (DS)/ingredientului farmaceutic activ (API); preformulare și formulare (design de vârstă); dezvoltarea și validarea metodelor analitice și bioanalitice; studii de metabolism și farmacocinetică; toxicologie, atât toxicologie de siguranță, cât și toxicologie genetică și, eventual, farmacologie de siguranță; și fabricarea și documentarea cu bune practici de fabricație (GMP) a produsului medicamentos pentru utilizare în studiile clinice (Figura 2.2).



\* ADME, absorbție, distribuție, metabolism și excreție; API, ingredient farmaceutic activ; PK, farmacocinetică

**Fig. 2.2. Schema tipică de dezvoltare preclinică a medicamentelor după Steinmetz [275]**

În literatura de specialitate se întâlnesc diverse clasificări pentru designul de cercetare farmaceutică, având la bază mai multe abordări [18]. De exemplu, dacă se pune accentul pe componenta de timp, se aplică studii retrospective sau prospective; dacă la bază stă scopul studiului, designul va fi sau descriptiv, sau analitic; design experimental sau observațional se va folosi în funcție de orientarea investigatorului; dacă va fi evaluată orientarea întrebărilor, se va selecta formatul calitativ, cantitativ sau mixt.

Particularitățile legate de compoziția și modalitățile de combinare ale principiilor activi în

medicamentele combinate își lasă amprenta și asupra metodologie generale de organizare a cercetărilor de elaborare a unor astfel de produse. Un criteriu important în metodologia de elaborare a unui produs combinat este evaluarea multilaterală a informației despre fiecare ingredient farmaceutic activ (API) individual din surse sigure, exacte și valide, cu scopul prognozării profilului de siguranță ale acestora atunci când vor fi combinate în aceeași formă farmaceutică în doze fixe. Mai multe componente sunt considerate pentru evaluare: farmacologice, precum riscuri, expresie țintă, mecanism de acțiune, farmacocinetică, farmacodinamică și farmacologie; și farmaceutice, precum proprietăți fizice, chimice, compatibilitate, metode de analiză, stabilitate, biodisponibilitate. Identificarea și evaluarea suprapunerilor și a componentelor care nu se suprapun permite o predicție științifică a profilului de siguranță pentru tratamentul combinat, acestea fiind foarte importante și pentru studiile de preformulare, analitice și tehnologice.

Reglementarea legislativă, atât generală, cât și sectorială, a procesului de cercetare/dezvoltare a medicamentelor este foarte solidă. Actele normative elaborate de către Agenția Europeană a Medicamentelor (EMA), Food and Drug Administration (FDA), International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (ICH) și alte organisme internaționale cuprind toate etapele de elaborare [294].

Particularități regulatorii ale produselor combinate condiționează și abordarea metodologică de cercetare a acestora. Pentru asigurarea utilizării sigure și eficiente a combinațiilor cu doze fixe (FDC), ghidurile OMS cer ca „noile FDC să fie considerate medicamente noi. Ele sunt acceptabile numai atunci când dozele fiecărui ingredient îndeplinesc cerințele pentru un grup de populație definit, iar combinația posedă un avantaj dovedit față de compușii individuali administrați separat în ceea ce privește efectul terapeutic, siguranța sau conformitatea. Ele nu trebuie tratate ca versiuni generice ale produselor monocomponente.” (OMS 2003, 2005) [359].

Politica privind aprobarea produselor FDC de către FDA din SUA specifică, că „două sau mai multe medicamente pot fi combinate într-o singură formă farmaceutică, când fiecare componentă contribuie la efectele declarate și dozele fiecărui component (cantitate, frecvență, durată) sunt selectate astfel, încât combinația să fie sigură și eficientă pentru o populație semnificativă de pacienți, care necesită o astfel de terapie concomitentă, așa cum este definită în eticheta pentru produs.” (FDA 2015) [89].

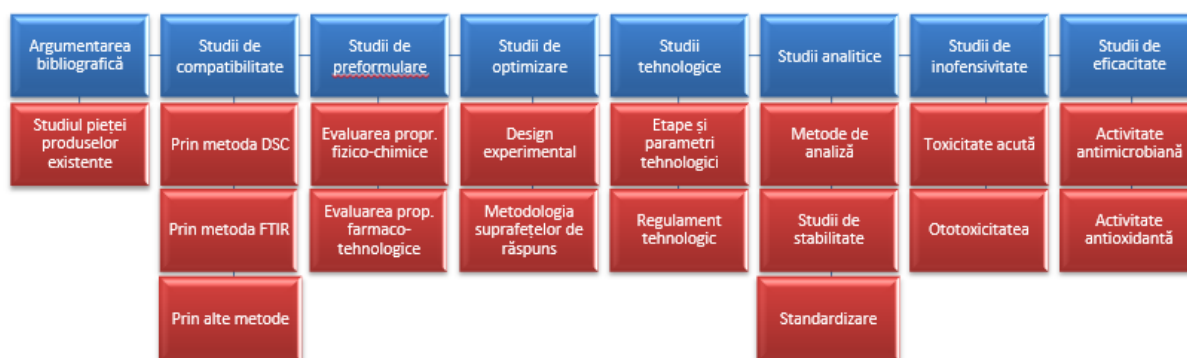
Agenția europeană a medicamentelor (EMA) ghidează, de asemenea, o regulă similară pentru produsele FDC (EMA 2021) [78].

Analizând cerințele principalelor organizații regulatorii, se poate afirma, că pentru aprobarea unui produs FDC ar trebui să existe dovezi fără echivoc pentru un șir de cerințe, precum: (1) existența unor nevoi medicale bine argumentate și demonstrate; (2) populații de pacienți bine

stabilite; (3) produsul să conțină corapoartele corespunzătoare de doze minime ale medicamentelor sale componente; (4) informațiile despre fiecare component să fie documentate la toate compartimentele; (5) să posede siguranță și eficacitate clinică pentru populația stabilită de pacienți; (6) raportul beneficiu/risc să fie cel puțin la fel de bun ca cel al medicamentelor sale componente; (7) pentru fiecare component să fie bine stabilită contribuția sa individuală la efectele stabilite; (8) studiile farmacocinetice și farmacodinamice să se efectuează pe subgrupuri cu risc crescut la subiecți sănătoși și pacienți; (9) interacțiunile, atât cele benefice, cât și nebenefice să fie analizate; (10) toate categoriile de informații chimice, de fabricație, control a calității, stabilitate pentru produs să fie bine documentate [376, 375].

În această lucrare au fost aplicate criteriile de bază ale metodologiilor nominalizate, cu anumite particularități de dezvoltare a produselor farmaceutice combinate.

O schemă a metodologiei de cercetare/dezvoltare farmaceutică preclinică a produselor combinate elaborate este prezentată în figura 2.3.



**Fig. 2.3 . Metodologia de cercetare/dezvoltare preclinică a produselor farmaceutice combinate aplicată în lucrare**

Aplicarea metodologiilor de „Drug Design” și „Quality by Design” pentru studiile preclinice, cu particularitățile pentru produse combinate se bazează pe studii de compatibilitate fizico-chimică a substanțelor active între ele și cu excipienții, cercetări de preformulare, optimizare, formulare, analiză, stabilitate, standardizare. În paralel se petrec studii preclinice de inofensivitate și eficacitate pentru produsul combinat [376, 373, 173].

## 2.2. Materiale folosite în procesul de elaborare a formelor farmaceutice auriculare

În procesul de elaborare a lucrării au fost utilizate substanțe medicamentoase, standarde de referință, excipienți, formele farmaceutice elaborate (serii experimentale de laborator), solvenți, reagenți, veselă și ustensile de laborator, în conformitate cu rigorile Ph. Eur., a ghidurilor ICH și regulamentelor în vigoare.

Au fost utilizate substanțe medicamentoase pentru prepararea formelor farmaceutice: CIP (Sigma-Aldrich, China, lot 0000104374); EC (Molekula, Marea Britanie, lot 170598); UVB (Sigma-Aldrich, Germania, lot MKCC4658); NIC, (Thermo Scientific, China, lot Z22C045); PIR (Sigma-Aldrich, China, lot 7491-74-9); Extract uscat de păducel din frunze și flori EP (Euromed, Suedia, N.000348, (lot 00461503116-6); IHF (sintetizat la Catedra de chimie organică a Universității de Stat din Moldova, lot 00.01.110.05 și 00.01.112.10); MU (Sigma-Aldrich, Germania, lot 147-61-5).

La elaborarea formulărilor au fost utilizați excipienți farmaceutici permiși pentru utilizare de către Ph. Eur și de calitate farmaceutică.

Pentru elaborarea metodelor de analiză și standardizare s-au folosit standarde de referință ale substanțelor medicamentoase: CIP (Sigma-Aldrich, Germania, lot LRAA6508); EC (Sigma-Aldrich, Germania, lot E0050000); UVB (Sigma-Aldrich, Germania); NIC (Sigma-Aldrich, Germania, lot BCBT6717); PIR (EPRS, Germania, lot 3.0, Y0000288); EP (HWA Group, Germania, lot HWI01281-2); IHF (lot experimental standardizat); MU (HPC Standards GmbH, Germania, lot 8025878; standarde de linalool, camfor,  $\beta$ -pinen și  $\alpha$ -terpineol pentru analize gaz-cromatografice (sigma Aldrich); standarde de acid clorogenic (EPRS, Germania, lot 3.0, Y0000569), rutozidă (Sigma-Aldrich, Germania, lot BCBR0693V), hiperozidă (HWA Group, Germania, lot HWI01235), quercetină (Sigma-Aldrich, Germania, lot LRAB3054) pentru analiza conținutului de flavonozide.

Formele farmaceutice au fost elaborate și preparate în serii experimentale de laborator: 3 serii de capsule operculate cu conținut de NIC, PIR și extract uscat de păducel; 3 serii de picături auriculare cu conținut de CIP, EC și UVB; 3 serii de picături auriculare cu conținut de IHF și MU.

Pentru analize s-au utilizat solvenți cu grad de puritate pentru analize cromatografice în conformitate cu Ph. Eur. Reagenții utilizați au fost preparați cu respectarea rigorilor analitice după Ph. Eur.

### **2.3. Metode de analiză aplicate în procesul de cercetare și aparatajul utilizat**

Cercetările de bază din cadrul tezei au fost realizate în Laboratorul de Elaborare, analiză, standardizare și controlul medicamentelor (LEASM, șef de laborator Livia Uncu, dr. șt. farm., conf. univ.) și de Studii preclinice a medicamentelor (SPM, șef de laborator Sergiu Parii, dr. hab. șt. med., conf. cercet.) din cadrul Centrului Științific al Medicamentelor (CȘM) al USMF „Nicolae Testemițanu” (șef Centru Vladimir Valica, dr. hab. șt. farm., prof. univ.). Unele cercetări, cu implicarea de aparataj și utilaj specific, s-au efectuat în alte centre de cercetare din țară sau de peste hotare.

**Analize DSC.** Studiile de compatibilitate prin metoda DSC s-au realizat la UMF “Iuliu Hațieganu”, Cluj-Napoca, România, la Catedra Analiza medicamentului, în cadrul unui program de mobilitate academică și de cercetare *CEEPUS*. Analizele DSC, s-au efectuat cu utilizarea sistemului Mettler Toledo 822, dotat cu: balanță digitală Mettler Toledo (sensibilitate: 0,00001 g), ustensile pentru DSC Mettler Toledo (ace, creuzete de aluminiu, mojar și pistil). Masa probelor supuse cântăririi a fost cuprinsă între 1,5 și 4,5 mg. Omogenizarea amestecurilor s-a efectuat în mojar de agat timp de 25 de minute, trecute în creuzete de aluminiu de 40  $\mu$ l, cu capac găurit, închise la presă, 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 [257, 240].

Toate analizele DSC s-au realizat pe etape, mai întâi pe probele substanțelor medicamentoase pure (SP) de IHF, MU, EC, CIP, NIC, PIR, EP și excipienții individuali (EI). Apoi au fost analizate amestecurile binare 1:1 (m/m) de substanțe medicamentoase pure (SP/SP) și de excipienți (EI/EI). În ultima fază s-au analizat amestecurile binare 1:1 (m/m) formate din fiecare substanță medicamentoasă cu fiecare excipient (SP/EI) [305].

**Analize prin difracție cu raze X.** Studiile difractometrice au fost realizate în cadrul Institutul Național de Cercetare și Dezvoltare pentru Tehnologii Izotopice și Moleculare, Cluj Napoca, România. S-a utilizat difracția cu raze X pe pulbere (XRPD), care a fost aplicată la etapa de pre-formulare pentru evaluarea compatibilității SP/SP, SM/E și EI/EI. Datele XRPD au fost obținute cu un difractometru Bruker D8 Advance în geometria BraggBrentano, echipat cu un monocromator Ge (111) în fasciculul incident pentru a elimina radiațiile  $\text{CuK}\beta$  și  $\text{CuK}\alpha_2$  cu scopul obținerii unui fascicul monocromatic corespunzător radiației  $\text{CuK}\alpha_1$  cu lungimea de undă  $\lambda = 1,54056 \text{ \AA}$ . Difractogramele XRPD au fost înregistrate cu un detector cu super-viteză de poziție LynxEye în intervalul 5 - 50° (2 $\theta$ ). [255, 83, 328].

**Analize prin spectroscopie FT-IR.** Cercetările spectroscopice au fost efectuate în cadrul Laboratorului de analize spectrale a Institutului de chimie a AȘ din RM. Spectrele FT-IR au fost înregistrate la spectrofotometrul în infraroșu cu transformare Fourier: SPECTRUM 100 (PERKIN ELMER, SUA) prin reflexie total atenuată. Amestecurile binare mecanice 1:1 (m /m) dintre substanțe medicamentoase și excipienți s-au preparat prin aceeași metodologie ca și în cazul metodei DSC. Toate spectrele FT-IR au fost înregistrate în intervalul 4000 și 400  $\text{cm}^{-1}$  [348, 181, 314].

**Analize prin spectrofotometrie UV-VIS.** Metoda spectrofotometrică UV-Vis a fost aplicată pentru determinările calitative și cantitative ale formelor farmaceutice: capsule operculate

cu conținut de NIC, PIR și extract uscat de păducel și picături auriculare cu conținut de CIP, EC și UVB [308].

S-au folosit spectrofotometrele din cadrul LEASM: Shimadzu 1800, Japonia, Agilent Technologies 8453 și Lambda 25 Perkin Elmer, USA pentru analiza picăturilor auriculare și pentru analiza capsulelor combinate [341, 301, 285, 300, 182].

**Analize prin spectrometrie de masă.** Spectrometria de masă este folosită atât în scopuri calitative, cât și cantitative, în analiza substanțelor chimice, inclusiv a medicamentelor, dovedindu-și utilitatea în special la etapa de cercetare a medicamentelor. Identificarea structurilor chimice este doar unul din aspectele aplicative ale metodei [144].

Spectrometria de masă a fost aplicată pentru analiza uleiului volatil de busuioc. Determinările s-au efectuat la Universitatea Saarland, Germania, în cadrul unei mobilități Erasmus+. S-a utilizat spectrometrul de masă Q-Exactive Pulse (Thermo Scientific) echipat cu o sursă de ioni de electrospray (HESI). Raza de scanare MS completă a fost setată la  $m/z$  100 până la 2.000 cu rezoluție de 75.000. Tensiunea pozitivă a spray-ului a fost setată la 4000 Volți, iar cea negativă la 3300 Volți. Temperatura capilară 340 °C și temperatura încălzitorului sondei 200 °C. Fluxul de gaz în manta 35 L/min și debitul de gaz auxiliar 5 L/min. Curentul maxim de pulverizare a fost setat la 100 volți. Nivelul RF S-Lens a fost setat la 50 (RT: 1.61-2.03 AV: 25 NL: 3.68E5). Identificarea componentelor din uleiul volatil a fost efectuată prin compararea spectrelor de masă cu bibliotecile de spectre NIST și indicii de retenție (I) din literatură [35].

**Determinarea vâscozității.** Analizele reologice ale picăturilor auriculare s-au efectuat la viscozimetrul rotațional MultiVisc Rheometer, Fungilab (Figura 2.4). A fost selectată tija cilindrică (R7). Determinările s-au efectuat la 18 trepte de viteză de rotație a tijeii în ordine crescătoare, apoi în ordine inversă. La fiecare treaptă de viteză s-a citit vâscozitatea probelor și tensiunea de forfecare. Determinările s-au realizat la două temperaturi:  $25 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$  – temperatura de păstrare a picăturilor auriculare și la  $37 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$  – temperatura corpului uman.

Dependența tensiunii de forfecare de viteza de forfecare a fost analizată folosind modelul reologic Ostwald-de Waele sau „legea puterii” [107].



**Fig. 2.4. Vâscozimetrul rotațional MultiVisc Rheometer, Fungilab**

Calcularea valorii tensiunii de forfecare s-a efectuat conform formulei:

$$\tau = K * \gamma^n \quad \text{în care:} \quad (2.1)$$

$\tau$  – tensiunea de forfecare, Pa

$K$  – indice de consistență, Pa\*s<sup>n</sup>

$\gamma$  – viteză de forfecare, s<sup>-1</sup>

$n$  – indice de curgere

**Determinarea pH-ului** s-a realizat potențiomtric, în conformitate cu Ph. Eur., cu utilizarea PH-metrele InoLab 7110 (WTW) și Consort 861C (Belgia) [303].

**Determinarea densității** s-a efectuat cu ajutorul picnometrului, conform Ph. Eur.

**Cromatografia pe strat subțire (CSS)**. Metoda CSS a fost aplicată pentru identificare și determinarea impurităților în picăturile auriculare combinate [303, 356, 42, 321, 314].

Pentru analize s-au utilizat plăci cromatografice „Silufol”, cameră de cromatografiere, solvenți, reagenți în conformitate cu Ph. Eur [309, 286].

**Cromatografia de gaze (GC)**. Metoda gaz-cromatografică a fost aplicată pentru determinarea uleiului volatil de busuioc în picături auriculare combinate [298, 55, 314]. Analizele gaz-cromatografice s-au realizat în cadrul Laboratorului de Control a calității al Agenției Medicamentelor și Dispozitivelor medicale (AMDM).

Pentru analize GC s-a folosit cromatograful de gaze Agilent Tehnologies 7890A, coloană capilară 60,0 m, 0,25 mm/0,25 μm, gaz vector Helium, viteza 1,5 m/min, detector cu ionizare în flacăra cu t°=270°C; volumul de injecție 1 μl. În calitate de solvenți s-au utilizat hexanul și heptanul (pentru analize cromatografice) [302].

**Analize HPLC**. HPLC este una din metodele preferențiale pentru cercetarea medicamentelor combinate cu doze fixe, fiind cel mai des utilizată la diverse etape de cercetare/dezvoltare a produselor [43].

Această tehnică de separare a componentelor dintr-un amestec, a fost aplicată pentru identificarea și dozarea principiilor active din toate produsele elaborate, și pentru cercetarea compatibilității principiilor active între ele [297, 180, 357, 246, 317, 53, 332, 47, 34].

La elaborarea și validarea metodei HPLC de analiză a picături auriculare combinate și a capsulelor, dar și pentru studiile de compatibilitate s-a utilizat aparatul: Shimadzu HIGH Performance liquid chromatograph LC-20 A, cu detecție UV-Vis. Pentru separarea cromatografică s-au folosit coloane cromatografice: Nucleosil C18, 4,6 μm (300 x 5,0 mm); Teknokroma C1, 5 μm (150\*4,6mm); Teknokroma Tracer Extrasil SAX, 5 μm (150x4,0 mm) Column: EC/NUCLEOSIL 100-5 C18 (150x4,6 mm). Au fost aplicate tehnici de eluare izocratică și cu gradient [67, 304]. Metoda HPLC a fost aplicată și la dozarea flavonozidelor din extractul uscat de păducel, fiind



utilizată metoda izocratică [203, 325, 314].

**Studii de permeabilitate/difuzie a picăturilor auriculare.** Efectul terapeutic al unui produs topic depinde de un șir de factori, dintre care cei mai importanți sunt eliberarea principiului activ din forma topică, penetrarea și pătrunderea acestora în diferitele straturi ale pielii și efectul produs la locul de acțiune [56].

Pentru evaluarea gradului de permeabilitate prin piele sunt utilizate mai multe metode, dintre care o aplicabilitate sporită o au tehnicile cu utilizarea celulelor Franz [246]. Celula de difuzie este un test simplu care poate măsura în mod fiabil cedarea medicamentului *in vitro* și *ex vivo* din preparatele topice, oferind rezultate bune în evaluarea relațiilor dintre piele, medicamente și formulare [156, 14]. Celula de difuzie constă dintr-un compartiment donator unde se aplică produsul topic, un compartiment receptor în care este plasat mediu receptor și discurile de membrane (artificiale sau naturale). Probele sunt colectate din compartimentul receptor la momente prestabilite și analizate. Rata de medicament pătrunsă din compartimentul donator în cel receptor este urmărită în timp, fiind evaluat profilul de permeație [319].

Cercetarea procesului de cedare a principiilor active din picăturile auriculare combinate s-a efectuat cu utilizarea metodei celulelor Franz modificată. Au fost utilizate 3 tipuri de membrane: membrana semipermeabilă (artificială) cu mărimea porilor 0,45 μm, diametrul filtrului 47 mm (Merck); membrane naturale – intestin subțire de porc și ureche de porc. Intestinul de porc, proaspăt, neprelucrat, a fost transformat în material biologic de analizat: curățat pe partea exterioară și interioară, spălat cu apă, uscat la aer congelat la -18 °C. Înainte de experiment se scoate din congelator și se plasează în soluția tampon fosfat de pH=7 (preparată conform Ph. Eur.), se lasă timp de 2 ore pentru a înlăturarea restul grăsimii depuse pe material. Urechea de porc proaspătă, neprelucrată, a fost curățată de păr, spălată bine cu apă. Cu o lamelă ascuțită s-a înlăturat pielea de pe partea inferioară a cartilajului urechii, și s-a congelat la -18 °C. Înainte de experiment se scoate din congelator și se plasează în soluția tampon fosfat de pH=7. Pentru pregătirea experimentului membranele s-au plasat între compartimentul donator și cel receptor și fixate bine. Determinările s-au efectuat la aparatul ELECTROLAB DISSOLUTION TESTER (Chem Lab Belgia). Condițiile experimentale au fost selectate prin determinări repetate și sunt redată în capitolul 3 [355]. Parametrii de difuzie, precum fluxul și coeficientul de difuzie au fost calculați pentru difuzia prin membrana artificială [150].

**Studii de cedare *in vitro* a principiilor active din capsulele combinate.** Evaluarea profilurilor de dizolvare *in vitro* a principiilor active din forme farmaceutice asigură înțelegerea proceselor care se desfășoară la nivelul tractului gastro-intestinal, și anume gradul de influență a factorilor de formulare asupra procesului de dizolvare și de absorbției [241].

În studiile de cedare *in vitro* au fost utilizate: *Aparatul de dizolvare* cu 8 poziții și vase cu volum util de 1000 mL: ELECTROLAB DISSOLUTION TESTER (Chem Lab Belgia). *Medii de dizolvare*: soluția de HCl 0,1 M (pH=1-2) și soluția tampon fosfat (pH=6,8) (deoarece prezintă medii cu pH apropiat sucului gastric și intestinal) la temperatura de  $37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ . De facto a fost utilizată jumătate din capacitatea vasului, volumul de umplere cu mediu fiind de 500 mL. *Elementul de agitare*: coșul rotitor, cu o viteză de rotație de 100 rpm. *Probele*: 4 formulări de capsulele operculate cu conținut identic de principii activi, dar cu compoziție diferită a excipienților. *Procedura*: probele de 10 mL au fost prelevate manual în următoarea consecutivitate de timp: 5, 10, 15, 20, 30, 45 și 60 min. Prelevările au fost urmate de înlocuire cu mediu blank degazat, pentru menținerea condițiilor și evitarea alterărilor hidrodinamice asociate scăderilor de volum. Poziționarea pipetei în timpul prelevării a fost la jumătatea distanței dintre suprafața lichidului și capătul superior al coșulețului, la minim 10 mm de peretele vasului. *Analiza cantitativă*: spectrofotometric, după diluțiile adecvate cu soluție metanolică de HCl 0,1 M. *Compararea profilurilor de dizolvare* s-a efectuat folosind metode independente de model – în baza calculării factorilor de diferență ( $f_1$ ) și factorilor de similaritate ( $f_2$ ). Factorul de diferență, exprimând diferența procentuală dintre 2 curbe la fiecare punct, reprezintă expresia erorii relative dintre cele două curbe. Factorul de similaritate reprezintă o transformare logaritmică a reciprocei radicalului sumei erorilor pătratice, exprimând similaritatea, în procente, între două curbe [62].

Calcululele s-au efectuat conform formulelor 2.2 și 2.3.

$$f_1 = \frac{\sum_{i=1}^n [X_r - X_t]}{\sum_{i=1}^n X_r} \times 100 \quad (2.2)$$

$$f_2 = 50 \log \left\{ \left[ 1 + \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (X_r - X_t)^2 \right]^{-1/2} \times 100 \right\} \quad (2.3)$$

unde:  $n$  – numărul de puncte ale profilului;  $X_r$  – mediile rezultatelor la timpul  $t$  pentru medicamentul de referință;  $X_t$  – mediile rezultatelor la timpul  $t$  pentru medicamentul testat.

Conform reglementărilor (FDA, USA), aceste valori trebuie să fie cuprinse pentru:  $f_1 = 0-15\%$  și  $f_2 = 50-100\%$  [110].

**Studii de stabilitate.** Testarea stabilității medicamentelor implică un set de cercetări și proceduri prin care se dovedește calitatea și inofensivitatea produsului și se efectuează pentru evaluarea efectelor factorilor de mediu asupra formei, modul în care aceștia intervin în modificarea proprietăților substanțelor active [262, 41, 190, 189].

Testarea și procesul de studiu a stabilității este o procedură nominală, efectuată ca o etapă obligatorie în elaborarea medicamentului [204]. În conformitate cu regulamentele și ghidurile

ICH, au fost aplicate două metode de studii de stabilitate: metoda de testare în timp real (pe termen lung), efectuată în condiții normale de depozitare; metoda de testare accelerată (pe termen scurt), efectuată în condiții speciale de temperatură, umiditate, lumina medii acide, bazice și oxidative, ridicate, pentru a mări viteza de degradare chimică și modificare fizică a substanței medicamentoase [123, 125].

Studiile pe termen lung s-au petrecut timp de 24 de luni pentru capsulele combinate și pentru picăturile auriculare combinate elaborate. Studiile accelerate au durat în medie 3 luni [70, 307, 306].

Testarea în condiții de stres sau studii de degradare forțată sunt menite să identifice produsele de degradare posibile, care contribuie și mai mult la determinarea stabilității intrinseci a moleculei și la stabilirea căilor de degradare, și să valideze procedurile de studiu a stabilității utilizate. Degradarea forțată este un proces care implică degradarea produselor medicamentoase și a substanțelor medicamentoase în condiții mai severe decât cele accelerate și generează astfel produse de degradare care pot fi studiate pentru a determina stabilitatea moleculei. În studiile efectuate s-a acceptat degradarea substanțelor medicamentoase între 5% și 20%, conform ICH, ca fiind rezonabilă pentru validarea testelor cromatografice și spectrofotometrice [297, 200, 105, 97, 69].

#### **2.4. Metode de studiu preclinic a produselor farmaceutice elaborate**

Investigațiile preclinice au fost aprobate de Comitetul de Etică a Cercetării al IP USMF „Nicolae Testemițanu”, proces-verbal nr. 27 din 14.11.2016 și nr. 45 din 26.02.2020.

**Toxicitatea acută.** Cercetările au fost efectuate în cadrul Laboratorului Cercetări preclinice a medicamentelor al CȘM USMF „Nicolae Testemițanu” (șef de laborator Sergiu Parii, dr. hab. Șt. med., conf. cercet.), în conformitate recomandărilor metodice pentru studiul toxicității generale a substanțelor farmacologice. Toxicitatea acută (TA) a fost determinată prin metoda dozelor fixe cu stabilirea clasei toxice acute conform TG 423 : *Acute Toxic Class Method* [210], recomandată de Organizația Economică pentru Cooperare și Dezvoltare (OECD) și după metoda *Kerber*. Dozele de preparate cercetate au fost de 50, 100, 300, 600, 1000 și 2000 mg/kg. Formula de determinare a numărului necesar pentru studiu preclinic (Ivanter) este  $n = [(t_{\alpha} CV) : \varepsilon]^2$ , în care:  $n$  – numărul de animale în fiecare lot de cercetare,  $t$  – valorile limite de distribuție ale t-Student, ce corespunde nivelului de exactitate de 95.0%,  $CV$  – valoarea coeficientului de variație (12,0%, datorită faptului ca sunt animale de o rasă, ținute și crescute toate în aceleași condiții),  $\varepsilon$  – eroarea pentru 95.0 de semnificație statistică a rezultatelor obținute este de 5.0% (0,05). În urma calculelor s-a obținut:

$n = [(1,96 \times 0,12) / 0,05]^2 = 22$  animale în fiecare lot de cercetare. Au fost selectate animale

de vârsta și masa corporală conform cerințelor recomandărilor în vigoare: din aceeași sursă, condițiile de trai și de alimentare. Animalele (șobolanii și șoarecii) au fost cântărite și repartizate în loturi omogene, a câte cinci-șase masculi și cinci-șase femele, în funcție de variația masei corporale. Probele cercetate au fost diluate cu soluție isotonică de clorură de sodiu 0,9% (câte 3-5 ml pentru fiecare șobolan la administrarea internă și 0,2-3 ml pentru șoareci și șobolani la injectarea intra peritoneală). Preparatele studiate și cele de referință au fost administrate enteral prin gavaj șobolanilor și șoarecilor, și intra peritoneal la șoareci. Produsele testate au fost administrate într-o singură priză. Animalele au fost supravegheate timp de 14 zile și cântărite în a 2-a, a 7-a, a 14-a zile (înainte de eutanasiere). În timpul observațiilor am înregistrat: comportamentul animalelor, consumul alimentelor și al apei, activitatea motorie, coordonarea mișcărilor, reacția la excitanți fizici (lumină, zgomot), funcția respiratorie, starea pielii și a mucoaselor. De asemenea am înregistrat timpul apariției fenomenelor de intoxicație și decesul animalelor. Vizual s-a determinat tabloul clinic al intoxicației. Animalele decedate și cele muribunde din fiecare lot (după eutanasiere prin decapitare sau torsionare cervicală, conform cerințelor etice) au fost disecate în mod separat, pentru a efectua studiul organelor interne și a confirma modificările obținute în experiență [227, 199, 228, 229]. După finalizarea studiului de toxicitate toate animalele supraviețuite în cadrul evaluării toxicității acute în studiul preclinic au fost eutanasiate prin dislocare cervicală, decapitare cu ajutorul ghilotinei. Înainte de decapitare animalele au fost supuse analgeziei prin plasarea în camera din sticlă îmbogățită cu CO<sub>2</sub> timp de 30-60 sec. Cadavrele au fost congelate și eliminate în condiții sigure pentru incinerare.

**Ototoxicitatea.** S-a realizat modelarea experimentală la șobolani cu inducerea surdității senzorie (SSN) prin administrarea soluției de gentamicină 100 mg/kg câte 1 ml intramuscular o dată pe zi timp de 5 zile [91]. Evaluarea auzului la animalele de laborator s-a realizat în interval de până la 10 zile după administrare. Reflexul *Rreyer* – determinarea reacției șobolanilor la stimulii sonori de intensitate 70-80 dB în câmp liber auditiv de la distanța de 1 m s-a efectuat cu ajutorul aparatului PA5 Interacoustics. S-a realizat otoscopia – AD, AS. După inducerea animalului de laborator în somn medicamentos, cu otoscopul Visual Ear Pick F180 înzestrat cu sursă de lumină, s-a efectuat otoscopia pentru evaluarea conductului extern și a membranei timpanice [221].

După efectuarea otoscopiei, animalelor cu lipsa modificărilor patologice din partea canalului auditiv extern (CAE) și membrana timpanică, s-a efectuat înregistrarea otoemisiilor acustice (OEA) tranzitorii și otoemisiilor pe produs de distorsiune (DPOEA) cu ajutorul aparatului Neurosoft-Neuro-audio. Pentru înregistrarea OEA a fost folosită o sondă acustică, calibrată, care cuprinde două megafoane pentru transmiterea frecvențelor primare și un microfon, care captează

otoemiile acustice reflectate în CAE. La capătul sondei se îmbrăca o olivă din silicon aleasă individual, corespunzător dimensiunilor CAE al animalului de laborator. Reflexul Preyer (după Hilov) s-a înregistrat la zgomot de 70 - 80 dB. Animalul în stare de veghe, peste 1 oră după administrarea alimentelor, s-a plasat singur în cușcă și s-a expus la sunete cu ajutorul testerului sonor Interacustics PA-5. Concentrațiile probelor s-au preparat în doze de 100 și, respectiv, 1000 mg/kg și diluate în volume constante cu soluție izotonică de clorură de sodiu 0,9%, în funcție de doza substanțelor și cantitatea de lichid maximal admisibilă pentru administrare. Animalele au fost supravegheate timp de 14 zile. În timpul observațiilor au fost înregistrate: comportamentul animalelor, consumul alimentelor și al apei, activitatea motorie, coordonarea mișcărilor, reacția la excitanți fizici (lumină, zgomot), funcția respiratorie, starea pielii și a mucoaselor.

**Activitatea antibacteriană.** *Metodologia 1.* În Laboratorul de Infecții intraspitalicești (șef de laborator Viorel Prisăcari, dr. hab. șt. med., prof. univ., MC AȘ din RM) s-a efectuat studiul activității antibacteriene a picăturilor auriculare cu IHF (IHF) și MU (MU). Probele analizate au fost: 1. IHF substanță pură; 2. Amestec mecanic IHF+MU; Picături auriculare combinate cu IHF și MU; 4. Placebo (excipienți fără substanțe active); 5. Martor (Nitrofurazol substanță pură). În calitate de solvent pentru dizolvarea tuturor probelor a servit dimetilformamida (DMFA). S-a utilizat metoda diluțiilor în mediul nutritiv lichid (bulion peptonat (BP) din carne 2%). Culturile bacteriene de referință au fost: *Staphylococcus aureus* (tulpina 209-P), *Enterococcus faecalis* (t. ATCC 19433), *Escherichia coli* (t. ATCC 25922), *Klebsiella pneumoniae* (t.3534/51), *Pseudomonas aeruginosa* (t. ATCC 27853), *Proteus vulgaris* (t. HX 19222), *Salmonella typhimurium* (t. WDCM 00031), *Enterobacter cloacae* (t. ATCC 13047). Probele au fost dizolvate în DMFA și BP până la concentrații de 125 μg /ml ale substanțelor active, fiind diluate ulterior până la concentrațiile necesare cu BP. Culturile de referință au fost crescute pe geloză de carne timp de 24 de ore și spălate cu soluție izotonică de clorură de sodiu. Doza de însămânțare a culturilor microbiene a fost 500 mii de corpi microbieni la 1 ml de mediu de cultură (după standardul optic de turbiditate). Inoculatele obținute au fost diluate cu probele cercetate în raport de 1:1. În calitate de control a servit BP, însămânțat cu aceleași tulpini, dar fără conținut de probe cercetate. Tuburile au fost agitate și termostatate la 37°C timp de 24 ore. Evaluarea rezultatelor s-a efectuat vizual, fiind apreciată activitatea bacteriostatică 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.

*Metodologia 2.* În Laboratorul Microbiologia și Morfologia tuberculozei din cadrul IMPS Institutul de Ftiziopneumologie „Chiril Draganiuc” (șef de laborator Valeriu Crudu, dr. șt. med.,

conf. cercet.) s-a efectuat determinarea activității antibacteriene a picăturilor auriculare cu CIP (CIP), EC (EC) și ulei volatile de busuioc (UVB). Probele analizate au fost: Proba 2a. Forma farmaceutică picături auriculare combinate; Proba 2b. Amestec mecanic CIP 0,1 g + EC 0,1 g; Proba 2c. Amestec mecanic EC 0,1 g + UVB 0,1g; Proba 2d. Amestec mecanic EC 0,1 g + CIP 0,1 g + UVB 0,1g; Proba 2e. EC 0,1 g; Proba 2f. UVB 0,1g; Proba 2g. Soluția Placebo; Proba 2i. Amestecul mecanic CIP 0,1 g + UVB 0,1 g.

Determinarea activității antibacteriene și antifungice a produsului combinat cu ciprofloxacina, econazol și UVB s-a realizat pe culturi de microorganisme: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 13883), *Candida albicans* (ATCC 60193), *Aspergillus flavus* (ATCC9643), *Aspergillus fumigatus* (ATCC 204305), *Aspergillus niger* (ATCC 16888) și a fost corelată cu timpul de expunere. Aprecierea activității compușilor testați s-a efectuat cu aplicarea metodei diluțiilor de serie pe medii lichide. cu executarea secvențială a mai multor etape: prepararea mediilor nutritive; prepararea inoculului microorganismului testat; inocularea; incubarea; examinarea și interpretarea rezultatelor.

*Prepararea mediilor de cultură.* Pentru culturile bacteriene s-a utilizat mediul standard - bulion peptonat 2% cu pH ajustat la 7,0. Pentru culturile de fungi s-a utilizat mediul Sabouraud. Urmărirea creșterii microorganismelor s-a efectuat cu utilizarea sistemului BACTEC.

*Prepararea inoculului microorganismelor testate.* Pentru a pregătirea inoculului s-a utilizat cultura pură de microorganisme crescute pe medii nutritive solide timp de 24 ore. S-au selectat mai multe colonii similare bine izolate cultivate pe medii de cultură solide neselective. Cu ajutorul ansei s-au colectat cantități mici din vârful coloniei și s-au transferat într-un tub cu o soluție izotonică sterilă de clorură de sodiu, astfel ca acesta să corespundă standardului de turbiditate de 0,5 după McFarland. Inoculul se utilizează în decurs de 15 minute după preparare [73, 243].

*Diluțiile de serie în mediu nutritiv lichid.* Soluțiile de lucru a probelor s-au obținut din soluția inițială prin diluție cu mediul nutritiv lichid respective până la concentrațiile necesare cu introducerea a câte 0,5 ml inocul. Aceeași cantitate de inocul s-a introdus și în eprubeta cu martorul negativ. Probele au fost incubate la o temperatură de 37°C timp de 16-20 sau 20-24 ore (în funcție de tipul de microorganism). Tuburile cu un martor negativ au fost plasate în frigider la 4°C și păstrate până la citirea rezultatelor testului. Pentru a determina prezența creșterii, tubul cu cultura testată și cel cu martorul negativ s-au examinat în flux emergent de lumină (tuburi cu substanță flourocromă sensibilă la concentrația de CO<sub>2</sub> pentru aprecierea creșterii). Concentrația substanței corespunzătoare tubului cu cea mai mică concentrație, care a inhibat creșterea vizibilă a culturii microbiene, a reprezentat valoarea CMI pentru proba respectivă.

*Pregătire probelor pentru determinarea activității antibacteriene prin testele PCR în timp real.* După principiul descris anterior s-au pregătit tuburi cu concentrația probelor ce corespund cu CMI și s-au incubat la 37° C. După 6, 12, 24 ore de incubare, s-au transferat 100 μl suspensie într-un criotub și s-a adăugat o substanță bactericidă. Determinarea eficienței distrugerii microorganismelor s-a efectuat prin însămânțarea pe mediu nutritiv Sabraud.

**Activitatea antioxidantă** s-a efectuat pentru capsulele combinate cu NIC, PIR și extract uscat de păducel.

A fost determinată activitatea antioxidantă a extractului uscat de păducel individual și a capsulelor combinate la Catedra de farmacognozie și botanică farmaceutică USMF „Nicolae Testemițanu”, utilizând metodele de captare a radicalului organic DPPH și de decolorare a cation-radicalului ABTS<sup>•+</sup>, precum și determinarea capacității de chelare a Fe<sup>2+</sup>.

***Metoda DPPH*** (2,2 Diphenylpicrylhydrazil Radical Scavenging Capacity) este o metodă spectrofotometrică, larg utilizată pentru a testa abilitatea compușilor de a îndepărta radicalii liberi sau capacitatea lor de a dona hidrogen. Radicalul liber stabil DPPH (1,1-difenil-2-picril hidrazil) în metanol, la temperatura camerei produce o colorație violetă, iar când interacționează cu un antioxidant care poate dona un atom de hidrogen, se obține forma redusă DPPH-H de culoare galbenă [11].

A fost preparată soluția metanolică de DPPH (Sigma Aldrich) cu concentrația 20,0 μg/ml și soluții stoc de EP și pulbere din capsulele combinate cu concentrație de 1,0 mg/ml (conținutul unei capsule se dizolvă în 50 ml de metanol). Din soluția stoc se prepară concentrațiile finale de 200, 100, 50, 25, 10, 5 și 1 μg/ml în metanol, din care se prelevează câte 0,75 ml și se adaugă la 1,5 ml de soluție metanolică de DPPH. Reacția de oxidare se petrece la întuneric, în circa 15-20 de minute, după care se măsoară absorbanta soluției analizate la lungimea de undă 517 nm. În calitate de soluție de compensare se folosește metanolul. Soluția DPPH (1,5 ml, 20 μg/ml) în metanol (0,75 ml) se utilizează în calitate de soluție de referință. În calitate de antioxidant standard a fost folosit Trolox (Acros Organics, Denmark) în intervalul de concentrații de 1-7,5 μg/ml, în baza căruia și a fost construit graficul de calibrare, care a servit la determinarea valorii IC<sub>50</sub> (concentrația soluției analizate necesară pentru captarea a 50 % radicali DPPH liberi).

Capacitatea de captare a radicalului DPPH (AO%) a fost calculată după formula 2.4:

$$AO\% = \frac{(A_0 - A_x)}{A_0} * 100, \text{ unde: } \quad (2.4)$$

A<sub>0</sub> – absorbanta soluției DPPH fără extract;

A<sub>x</sub> – absorbanta probei cu extract [165, 57].

**Metoda ABTS/TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity).** La baza acestei tehnici

de determinare a activității antioxidante stă capacitatea soluției probă de extract cu proprietăți antioxidante de a inhiba radicalul cationic ABTS<sup>•+</sup> (acidul 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfonic)), care este comparată cu cea a antioxidantului standard (Trolox). Radicalul cationic este obținut la oxidarea ABTS în prezența persulfatului de potasiu și este redus prin adăugare de atomii de hidrogen (culoare albastru-verzuie). Dacă în proba analizată sunt prezenți antioxidanți, aceștia provoacă reducerea și are loc decolorarea soluției (formarea ABTS liber incolor). În calitate de antioxidant standard poate fi utilizat Troloxul (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilchroman-2-acid carboxilic) – analogul vitaminei E, solubil în apă. Rezultatele au fost exprimate prin capacitatea antioxidantă echivalentă cu Trolox ( $\mu\text{M TEAC/g extract}$ ) în baza graficului de etalonare a soluției standard de Trolox de concentrații cuprinse între 2,5-30  $\mu\text{M}$  [37, 51].

Reacția de reducere durează circa 6 min, la temperatura camerei, iar procentul de inhibiție a fost calculat în baza formulei (2.5) :

$$\% \text{Inhibiție} = [(\text{Abs}_0 - \text{Abs}_t) / \text{Abs}_0] * 100, \text{ unde:} \quad (2.5)$$

$\text{Abs}_0$  – absorbanta soluției ABTS<sup>•+</sup>;

$\text{Abs}_t$  – absorbanta probelor analizate.

Calculul capacității antioxidante a extractelor se face utilizând următoarea formula (2.6):

$$\text{TEAC}_{\text{extract}} = C_{\text{Trolox}} * f * (A_x - A_0) / (A_{\text{Trolox}} - A_0) \quad (2.6)$$

unde:

$A_0$  - reprezintă absorbanta maximă, citita la 3 minute după adăugarea a 2,5 mL ABTS, într-o celula conținând 0,5 mL apa distilata;  $A_{\text{Trolox}}$  - reprezintă absorbanta maximă, citita la 3 minute după adăugarea a 0,1 mL Trolox (10-3 M), într-o celula conținând 2,5 mL ABTS și 0,4 mL apa distilata;  $A_x$  - reprezintă absorbanta maximă, citita la 3 minute după adăugarea a 0,1 mL proba (aproximativ 2 mg/mL), într-o celula conținând 2,5 mL ABTS și 0,4 mL apa distilata;  $f$  - reprezintă factorul de diluție al probei;  $C_{\text{Trolox}}$  - reprezintă concentrația efectivă de Trolox, în  $\mu\text{mol L}^{-1}$  [249].

**Capacitatea de chelare a fierului (Testul ferrozina).** Fierul (Fe) este un element indispensabil organismului uman. Acesta este parte componentă a hemoglobinei ca proteină transportoare de oxigen, există în citocromi, mioglobină și este esențial pentru multe enzime [151, 22].

Cu toate acestea, deși corpul uman poate tolera niveluri relativ ridicate de fier, excesul de fier este destul de toxic. Intoxicația cu metale a devenit destul de comună la copiii mici ca urmare a aportului excesiv de fier din cauza suplimentelor alimentare îmbogățite cu fier. La adulți exces de Fe este mai puțin întâlnit. Nivelul ridicat de fier afectează inima și ficatul. Radicalii liberi produși de fier pot duce deces prematur. Evacuarea regulată a ionilor metalici poate fi mărită prin aplicarea unor substanțe capabile să capteze fierul [114].

Capacitatea de chelare a fierului a EP și a formei farmaceutice a fost măsurată prin metoda



folosită de Hsu [122]. Soluția de extract a fost preparată în concentrație de 10 µg/mL. 60 µl soluție probă a fost amestecat cu 3,690 ml de apă, 50 µl ml de 2 mM FeCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O și 200 µl de ferozină 5 mM. După incubare la temperatura camerei timp de 10 min, s-a măsurat absorbanta amestecului la 562 nm. Acidul etilendiamintetraacetic (EDTA) cu aceleași concentrații a fost utilizat ca martor pozitiv. Toate măsurătorile spectrofotometrice au fost efectuate de trei ori. Procentul de inhibiție a formării complexului ferozină-Fe<sup>2+</sup> s-a calculat după formula (2.7):

$$\text{Activitate de chelare \%} = [(A_0 - (A_x - A_c)) / A_0] \times 100 \quad (2.7)$$

unde:  $A_0$  – absorbanta soluției control;  $A_x$  – absorbanta soluției de analizat,  $A_c$  – absorbanta soluției control EDTA (martor pozitiv).

## 2.5. Metode de evaluare a rezultatelor obținute

### *Optimizarea formulărilor la etapa de elaborare a produselor combinate prin Design*

#### *Expert 7.*

Design Expert este un software conceput pentru a ajuta la proiectarea și interpretarea experimentelor multifactoriale. Software-ul oferă o gamă largă de modele, inclusiv factoriale, factoriale fracționari și desene compozite. Poate gestiona atât variabilele de proces, cât și variabilele ale amestecului, oferă modele D-optimale generate de computer pentru cazurile în care modelele standard nu sunt aplicabile. În analiza experimentelor de preformulare/optimizare a formelor farmaceutice au fost utilizate modele care au avut legătură cu un răspuns sau o caracteristică de calitate un set de variabile controlabile ( $Y = \beta_0 + \beta_1X_1 + \beta_2X_2 + \beta_{12}X_1X_2 + \epsilon$ ). Pentru variabilele de control a fost selectat modelul designului factorial deplin  $3^2$  [65].

Analiza variațiilor ANOVA a fost aplicată pentru evaluarea raportului dintre intervalul de variație a răspunsului prezis și o estimare a erorii standard a previziuni.

Rezultatele primare ale determinărilor au fost înregistrate sub formă de tabele Excel, cu introducerea formulelor de calcul, generarea graficelor și diagramelor.

Rezultatele experimentale, obținute în urma determinărilor cantitative a principiilor active în formele farmaceutice elaborate, au fost analizate prin metoda statisticii descriptive, cu valorificarea parametrilor statistici: media ( $\bar{X}$ ), mediana (Me), intervalul de încredere 95% (CI), abaterea standard (SD), abaterea intercuartilă (IQR), valoarea minimă (Xmin) și maximă (Xmax). Normalitatea distribuției datelor a fost verificată prin testul Shapiro-Wilk, potrivit pentru date ce nu au distribuție normală sau pentru numărul unităților statistice relativ mic. Analiza statistică a semnificației diferențelor între grupuri au fost stabilite, utilizând testul *Kruskal-Wallis* și *Anova*. Calculele au fost efectuate, folosind IBM SPSS Statistics, versiunea 26 [84].

### **Validarea metodelor de analiză.**

Procesul de validare a metodelor de dozare a substanțelor active din formele farmaceutice combinate elaborate s-a realizat în conformitate cu prevederile ghidului ICH “Q2R1: Pentru proceduri analitice și validare” [124].

S-au determinat parametrii de validare recomandați de către ICH: limită de detecție, limită de cuantificare, linearitate, selectivitate, exactitate, precizie și robustețe, specificitate, stabilitate.

Limita de detecție a fost calculată, folosind formula de calcul: [216]

$$\text{LOD} = (3,3 \times \text{SD})/a, \quad (2.8)$$

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:

$$\text{LOQ} = (10 \times \text{SD})/a, \quad (2.9)$$

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. Toate determinările pentru fiecare nivel de concentrație s-au efectuat în triplicat și au fost evaluate statistic. Concentrația substanțelor active a fost calculată folosind ecuațiile regresii liniare stabilite la parametrul de Liniaritate [124, 299].

Randamentul recuperării s-a determinat prin formula de calcul [124].

$$R = [(C_t - C_p)/C_a] \times 100\%, \quad (2.10)$$

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,  $\mu\text{g/ml}$ .

Gradul de precizie s-a determinat prin evaluarea repetabilității și preciziei intermediare. 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]. Specificitatea s-a determinat în raport cu soluțiile placebo alcătuite din excipienți, fără principii active [46].

Robustețea s-a evaluat prin analiza impactului unor modificări minore în tehnica de lucru a metodelor elaborate (lungime de undă, viteza fazei mobile, etc.) [330, 310, 329].

## **Sinteza capitolului 2**

În lucrare au fost abordate și aplicate principiile metodologice ale cercetării și dezvoltării medicamentelor la etapa preclinică. Metodologia de bază, aplicată în procesul de elaborare a medicamentelor este cea de „Calitate prin Design”, care permite o abordare sistematică a dezvoltării medicamentelor prin prisma calității, cu aplicarea metodelor analitice și de gestionare

a riscurilor în timpul cercetării de noi medicamente. În calitate de suport metodologic au servit prevederile Ph. Eur., ICH, EMA, FDA cu referire la studiile de compatibilitate, preformulare, optimizare, elaborarea metodelor de analiză, validare, studii de stabilitate, standardizare. Au fost aplicate rigorile și recomandările în vigoare privind studiile preclinice cu utilizarea animalelor de laborator, metodologiile de studiu microbiologic și de studiu a activității antioxidante.

În procesul de elaborare a lucrării au fost utilizate substanțe medicamentoase, standarde de referință, excipienți, formele farmaceutice elaborate (serii experimentale de laborator), solvenți, reagenți, veselă și ustensile de laborator, în conformitate cu rigorile Ph. Eur., a ghidurilor ICH și regulamentelor în vigoare. Toate cercetările s-au efectuat cu utilizarea aparatajului standardizat metrologic.

În studiu au fost aplicate metode instrumentale de analiză calitativă și cantitativă, exacte și sensibile, precum spectroforometria UV-Vis, CSS; HPLC, GC, MS, difracție cu raze X, tehnici de determinare a gradului de difuzie, testul de dizolvare, analiza reologică. Toate determinările au îndeplinit rigorile stipulate de Ph. Eur.

Prin aplicarea metodelor statistice de evaluare a rezultatelor, atât a celor intermediare, s-a urmărit obținerea unei analize riguroase și obiective a datelor colectate. Aceste metode au permis identificarea tendințelor relevante, corelarea variabilelor cheie și formularea concluziilor bazate pe date empirice. În plus, prin utilizarea unor tehnici avansate de analiză statistică, s-a realizat evaluarea semnificației și fiabilității rezultatelor, contribuind astfel la fundamentarea solidă a concluziilor extrase din studiu. De asemenea, prin intermediul acestor metode, a fost posibilă realizarea comparații relevante între grupuri sau subgrupuri, facilitând astfel înțelegerea diferențelor semnificative și identificarea factorilor influențatori.

### **3. PREFORMULAREA, OPTIMIZAREA ȘI TEHNOLOGIA RODUSELOR FARMACEUTICE COMBinate PENTRU TRATAMENTUL UNOR AFECȚIUNI AURICULARE**

#### **3.1. Studiul pieței farmaceutice naționale a produselor farmaceutice combinate utilizate în tratamentul maladiilor urechii**

##### ***3.1.1. Piața farmaceutică națională a medicamentelor combinate***

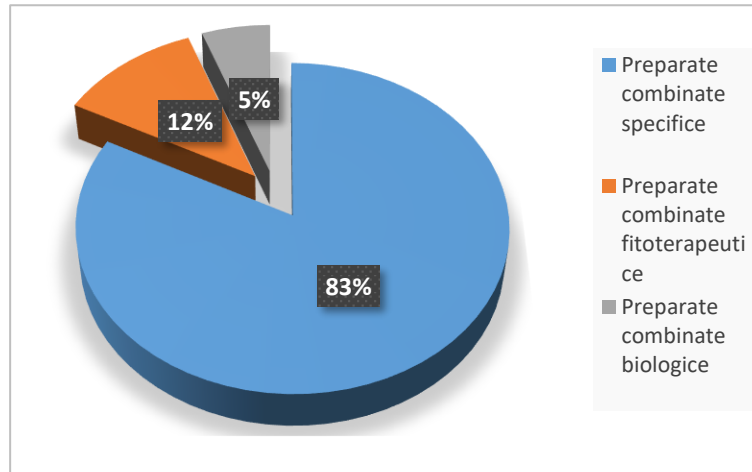
Actualmente este evidentă tendința de creștere a numărului de medicamente combinate la nivel global. Pentru a evalua starea lucrurilor în RM, s-au efectuat mai multe studii de piață. S-a constatat, că aproximativ 20% din produsele medicamentoase prezente pe piața farmaceutică autohtonă sunt combinații fixe (Figura A1.1).

Medicamentele combinate posedă un șir de avantaje, legate de creșterea tolerabilității medicației și complianței pacienților la tratament, comoditatea administrării preparatului, efecte clinice mărite prin acțiune aditivă sau sinergică, incidență scăzută a reacțiilor adverse rezultată din utilizarea unor doze mai mici de substanțe, cost redus, ș.a. Unele dezavantaje, care țin de inflexibilitatea dozei de administrare sau dificultățile la identificarea componentelor responsabile de reacțiile adverse, nu pot diminua importanța și tendința de extindere a numărului de remedii combinate, aflate pe piață sau la diferite etape de elaborare. Medicamente combinate pot fi obținute prin asocierea compușilor bine-cunoscuți, deja aprobați sau utilizați în combinație, la combinarea principiilor bine-cunoscute, incluse pentru prima dată în medicamentul combinat, la asocierea unei sau mai multor entități chimice noi cu una sau mai multe substanțe bine-cunoscute, sau la combinarea a două sau mai multe entități chimice noi.

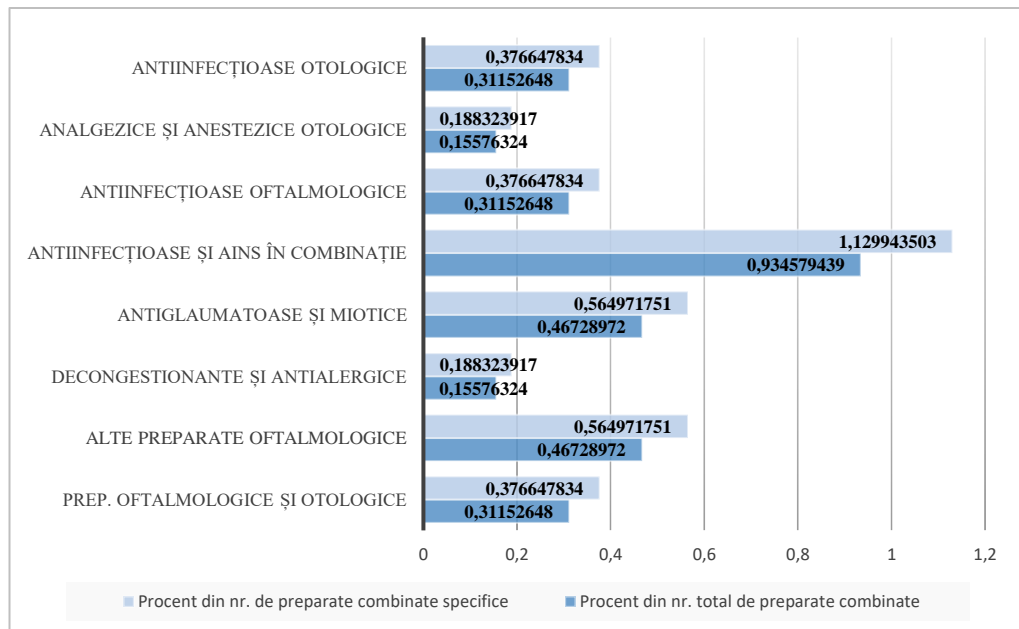
Conform datelor din Nomenclatorul de Stat al Medicamentelor din Republica Moldova (pe parcursul anilor 2012-2023, cu ultima actualizare a datelor în septembrie 2023), numărul denumirilor de preparate medicamentoase combinate înregistrate este de 642. Numărul preparatelor combinate specifice reprezintă 531, numărul preparatelor combinate fitoterapeutice – 75 și respectiv, cele combinate biologice –36 (Figura 3.1).

A fost efectuată o analiză a preparatelor combinate conform codului ATC, și a fost determinată ponderea preparatelor combinate în fiecare grup în raport cu: numărul preparatelor combinate specifice și numărul total de produse combinate [212].

La evaluarea grupului de medicamente „Organe sensitive”, s-a constatat o cotă procentuală minimă din numărul total de medicamente înregistrate (0,1-0,9%) și cu circa 0,1% mai mare pentru fiecare grup în raport cu numărul de remedii combinate specifice (Figura 3.2).



**Fig. 3.1. Numărul și ponderea fiecărui tip de preparate combinate înregistrate în Republica Moldova**

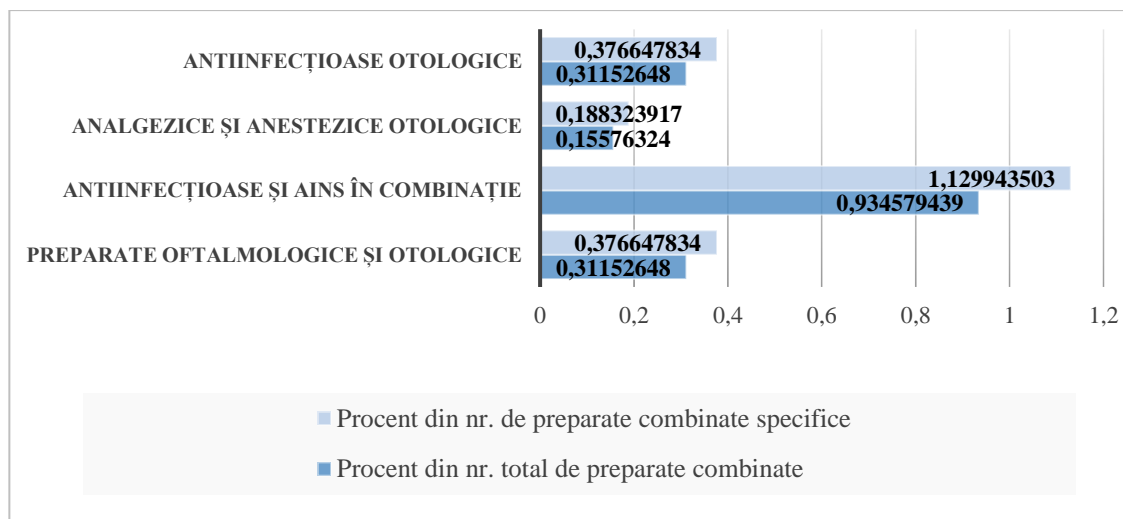


**Fig. 3.2 Cota preparatelor înregistrate din grupul „Organe senzitive”**

Din numărul total de preparate din grupul „Organe sensitive”, remediile combinate utilizate în afecțiunile urechii ocupă un procent foarte mic (Figura 3.3).

În cadrul grupei, o prevalență se atestă pentru antiinflamatoare și antiinfecțioasele, analgezicele și anestezicele, precum și antiinfecțioase (Figura A1.2.).

Pe piața farmaceutică autohtonă nu există niciun preparat combinat auricular cu acțiune antibacteriană și regenerantă, fapt care argumentează actualitatea temei investigate și justifică selectarea obiectelor de studiu.



**Fig. 3.3. Ponderea remediilor combinate otologice pe piața farmaceutică a Republicii Moldova**

### *3.1.2. Analiza sortimentului de preparate auriculare utilizate în otomicoze*

Analiza datelor bibliografice detonă că otomicoza se dovedește a fi una din cele mai frecvente afecțiuni ale organelor otorinolaringologice (ORL).

Numărul de denumiri de preparate specifice, utilizate în terapia otomicozelor, au fost analizate din punct de vedere al accesibilității fizice pe piața farmaceutică din Republica Moldova, comparativ cu cele accesibile fizic pe piața farmaceutică a țărilor UE, SUA, Canadei și Rusiei (studiu realizat în a.a. 2014-2019, tabelul A1.1) [193, 16, 72, 368].

Regăsirea pe piața diferitor țări a fost apreciată în urma analizei Nomenclatoarelor de Medicamente: Republica Moldova, România, Rusia, Ucraina, Marea Britanie, SUA și Canada, iar frecvența utilizării – în baza protocoalelor de tratament și recomandărilor specialiștilor din domeniu regăsite în literatura de specialitate. Datele din tabelul 1 demonstrează, că cele mai frecvent sunt prescrise și utilizate circa 23 de denumiri comerciale, fabricate de 19 companii farmaceutică din 8 țări. Majoritatea fabricilor producătoare sunt reprezentate de țări cu o industrie farmaceutică puternic dezvoltată (60%); companii din țările Europei Centrale și de Est (33%) și din țările „lumii a treia” (7%). Din cele 19 companii producătoare de medicamente, 89% au ieșit pe piață cu o singură denumire de medicamente din grupul analizat și doar 11% cu câte două poziții. Majoritatea medicamentelor prezentate (52%) sunt preparate combinate alcătuite dintr-un antimicotic asociat cu un antibacterian și un antiinflamator steroidian, 39% din denumirile de medicamentele analizate reprezintă combinații dintre un antimicotic și un antiinflamator steroidian și doar 5% revin preparatelor combinate, alcătuite dintr-un antimicotic și un antibacterian și 4% revin acelor preparate care pe lângă un antimicotic mai conțin și un anestezic local (tabelul A1.2).

Cel mai frecvent produs medicamentos antimicotic întâlnit în rândul formelor medicamentoase combinate utilizate în tratamentul otomicozelor (tabelul A1.12) este clotrimazolul (45%). Clotrimazolul este mai mult activ asupra fungilor genului *Candida* (*C. albicans*, *C. Parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. Lusitaniae*), *Rhodotorulla*, *Torulopsis glabrata*, *Malassezia furfur* și este lipsit de ototoxicitate. Clioquinolul (22%) este derivat de hidroxichinolină, și manifestă atât acțiune antimicotică cât și antibacteriană. Nistatina (22%) și natamicina (5%) sunt antibiotice polienice, fiind printre primele medicamente utilizate în micologie, care actualmente sunt utilizate mai puțin din cauza biodisponibilității reduse.

În otomicoze adesea se asociază infecția secundară însoțită de inflamație, de aceea foarte frecvent în tratamentul acestei maladii sunt indicate preparatele combinate. Acestea, în compoziția sa, pe lângă substanța activă cu efect antimicotic mai conține și una antiinflamatoare nesteroidiană (52%), ca exemplu, betametazona dipropionat, triomcinolona, hidrocortizona, flumetazona sau unul antibacterian (44%) - neomicina, gentamicină (aminoglicozidele sunt contraindicate în perforația timpanului, deoarece pot fi ototoxice), nistatina, gramicidină (tabelul A1.2). Deoarece afecțiunile micotice ale urechii necesită tratament local, un rol important care conduce la creșterea eficienței tratamentului, este și alegerea corectă a formei farmaceutice a medicamentului combinat. Conform datelor obținute, din denumirile de medicamente cercetate, conform formei farmaceutice se întâlnesc: 61,5% denumiri comerciale sub formă de creme, 26,9% denumiri comerciale sub formă de unguente și doar 11,5% denumiri comerciale sub formă de picături auriculare (tabelul A1.3). Cel mai des, medicii dau preferință picăturilor auriculare, aplicarea cărora în canalul auditiv este mai practică și nu întâlnește la fel de multe dificultăți comparativ cu aplicarea formelor farmaceutice moi.

În rezultatei analizei nomenclatoarelor s-a ajuns la concluzia că există un număr destul de redus de produse farmaceutice antifungice pentru tratamentul otomicozelor. Pe piața farmaceutică a Republicii Moldova există doar 3 preparate medicamentoase de import care se prezintă sub formă de unguente și creme. Ținând cont de tratamentul complex al otomicozelor și de complicațiile posibile ale acestei afecțiuni, este actuală elaborarea de noi forme farmaceutice, în special cele combinate, cu acțiune topică antifungică.

### ***3.1.3. Studiul pieței farmaceutice autohtone și internaționale a preparatelor combinate utilizate în tratamentul hipoacuziei senzorieurale***

În calitate de obiecte de cercetare au servit registrele de stat ale medicamentelor care expun medicamentele autorizate în diferite țări: Nomenclatorul de Stat al Medicamentelor din Republica Moldova, Nomenclatorul de medicamente al României, „Registrul de Stat de medicamente (Rusia),

Nomenclatorul de medicamente EMA (European Medical Agency), The Federal Institute for Drugs and Medical Devices (Germania), precum și instrucțiunile de utilizare a medicamentelor/ prospectele pentru utilizator/ pacient, documente analitice de normare a calității [193, 16, 72, 368, 206].

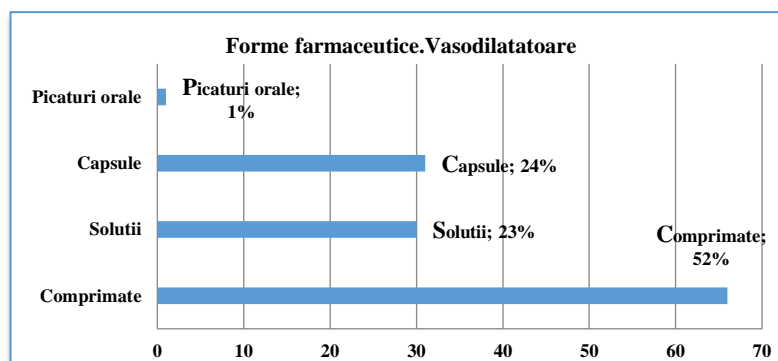
Analiza datelor din literatura de specialitate demonstrează că arsenalul de medicamente vasodilatatoare cerebrale pe piața farmaceutică a Republicii Moldova, este foarte restrâns, fiind doar 1% cu 127 denumiri (Figura A1.3). Și în România, din numărul total de 44 500 denumiri de medicamente, doar 99 denumiri le revin produselor vasodilatatoare (Figura A1.4). În Franța și Germania, situația este identică, privitor la denumirile de medicamente vasodilatatoare prezente pe piața farmaceutică, acestora le revine 1 % din numărul total de medicamente (Figura A1.5).

În Republica Moldova, cele mai des utilizate în practica medicală produse vasodilatatoare sunt: Vinpocetina – 22%, urmată de Ginkgo Biloba – 19%, Pentoxifilină – 16%, Nicergolina și Cinarizina – câte 14%, Acid nicotinic – 6% și Vincamină – 9% (Figura A1.6). În Germania însă, Acidul nicotinic este cel mai utilizat vasodilatator cerebral – 58%, Ginkgo Biloba – 33%, Pentoxifilina – 5%, NIC – 2% și Vincamina și Vinpocetina – câte 1% (Figura A1.7). La fel și în Franța, Acidul nicotinic ocupă mai mult de jumătate din arsenalul vasodilatatoarelor cerebrale – 55%, urmat de NIC – 16%, Ginkgo Biloba și Pentoxifilina câte 11% și Vincamina – 7% (Figura A1.8). În România însă, Ginkgo Biloba se află pe prima poziție – 36%, urmată de NIC – 20%, Pentoxifilină – 17% și Acid nicotinic 14% (Figura A1.9).

A fost analizat spectrul preparatelor cu conținut de NIC (Tabelul A1.4), rezultatele studiului au arătat lipsa combinațiilor pentru această substanță cu acțiune vasodilatatoare. Pentru o evaluare completă a arsenalului de medicamente combinate cu aceeași acțiune terapeutică au fost analizate și sortimentele pentru alte substanțe active cerebrovasculare, iar datele totalizatoare obținute sunt prezentate în tabelul A1.5. În urma analizei datelor obținute constatăm că sortimentul de medicamente vasodilatatoare cerebrale preponderent utilizate pentru tratamentul hipoacuziei sensorineurale, pe piața farmaceutică a Republicii Moldova este destul de restrâns, incluzând doar 42 poziții, produse de 5 producători, dintre care doar unul autohton. Însă numărul medicamentelor combinate ce includ substanțe active cerebrovasculare este mult mai mic, doar 2 asociații: vinpocetină +PIR, și cinarizina +PIR (tabelul A1.6). Dintre remediile nootrope se mai utilizează piritinolul și acidul gama-aminobutiric (tabelul A1.7).

În Republica Moldova, vasodilatatoarele cerebrale se găsesc preponderent sub formă de comprimate – 52 %, urmat de capsule – 24 %, soluții – 23 % și doar 1 % se găsesc sub formă de picături orale (Figura 3.4).

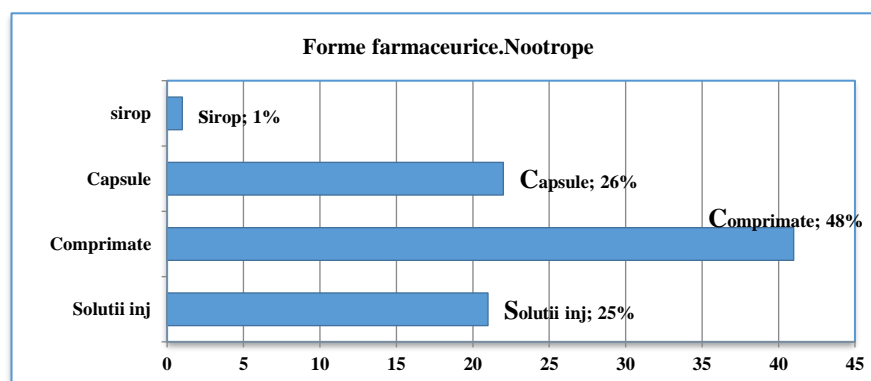




**Fig. 3.4. Vasodilatatoare după tipul formei farmaceutice în Republica Moldova (la data de 01.09.2023)**

În România, Germania și Franța, la fel prevalează existența vasodilatatoarelor cerebrale sub forme farmaceutice solide: comprimate, capsule, dar și lichide sub formă de soluții, însă lipsesc picăturile orale.

În urma evaluării medicamentelor din grupul nootropelor, s-a constatat că pe piața farmaceutică a Republicii Moldova preparatele nootrope ocupă doar 1,2 % din totalul de medicamente, iar dintre acestea doar 0,4 % sunt autohtone (Figura 3.5).



**Fig. 3.5. Nootrope după tipul formei farmaceutice în Republica Moldova (la data de 01.09.2023)**

Însă cota parte a preparatelor combinate este mult mai mică. Astfel o singură asociere dintre 2 substanțe medicamentoase este prezentă în 6 denumiri comerciale dintre care doar 1 aparține unui producător autohton (Eurofarmaco) [326]. Extractul uscat de păducel pe piața farmaceutică a Republicii Moldova este regăsit doar în componența a 3 preparate, dintre care doar unul singur combinat (Valfen plus- combinație cu extract uscat de odolean și fenobarbital- acțiune calmantă și sedativă).

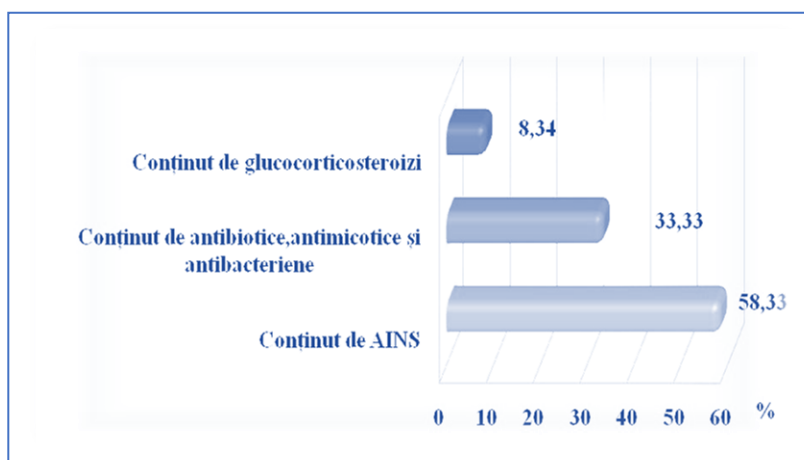
Conform datelor din Nomenclatorul medicamentelor de uz uman plasat pe pagina Agenției Naționale a Medicamentelor și Dispozitivelor Medicale din România, la data 01.09.2023 nu se

regănesc combinații medicamentoase dintre nootrope și vasodilatatoare cerebrale, iar în Nomenclatorul Rusiei am întâlnit doar 5 denumiri comerciale ce includ 2 astfel de combinații [334].

#### 3.1.4. Preparatele utilizate în tratamentul otitei pe piața farmaceutică autohtonă

Actualmente, pe piața farmaceutică a Republicii Moldova sunt autorizate 10 denumiri de medicamente, utilizate în tratarea otitei, fiind prezente doar în forma farmaceutică– picături auriculare (tabelul A1.8). [202]

Numărul grupelor farmacoterapeutice este mai divers, prezent prin antibiotice, corticosteroizi, antihistaminice, antiseptice, antiinflamatorii nesteroidiene (Tabelul A1.9, Figura 1.9).



**Fig. 3.6. Picături auriculare după apartenența la grupele farmacoterapeutice.**

În afară de produsele combinate de origine sintetică, pe piața farmaceutică se regănesc și produse cu conținut de extracte și uleiuri din plante (Tabelul A1.10). Numărul lor este redus, însă ele sunt destul de efective și posedă un șir de avantaje. Picăturile *Aurecon Drops* ușurează și potentează eficacitatea curățirii urechilor, diminuează aderarea secreției de pereții canalului auditiv, reglează formarea secreției, împiedică înmulțirea microorganismelor. Picăturile *Ceratis* regenerează și cicatrizează tegumentul conductului auditiv extern. *Otolin* este recomandat datorită principiilor active naturale cu acțiune cicatrizantă, ușor anestezică, antiinflamatoare, emolientă pentru menținerea igienei canalului auditiv și calmarea iritațiilor auriculare. Acesta curăță și dezinfectează, îmbunătățește acuitatea auditivă. Produsele cu conținut de propolis au un efect antibacterian pronunțat, acțiune anestezică și analgezică, regeneratoare și imunomodulatoare. Picăturile *Ear-OK Drops*, pe lângă efectele antiinflamatoare, antifungic, antiviral, antibacterian și antiseptic, posedă și acțiune imunostimulatoare.

Conform Nomenclatorului de Stat din Republica Moldova, la data de 31.12.2018 erau autorizate 10 denumiri de medicamente, produse de 9 firme producătoare din 5 țări, sub formă de picături utilizate în tratarea otitei, dintre care 60 % erau preparatele combinate, care presupune

asocierea într-un singur preparat a doi sau mai mulți agenți cu acțiune terapeutică diferită în doze fixă (Figura A1.10). Acestea, conținând în sine substanțe active cu diferită acțiune, au o șansă statistică de succes mai mare, deoarece, acționând asupra mai multor mecanisme ce intervin în declanșarea stării patologice, cresc probabilitatea de a obține un răspuns terapeutic sporit.

Dar sunt și preparate monocomponente, deoarece în cazul apariției unei reacții adverse va fi dificil de a determina care substanță activă a declanșat reacția. În cazul medicamentelor combinate, toxicitatea poate fi mai crescută, decât în cazul celor monocomponente.

Se atestă ca preparatele combinate sunt mai des utilizate, ele având un șir de avantaje: comoditatea administrării preparatului; efect clinic mărit prin acțiune aditivă sau sinergică; incidență scăzută a reacțiilor adverse, rezultată din utilizarea unor doze mai mici de substanțe active cu reacții adverse diferite; cost redus; asocierea principiilor active cu acțiuni complementare la nivelul organelor țintă poate fi de asemenea benefică.

### **3.2. Preformularea picăturilor auriculare combinate**

Preformularea în elaborarea picăturilor auriculare combinate reprezintă o etapă crucială în procesul de elaborare a acestor produse, contribuind la eficacitatea, siguranța și calitatea generală a produsului final. Prin preformulare, se pot selecta și combina cu atenție ingredientele active și excipienții pentru a asigura solubilitatea optimă și stabilitatea produsului. Aceasta contribuie la menținerea eficacității și a consistenței produsului pe parcursul timpului, evitând eventualele probleme legate de separare sau degradare. Alegerea adecvată a principiilor active și a excipienților, precum și a raporturilor acestora în preformulare poate influența biodisponibilitatea, care la rândul său, este un criteriu de bază pentru asigurarea absorbției și eficienței a medicamentelor în organism, maximizând astfel eficacitatea produsului. Tot prin preformulare, se pot identifica și minimiza potențialele interacțiuni între componente care ar putea genera reacții adverse. Aceasta este o măsură esențială pentru siguranța consumatorilor, asigurându-se că produsul final nu prezintă riscuri semnificative pentru sănătate.

Etapă de preformulare, de fapt permite optimizarea formulării în conformitate cu standardele de calitate. Aceasta include asigurarea unei concentrații adecvate a ingredientelor active și respectarea normelor privind substanțele auxiliare. La această etapă se poate experimenta cu diverse combinații de ingrediente pentru a obține formulări inovatoare și personalizate, adaptate nevoilor specifice ale utilizatorilor sau cerințelor pieței [342, 312].

### 3.2.1. Studii de compatibilitate a substanțelor active între ele și cu excipienții prin metode DSC și FTIR

Prin explorarea compatibilității componentelor unui sistem medicamentos, se urmărește optimizarea formulării cu scopul maximizării stabilității, biodisponibilității și eficacității produsului finit. Evaluarea interacțiunilor dintre diversele componente ale formulării, inclusiv substanțele active și excipienții este esențială pentru a evita potențialele reacții nedorite sau degradări chimice care ar putea afecta calitatea și eficacitatea medicamentului. În acest context, o analiză atentă a interacțiunilor la nivel molecular și fizic devine imperativă în procesul de preformulare.

În prezent, metodele termice de analiză sunt cele mai frecvent utilizate pentru evaluarea compatibilității sau incompatibilității medicamentelor. Dintre acestea, metoda calorimetriei cu scanare diferențială (DSC) este preferată, datorită capacității sale de a furniza informații cuprinzătoare. Tehnica DSC este simplă, rapidă și sensibilă, reprezentând astfel un instrument de lucru extrem de util în studiul și anticiparea incompatibilităților dintre substanțele medicamentoase și excipienții încă din faza de preformulare [256].

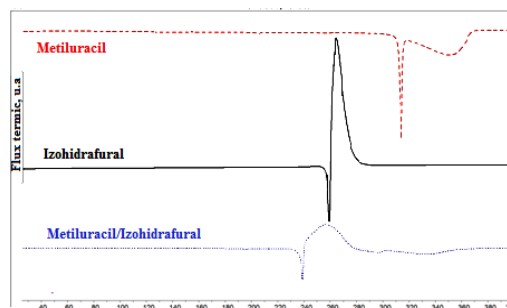
Evaluarea compatibilității a substanțelor active între ele și cu excipienții din picăturile auriculare combinate: IHF+MU și CIP+EC+UVB s-a realizat cu aplicarea tehnicilor analitice avansate, utilizate pentru detectarea și cuantificarea interacțiunilor dintre substanțele active și excipienți – DSC și spectrometrie FTIR [320, 113, 67].

#### *Aplicarea metodei de Analiză Calorimetrică Diferențială.*

- *Compatibilitatea fizico-chimică dintre substanțe medicamentoase.*

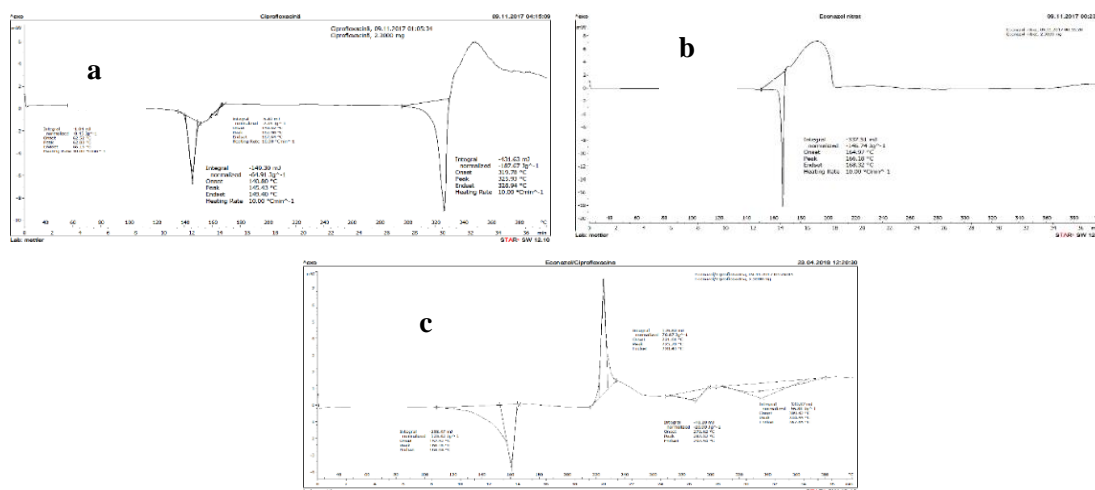
Termograma DSC (Differential Scanning Calorimetry) a amestecului binar dintre IHF și MU furnizează informații importante despre comportamentul termic al acestui sistem. În termograma DSC, observăm un vârf mai amplu și mai puțin evident pentru amestecul dintre IHF și MU. MU atinge punctul de topire într-un interval între 277,59°C și 300,25°C, având un vârf termic la 294,66°C. Cu toate acestea, există șansa ca punctul de topire al MU să coincidă cu descompunerea IHF, rămânând astfel neobservat. Punctul de topire al IHF este evident în intervalul 236,38°C - 239,98°C, atingându-și maximum la 237,51°C, fiind apoi urmat de procesul de descompunere (Figura 3.7, Tabelul A2.1).

**Fig. 3.7. Termograma DSC a substanțelor medicamentoase individuale (IHF și MU) și a amestecului lor binar 1:1 (m/m)**



Termograma DSC a amestecului binar dintre clorhidratul de ciprofloxacina și nitratul de econazol descrie comportamentul termic al substanțelor în amestec, care, fiind comparat cu rezultatele termoanalitice ale substanțelor individuale, oferă informații despre stabilitatea termică a sistemului. În termograma DSC, observăm un vârf mai pronunțat și evident pentru amestecul dintre CIP și EC. Picul este exodem, între 176,80°C și 228,43°C cu maxim la 225,70°C. Nitratul de econazol se topește într-un interval între 164,97°C și 168,32°C, având un vârf termic la 166,18°C.

Fiindcă au picuri de topire apropiate cu ale clorhidratului de ciprofloxacina, se poate întâmpla, ca punctul de topire al nitrului de econazol să coincidă cu momentul de topire a CIP, și pe termogramă să nu se vadă. Punctul de topire al clorhidratului de ciprofloxacina este evident în intervalul 140,80°C – 149,40°C, atingându-și maximul la 145,43°C, fiind apoi urmat de procesul de descompunere (picul de la 325,93°C) (Figura 3.8, Tabelul A 2.1).



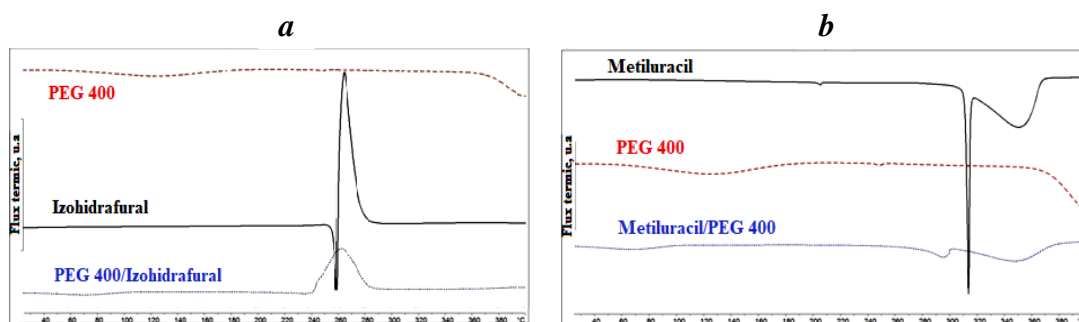
**Fig. 3.8. Termogramele DSC ale substanțelor medicamentoase individuale (CIP și EC) (a, b) și a amestecului lor binar 1:1 (c) (m/m)**

- ***Compatibilitatea fizico-chimică dintre substanțe medicamentoase cu excipienți și dintre excipienți.***

În termograma DSC a amestecului binar format din IHF și PEG 400, primul vârf endotermic indică deshidratarea PEG-ului 400, manifestându-se între 35,05°C și 102,43°C, cu un punct maxim la 72,94°C. Vârful corespunzător punctului de topire al IHF se observă între 228,06°C și 228,76°C, având un punct maxim la 228,43°C. Vârfuluri similare pot fi identificate și în termogramele substanțelor pure (Figura 3.9 a, Tabelul A 2.1).

În termograma DSC a amestecului binar compus din MU și PEG 400, primul vârf endotermic indică deshidratarea PEG-ului 400, manifestându-se într-un interval cuprins între 29,78°C și 97,50°C, atingând punctul maxim la 68,61°C. Al doilea vârf corespunde punctului de

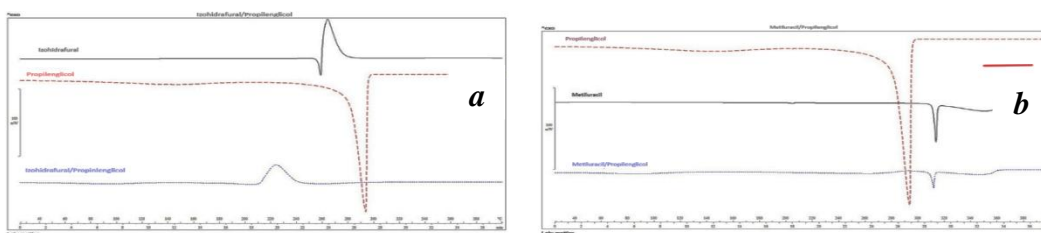
topire al MU. În comparație cu termograma individuală a MU, punctul de topire al acestuia este mai puțin evident și apare mai devreme, cuprins între 281,51°C și 300,07°C, cu un punct maxim la 294,62°C (Figura 3.9 b, Tabelul A2.1).



**Fig. 3.9. Termogramele DSC ale substanțelor medicamentoase (IHF și MU), PEG-ului 400 și ale amestecurilor binare dintre substanțe medicamentoase cu PEG 400 1:1 (m/m)**

În termograma DSC a amestecului binar constituit din IHF și PG, primul vârf endotermic indică procesul de deshidratare a PG, între 69,14°C și 134,12°C, cu un punct maxim la 91,04°C. Vârful corespunzător punctului de topire al IHF este evident între 248,46°C și 263,87°C, atingând un punct maxim la 250,37°C. Aceleași vârfuri pot fi identificate și în termogramele substanțelor pure (Figura 3.10 a, Tabelul A2.1).

În termograma DSC a amestecului binar format din MU și PG, primul vârf endotermic indică deshidratarea PG, văzut într-un interval între 57,39°C și 111,75°C, cu punctul maxim la 89,21°C. Al doilea vârf corespunde punctului de topire al MU. În comparație cu termograma individuală a MU, punctul lui de topire în amestec este mai puțin evident și apare mai devreme, între 308,87°C și 312,73°C, cu un punct maxim la 309,08°C (Figura 3.10 b, Tabelul A 2.1).

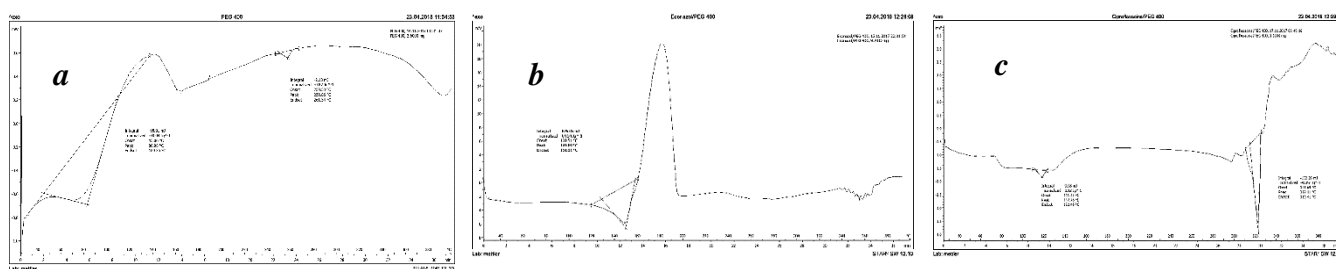


**Fig. 3.10. Termogramele DSC ale substanțelor medicamentoase (IHF și MU), PG și ale amestecurilor binare dintre substanțe medicamentoase cu PG 1:1 (m/m)**

În termograma DSC a amestecului binar format din CIP și PEG 400, primul vârf endotermic indică deshidratarea PEG-ului 400, manifestându-se între 60,15°C și 81,37°C, cu un punct maxim la 79,24°C. Vârful corespunzător punctului de topire al CIP se observă între 111,73°C și 122,48°C, având un punct maxim la 117,76°C. Al doilea pic pronunțat corespunde cu

descompunerea CIP ( $328,86^{\circ}\text{C}$ ). Aceleași picuri pot fi identificate și în termogramele substanțelor pure (Figura 3.11 *a*, Tabelul A2.1).

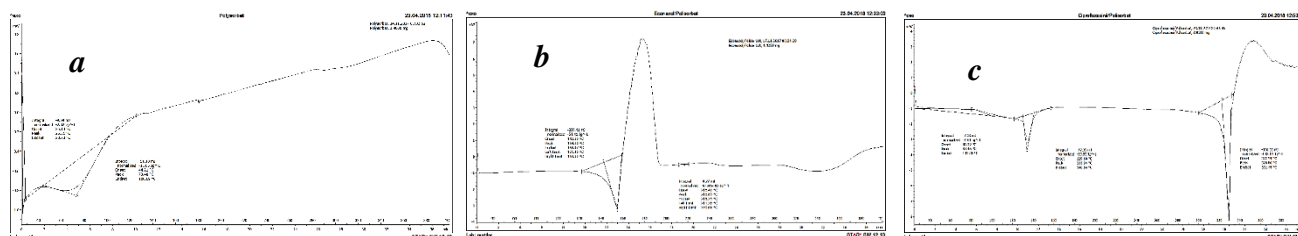
În termograma DSC a amestecului binar compus din EC și PEG 400, se evidențiază un singur vârf, caracteristic topirii EC într-un interval cuprins între  $128,51^{\circ}\text{C}$  și  $158,11^{\circ}\text{C}$ , atingând punctul maxim la  $149,09^{\circ}\text{C}$ . În comparație cu termograma individuală a EC, punctul de topire al acestuia este mai puțin evident și apare mai devreme (Figura 3.11 *b*, Tabelul A 2.1).



**Fig. 3.11. Termogramele DSC ale PEG-ului 400 (a) și ale amestecurilor binare 1:1 (m/m) dintre CIP+PEG 400 (b) și EC+PEG 400 (c)**

În termograma DSC a amestecului binar format din CIP și PS, primul vârf endotermic indică deshidratarea PS, manifestându-se între  $80,27^{\circ}\text{C}$  și  $112,06^{\circ}\text{C}$ , cu un punct maxim la  $97,45^{\circ}\text{C}$ . Vârful corespunzător punctului de topire al CIP se observă între  $129,66^{\circ}\text{C}$  și  $140,64^{\circ}\text{C}$ , având un punct maxim la  $135,04^{\circ}\text{C}$ . Descompunerea CIP corespunde picului de la  $328,86^{\circ}\text{C}$ . Vârful similar pot fi identificate și în termogramele substanțelor pure (Figura 3.12 *a*, Tabelul A 2.1).

În termograma DSC a amestecului binar compus din EC și PS, primul vârf endotermic indică deshidratarea PS, manifestându-se într-un interval cuprins între  $142,29^{\circ}\text{C}$  și  $158,97^{\circ}\text{C}$ , atingând punctul maxim la  $154,20^{\circ}\text{C}$ . Acest vârf este urmat de picul de topire al EC ( $216,81 - 218,25^{\circ}\text{C}$ ), cu maxim la  $216,81^{\circ}\text{C}$ . În comparație cu termograma individuală a EC, punctul de topire al acestuia este mai pronunțat și apare mai târziu (Figura 3.12 *b*, Tabelul A 2.1).



**Fig. 3.12. Termogramele DSC ale PSului (a) și ale amestecurilor binare 1:1 (m/m) dintre CIP+PS (b) și EC+PS (c)**

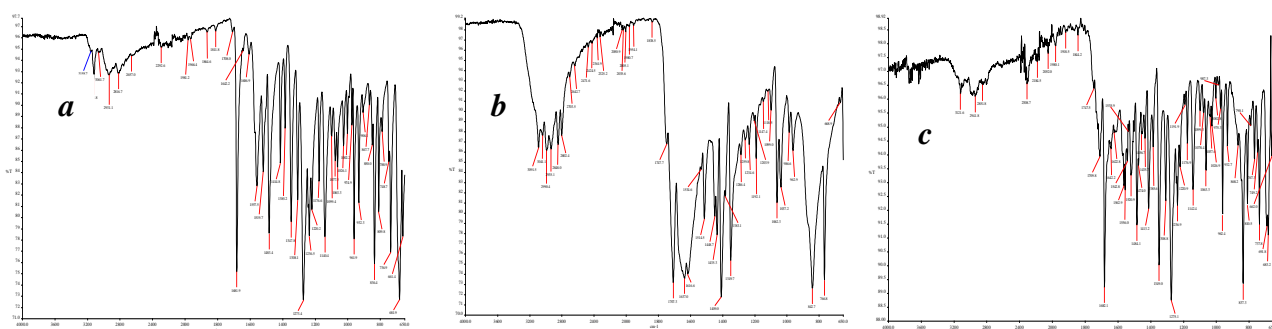
Analiza comportamentului termic ale substanțelor active, ale excipienților individuali și a compatibilității acestora a fost investigată din cauza importanței pe care aceste două aspecte le au

în procesul de elaborare a medicamentelor. Excipienții selectați în aceste studii sunt acei, care sunt prezenți în formulările cercetate în procesul de preformulare.

#### ***Aplicarea metodei Spectroscopice FT-IR.***

- ***Compatibilitatea fizico-chimică dintre substanțe medicamentoase.***

Spectrul FT-IR al amestecului binar format din (IHF ȘI MU) IHF și MU prezintă benzi de absorbție caracteristice IHF, identice cu cele din spectrul individual: la  $1347,8\text{ cm}^{-1}$  și 3 benzi în regiunea  $1485\text{-}1555\text{ cm}^{-1}$ , care sunt condiționate de grupa nitro a ciclului nitro-furanic și de vibrațiile de deformare ale grupei amide  $\text{NH-C=O}$  la  $1681,9\text{ cm}^{-1}$  și la  $3121,8\text{ cm}^{-1}$ , precum și acele picuri, care aparțin MU: în intervalul  $2802\text{-}3091\text{ cm}^{-1}$  vibrațiile de valență aparțin grupei metilice, iar în intervalul  $1616\text{-}1707\text{ cm}^{-1}$  sunt specific grupei  $\text{R-CO-NH-R}_1$  (Figura 3.13a, Tabelul A 3.1 și Tabelul A 3.2).



**Fig. 3.13. Spectrele FT-IR ale substanțelor medicamentoase individuale (IHF și MU) și ale amestecurilor lor binare 1:1 (m/m)**

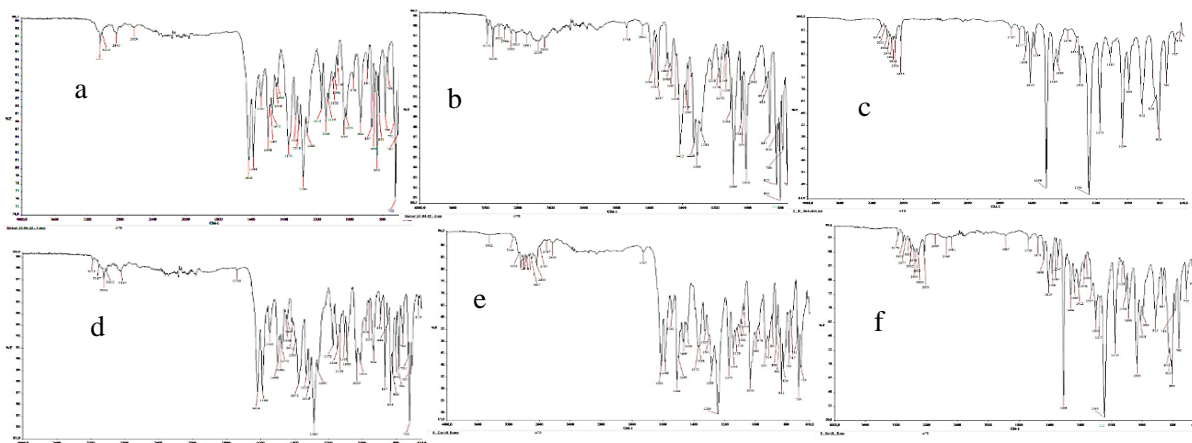
Spectrul IR al CIP (IUPAC: 1-ciclopropil-6fluoro-4-oxo-7-piperazin-1-il-chinolin-3-carboxilic acid), la fel, este în corespundere cu spectrul substanței standard, cu evidențierea picurilor caracteristice principalelor grupe funcționale (Figura 3.14a) [82].

Spectrul IR al EC (IUPAC 1-{2-[(4-clorofenil) metoxi]- 2- (2,4-diclorofenil) etil}- 1H-imidazol nitrat) este în corespundere cu spectrul substanței standard, cu evidențierea picurilor caracteristice principalelor grupe funcționale (Figura 3.14b) [82].

Spectrul IR al UVB prezintă benzi de absorbție caracteristice grupelor funcționale ale componentelor de bază (Figura 3.14 c).

Spectrul FT-IR al amestecurilor binare format din CIP+EC (Figura 3.14d), CIP+UVB (Figura 3.14e) și EC+UVB (Figura 3.14f) prezintă benzi de absorbție caracteristice substanțelor, care denotă, că acestea în amestec repetă maximele proprii; se relevă doar un singur număr de undă suprapus  $804\text{ cm}^{-1}$ , număr de undă care corespunde radicalul fenilic 1,3-bisubstituit din structura EC nitrat și inelul benzenic 1,2,4,5- tetrasubstituit din structura CIP (Figura 3.14d, Tabelul A3.1 și Tabelul A 3.2).





**Fig. 3.14. Spectrele FT-IR ale substanțelor medicamentoase individuale (CIP (a), EC (b) și UVB (c)) și ale amestecurilor lor binare 1:1 (m/m): CIP+EC (d), CIP+UVB (e), EC+UVB (f)**

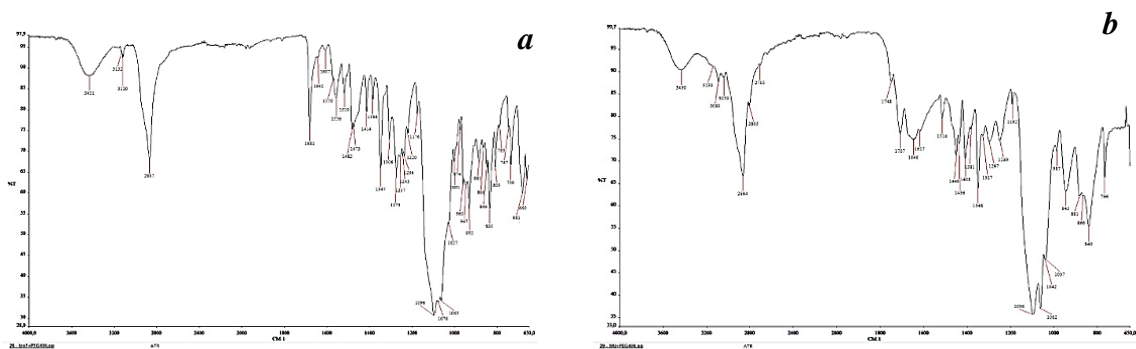
Studiul compatibilității ale substanțelor medicamentoase prin analize FTIR oferă informații ample despre identificarea interacțiunilor moleculare dintre acestea. (substanțele medicamentoase). Cercetările efectuate denotă lipsa interacțiunilor și compatibilitatea substanțelor active între ele.

- ***Compatibilitatea fizico-chimică dintre substanțe medicamentoase cu excipienți și dintre excipienți.***

Benzile de absorbție caracteristice IHF și PEG 400 au fost prezente și pe spectrul FT-IR 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  $\text{NH-C=O}$  la  $1681,9\text{ cm}^{-1}$  și la  $3121,8\text{ cm}^{-1}$ , precum și benzile PEG 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 (Figura 3.15a, Tabelele A 3.1 și A 3.3).

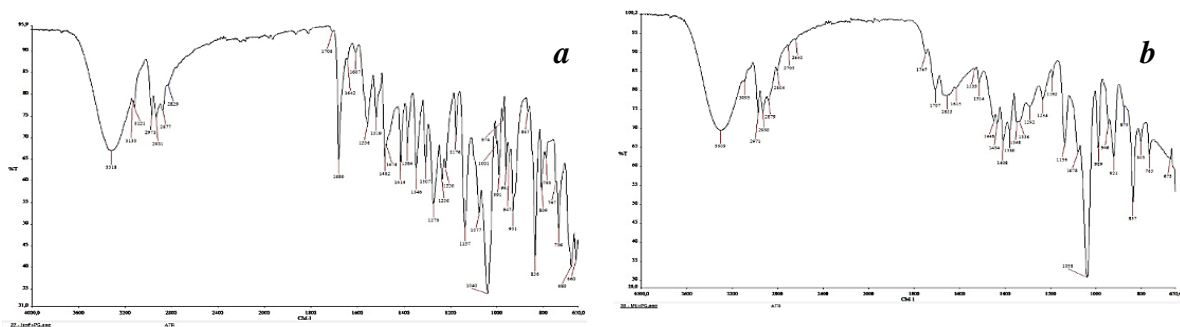
Spectrul FT-IR al amestecului binar format din MU și PEG 400 prezintă aceleași benzi de absorbție caracteristice MU: intervalul  $2802\text{-}3091\text{ cm}^{-1}$  datorită vibrațiilor grupei metilice și intervalul  $1616\text{-}1707\text{ cm}^{-1}$  specific grupei  $\text{R-CO-NH-R}_1$ , precum și 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 (Figura 3.15b, Tabelele A 3.1 și A 3.3).

Benzile de absorbție caracteristice IHF și PG au fost prezente și pe spectrul FT-IR 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  $\text{NH-C=O}$  la  $1681,9\text{ cm}^{-1}$  și la  $3121,8\text{ cm}^{-1}$ , precum și benzile PG-ului la  $2970\text{-}2877\text{ cm}^{-1}$  specifice C-H din  $\text{CH}_3$ , la  $3311\text{ cm}^{-1}$  specifice grupei hidroxilice,  $1094,8\text{ cm}^{-1}$  pentru C-O-C. A apărut un pic adăugător la  $1473$ , probabil, datorită formării semiacetalei (ca și la PEG) (Figura 3.16a, Tabelele A 3.1 și A 3.3).



**Fig. 3.15. Spectrele FT-IR ale amestecurilor binare dintre substanțe medicamentoase IHF cu PEG 400 (a); MU cu PEG 400 (b); 1:1 (m/m)**

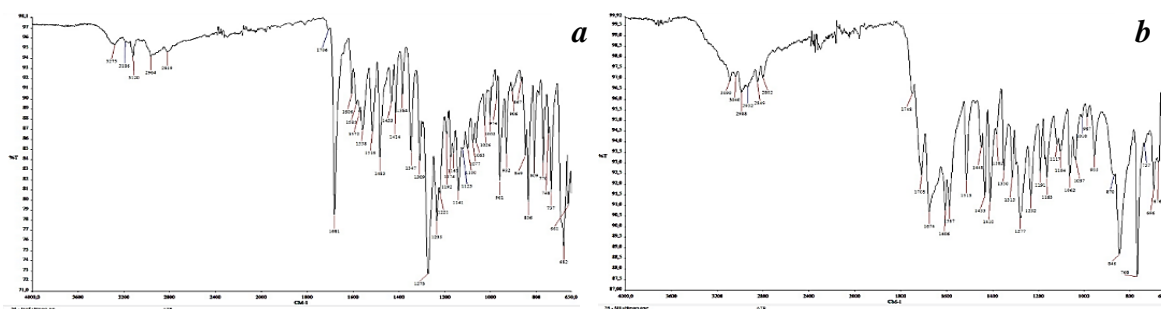
Spectrul FT-IR al amestecului binar format din MU și PG prezintă aceleași benzi de absorbție caracteristice MU: intervalul 2802-3091  $\text{cm}^{-1}$  datorită vibrațiilor grupei metilice și intervalul 1616-1707  $\text{cm}^{-1}$  specific grupei R-CO-NH-R<sub>1</sub>, precum și benzile PG la 2970-2877  $\text{cm}^{-1}$  specifice C-H din CH<sub>3</sub>, la 3311  $\text{cm}^{-1}$  specifice grupei hidroxilice, 1094,8  $\text{cm}^{-1}$  pentru C-O-C (Figura 3.16b, Tabelele A 3.1, A 3.2 și A 3.3).



**Fig. 3.16. Spectrele FT-IR ale amestecurilor binare dintre substanțe medicamentoase IHF cu PG (a); MU cu PG (b); 1:1 (m/m)**

Spectrul FT-IR al amestecului binar format din IHF și nipagină prezintă benzi de absorbție caracteristice substanțelor în amestec, unde sunt reflectate numere de undă caracteristice cu excepția de 3120  $\text{cm}^{-1}$  caracteristică pentru vibrațiile covalente simetrice C-H din structura IHF și 1677  $\text{cm}^{-1}$  caracteristică pentru carbonil (C=O) din structura chimică a nipaginei (Tabelul A3.3). (Figura 3.17a, Tabelele A 3.1 și A 3.3).

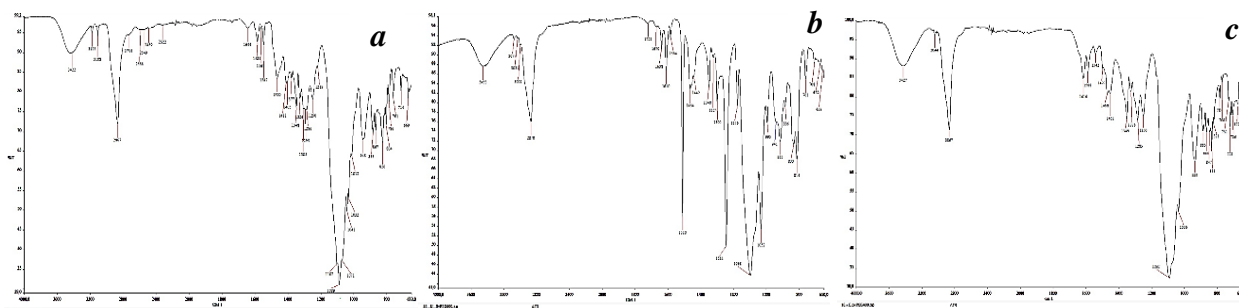
Spectrul FT-IR al amestecului binar format din MU și nipagină prezintă benzile de absorbție caracteristice substanțelor în amestec, unde sunt reflectate numere de undă caracteristice cu excepția de 1657  $\text{cm}^{-1}$  și 1638  $\text{cm}^{-1}$  specifice grupei R-CO-NH-R<sub>1</sub> din structura MU și 3281  $\text{cm}^{-1}$  caracteristică pentru hidroxil (OH) din structura chimică a nipaginei (Figura 3.17b, Tabelul A3.4).



**Fig. 3.17. Spectrele FT-IR ale amestecurilor binare dintre substanțele medicamentoase IHF cu Nipagină (a); MU cu Nipagină (b); 1:1 (m/m)**

Benzile de absorbție caracteristice CIP și PEG 400 au fost prezente și pe spectrul FT-IR al amestecului binar dintre cei doi compuși. Astfel, sunt prezente toate benzile de absorbție ale CIP, 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. Spectru prezintă benzi caracteristice ce denotă, că substanțele în amestec au suprapunerea la numai un număr de frecvență  $1092\text{ cm}^{-1}$  (Figura 3.18a, Tabelele A 3.1 și A 3.3).

Spectrul FT-IR al amestecului binar format din EC și PEG 400 prezintă aceleași benzi de absorbție caracteristice EC, precum și benzile PEG-ului, fără suprapuneri și picuri suplimentare (Figura 3.18b, Tabelele A 3.1 și A 3.3).



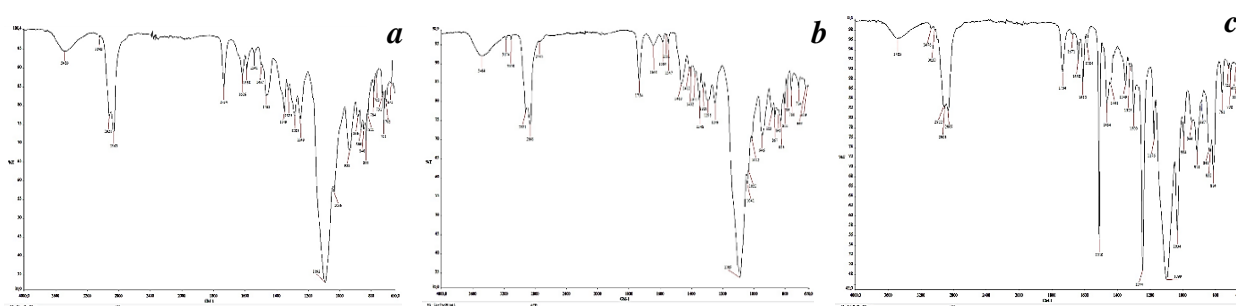
**Fig. 3.18. Spectrele FT-IR ale amestecurilor binare dintre substanțele medicamentoase CIP cu PEG 400 (a); EC cu PEG 400 (b); 1:1 (m/m); UVB cu PEG 400 (c)**

Spectrul FT-IR al amestecului binar format din UVB și PEG 400 prezintă aceleași benzi de absorbție caracteristice UVB: benzile la  $2934, 2906\text{ cm}^{-1}$  apar datorită vibrațiilor covalente asimetrice grupei metilice legate de inelului benzenic se schimbă cu  $2970\text{ cm}^{-1}$  datorită vibrațiilor covalente simetrice grupei metilice legate de inelului benzenic, intervalul  $3100-3000\text{ cm}^{-1}$  ( $3002, 3031, 3076$ ) determină apariția vibrațiilor caracteristice grupei alchene ( $=\text{CH}$ ), la intervalul  $1660-1480\text{ cm}^{-1}$  ( $1509$ ) apar vibrațiilor covalente asimetrice caracteristice grupei esterice ( $-\text{C}=\text{O}(\text{OR})$ ), intervalul  $1150-1050\text{ cm}^{-1}$  ( $1034$ ) determină vibrații covalente asimetrice grupei eterice ( $-\text{COC}$ ), intervalul  $1350-1260\text{ cm}^{-1}$  ( $1300$ ) și intervalul  $1170-1100\text{ cm}^{-1}$  ( $1175$ ) înregistrează vibrațiile

caracteristice grupei primare, secundare hidroxilice alifatic C-OH și celor terțiare, respectiv, la  $1244\text{ cm}^{-1}$  apar vibrațiile datorate O-H fenolic, precum și benzile PEG-ului (Figura 3.18c, Tabelele A 3.1 și A 3.3).

Benzile de absorbție caracteristice CIP și PS au fost prezente și pe spectrul FT-IR al amestecului binar dintre cei doi compuși. Astfel, sunt prezente benzile de absorbție ale CIP, precum și benzile intense ale PS la  $1094\text{ cm}^{-1}$  și de intensitate medie la  $460$  și  $800\text{ cm}^{-1}$  sunt specifice grupei Si-O, grupa  $\text{CH}_3$  alifatică determină vibrațiile covalente de intensitate medie la  $2921\text{ cm}^{-1}$  și la  $2866\text{ cm}^{-1}$  apare banda caracteristică vibrațiilor covalente simetrice datorită grupei  $\text{CH}_2$ . Spectru prezintă benzi caracteristice CIP și PS ce denotă, că substanțele în amestec au suprapunerea la numai un număr de frecvență  $1092\text{ cm}^{-1}$  (Figura 3.19a, Tabelele A 3.1 și A 3.3).

Spectrul FT-IR al amestecului binar format din EC și PS prezintă aceleași benzi de absorbție caracteristice EC și PS, ce denotă, că substanțele în amestec au suprapunerea la  $1089$  și  $883\text{ cm}^{-1}$  ceea ce a condiționat intensificarea benzilor și dispariția la  $893\text{ cm}^{-1}$  (Figura 3.19b, Tabelele A 3.1 și A 3.3).



**Fig. 3.19. Spectrele FT-IR ale amestecurilor binare dintre substanțele medicamentoase CIP cu PS (a); EC cu PS (b); 1:1 (m/m); UVB cu PS (c)**

Spectrul FT-IR al amestecului binar format din UVB și PS prezintă aceleași benzi de absorbție caracteristice UVB, precum și benzile intense PS, ce denotă, că substanțele în amestec au suprapunerea la numai un interval de frecvență  $2900\text{-}2980\text{ cm}^{-1}$ , care e caracteristic pentru  $\text{CH}_3$ , ceea ce a condiționat intensificarea benzilor și dispariția la  $2954\text{ cm}^{-1}$  (Figura 3.19c, Tabelele A 3.1 și A 3.3).

Cu ajutorul metodei FTIR au fost studiate posibilele semne de incompatibilități chimice sau fizice între substanțele medicamentoase și excipienți. Acest aspect este extrem de important pentru a evita reacțiile adverse sau schimbările în proprietățile medicamentului care pot apărea în timpul proceselor de fabricare, depozitare sau utilizare. Totodată, aceste studii au furnizat informații importante pentru optimizarea formulării picăturilor auriculare. S-a determinat că nu

există incompatibilități între substanțele active, și ale acestora cu excipienții. Selectarea acestor excipienți compatibili cu principiile active va permite menținerea caracteristicilor fizice și chimice ale medicamentului, cum ar fi de exemplu, solubilitatea și biodisponibilitatea.

### 3.2.2. Elaborarea picăturilor auriculare cu conținut de IHF și MU pentru tratamentul otitelor supurative

Au fost formulate 6 compoziții de picături auriculare cu conținut de principii active IHF și MU. S-au utilizat în calitate de excipienți PEG 400 și PG (PG), care oferă o capacitate mai bună de solubilizare a substanțelor active, dar oferă și o viscozitate optimală formei farmaceutice. Menținerea nivelului pH-ului s-a realizat cu ajutorul soluțiilor tampon, iar stabilitatea microbiologică – prin adăugarea nipaginei (nu a fost necesar de adăugat și nipasol, deoarece formulările conțin în calitate de principiu activ izohidrafuralul, care este un agent antibacterian). Anume coraportul dintre acești excipienți a servit ca criteriu de evaluare în procesul de optimizare a formulărilor elaborate (Tabelul 3.1).

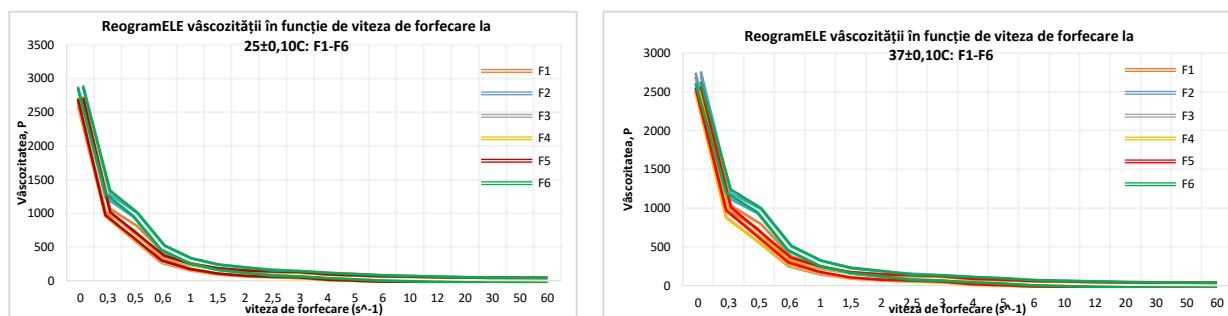
**Tabelul 3.1. Formulările picăturilor auriculare combinate cu conținut de IHF și MU**

Componente	Compoziția formulărilor, g					
	F1	F2	F3	F4	F5	F6
IHF	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
MU	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
PEG 400	60,0	60,0	40	50	60,0	70
PG	20,0	20,0	25	20	15	20
Nipagină	0,04		0,03	0,04		0,04
Soluție tampon acetat	q.s ad pH 4,5 – 5,0 (6,5)		q.s ad pH 4,5 – 5,0 (6,5)			
Apă purificată	ad 100	ad 100	ad 100	ad 100	ad 100	ad 100
Clorură de benzalconiu		0,01		0,005	0,03	
Edetat de sodiu dihidrat		0,05	0,03		0,05	0,025
Soluție tampon fosfat-citrat		q.s ad pH 4,5 – 5,0 (6,5)		q.s ad pH 4,5 – 5,0 (6,5)		

Pentru cercetarea vâscozității formulărilor s-a utilizat viscozimetrul rotativ Fungilab Smart R. Viscozitatea picăturilor auriculare s-a determinat la 10 viteze de rotație (în ordinea crescătoare), la temperaturile 25°C și 37°C.

*Tehnică de lucru:* în rezervor se introduce probă de analizat. Se selectează din setul de tije (spindle) tija necesară - R<sub>7</sub> și se fixează în aparat prin răsucire. Tija cilindrică se introduce în lichid până la nivelul stabilit, pentru a evita atingerea pereților și fundului rezervorului. Pe ecran se instalează viteza de rotație dorită, se apasă tastă *start* și se citește valoarea viscozității dinamice în P la temperatura 25 °C.

Au fost obținute reogramele vâscozității în raport cu rata de forfecare la ambele temperaturi, care demonstrează natura ne-Newtoniană și pseudo plastică a tuturor formulărilor. (Figura 3.20, Tabelul A 4.1 și Tabelul A 4.2).



**Fig. 3.20. Reogramele vâscozității în funcție de viteza de forfecare la 25±0,10°C și 37±0,10°C pentru formulările 1-6 de picături cu IHF și MU**

După efectuarea evaluării, s-a constatat că toate cele șase formulări îndeplinesc cerințele pentru o vâscozitate optimă, situată între 10 și 30 P·10<sup>2</sup>, la viteza minimă de turații (SD<1; IQR<1,5, Tabelul A4.3). S-a identificat că valorile vâscozității și ale tensiunii de forfecare la cea mai mică viteză de forfecare cresc în mod proporțional cu creșterea concentrației de PG (Tabelul 3.2).

**Tabelul 3.2 Conținutul de PEG și PG în componența formulărilor de picături cu IHF și MU**

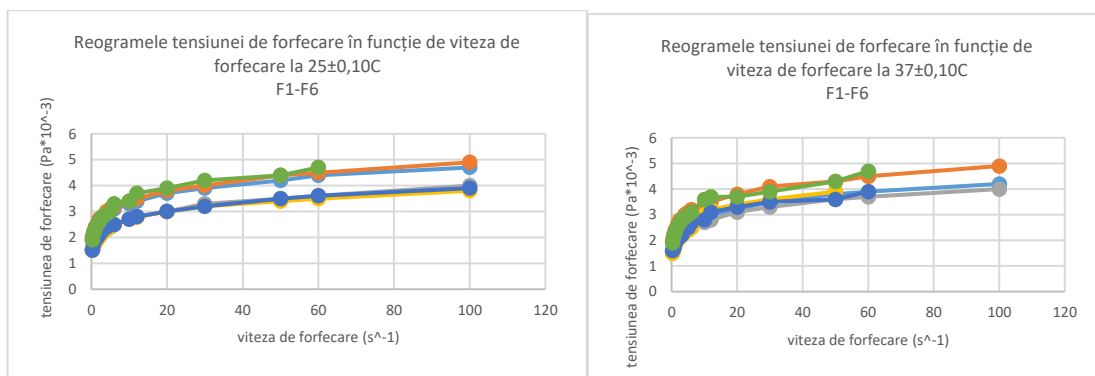
<i>Formulara picăturilor auriculare</i>	<i>Conținutul de PEG-400, %</i>	<i>Conținutul de PG, %</i>
F1	60	20
F2	60	20
F3	40	25
F4	50	20
F5	60	15
F6	70	20

Confirmarea caracterului tixotrop a avut loc prin examinarea variației tensiunii de forfecare în funcție de viteza de forfecare în timp, evidențiindu-se o creștere a valorilor tensiunii de forfecare în concordanță cu intensificarea vitezei de forfecare. Valorile tensiunii de forfecare sunt prezentate în tabelul A 4.2 și figura 3.21.

Valorile pH-ului picăturilor auriculare, determinate prin metoda potențiometrică, pentru cele 6 formulări sunt prezentate în tabelul 3.3

**Tabelul 3.3 Valorile pH-ului pentru 6 formulări de picături auriculare cu IHF și MU**

<b>Formulare</b>	Formula I	Formula II	Formula III	Formula IV	Formula V	Formula VI
<b>pH (media)</b>	5,8	5,46	5,05	5,10	5,18	5,21
<b>SD</b>	0,15811	0,09028	0,10000	0,07906	0,04472	0,06285
<b>Me</b>	5,8000	5,4300	5,0000	5,1000	5,1500	5,1800
<b>IQR</b>	0,30	0,18	0,18	0,15	0,08	0,12



**Fig. 3.21. Reogramele tensiunii de forfecare în funcție de viteza de forfecare la 5±0,1°C și 37±0,1°C pentru formulările 1-6 de picături cu IHF și MU**

Astfel, rezultatele obținute denotă că, pH-ul formulărilor este slab acid spre neutru și corespunde cerințelor farmaceutice (de la 5,0 până la 7,0). Valoarea cea mai optimă prezintă *formulara I* cu pH-ul cel mai apropiat de neutru.

***Cedarea in vitro a IHF și MU din picături auriculare.***

A fost evaluată disponibilitatea *in vitro* a picăturilor auriculare, prin evaluarea procesului de difuzie a substanțelor active, folosind metoda celulelor de difuziune Franz modificată, formată din compartimentul donor (unde se plasează proba pe o membrană semipermeabilă) și compartimentul de recepție (de unde se prelevează probe pentru analiza ulterioară). Experimentele s-au efectuat la aparatul ELECTROLAB DISSOLUTION TESTER (Chem Lab Belgia). Prin experimente repetate au fost setate condițiile experimentale: volumul forme farmaceutice plasată în celulă -5 ml; temperatura mediului – 37 °C, viteza de rotație – 20 rotații/min, natura mediului compartimentului receptor – metanol, volumul mediului – 250 ml, volumul probei prelevate - 5 ml, prelevarea probei s-a efectuat la diferite intervale de timp, iar mediul analizat a fost suplinit cu câte 5 ml solvent după fiecare prelevare, pentru a păstra volumul mediului constant de 250ml. Pentru determinări s-a utilizat coșul rotativ, acoperit din exterior cu membrană și fixat bine, în interiorul coșului se plasează forma farmaceutică analizată (cantitate exactă).

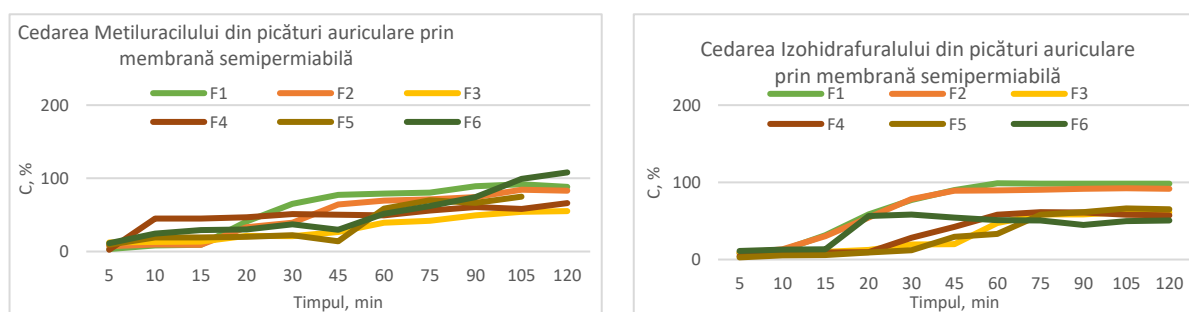
Preventiv s-a efectuat un studiu bibliografic avansat pentru argumentarea selectării tipului de membrană la evaluarea cedării principiilor active. Este cunoscut faptul, că pielea animalelor este deseori recomandată pentru evaluări preliminare ale formulărilor noi în calitate de membrană pentru cedare în studiile de biodisponibilitate. Modelele animale folosite pentru a înlocui pielea umană sunt porcii domestici, șobolanii, șoarecii, cobaii și șerpii. Astfel, 26% din sursele bibliografice evaluate propun folosirea pielii de porci hibridi nou-născuți. În majoritatea articolelor (68%) se propune utilizarea pielii de pe partea internă a urechii de porc, deoarece se atestă rezultate comparabile cu cele obținute pe piele umană datorită unei grosimi similare, unei anatomii

vasculare și aranjament de fibre de colagen în dermul urechii, precum și datorită conținutului de glicosfingolipide și ceramide identic [52].

Totodată, membrane polimerice sunt utilizate cu succes pentru testele de cedare *in vitro*. Conform Ghidului FDA pentru industrie, sunt recomandate membranele polimerice cu o dimensiune a porilor de 0,45  $\mu\text{m}$ .

Astfel, pentru experimente au fost selectate: membrana semipermeabilă (artificială) cu mărimea porilor 0,45  $\mu\text{m}$ , diametrul filtrului 47 mm (Merck); membrane naturale – intestin subțire de porc și ureche de porc (metodele de preparare a membranelor naturale sunt descrise în capitolul Materiale și metode).

Dozarea IHF și MU s-a efectuat prin metoda spectrofotometrică, descrisă în capitolul 4.



**Fig. 3.22. Cedarea MU și IHF din picături auriculare prin membrană semipermeabilă**

După cum se observă din figura 3.22 și tabelul A5.1, în primele 10 min IHF traversează membrana semipermeabilă doar în proporție de circa 13% din toate formulările cercetate. O concentrație acceptabilă de 75% este asigurată peste 30 de min. pentru F1 și F2, pe când celelalte formulări nu cedează suficient substanța activă nici după 120 min. MU este cedat mai greu, datorită grupărilor sale hidrofile, și doar din F1, după 45 min se obține o concentrație de peste 77% (SD<0,1; IQR=0,01; Tabelele A5.2 și A5.3).

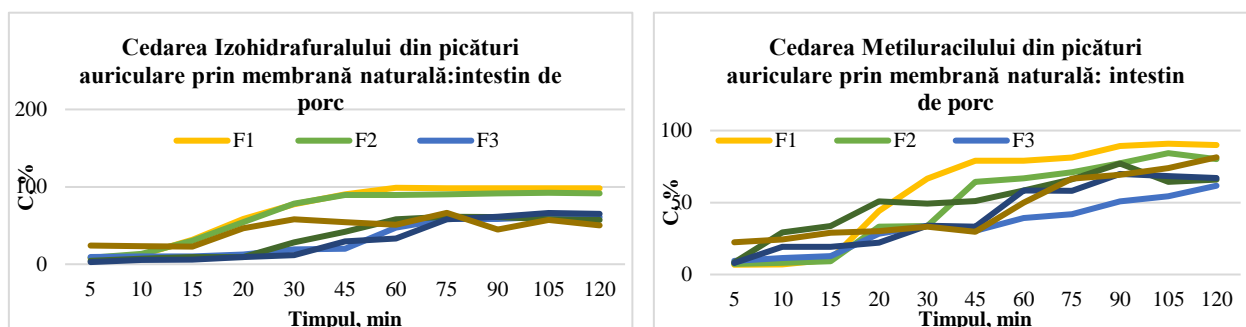
Intestinul de porc, după structura sa biochimică – strat dublu de lipide, natură organică, se aseamănă cu țesuturile membranare ale urechii și permite o evaluare simplă a biodisponibilității picăturilor auriculare prin ușurința de manevrare.

Rezultatele obținute la cedarea principiilor active din picăturile auriculare prin membrana biologică – intestin de porc sunt prezentate în tabelul A5.4 și figura 3.23.

După efectuarea studiului s-a observat că membrana biologică – intestinul de porc este o membrană mai permisivă, fapt datorat naturii sale și a funcției biologice de a permite trecerea substanțelor de dimensiuni mari – aminoacizi, acizi grași, necesari pentru nutriția animalului. Aceasta a permis trecerea mult mai facilitată a substanțelor medicamentoase prin membrană. Rezultatele sunt foarte apropiate cu cele obținute la cedarea prin membrană semipermeabilă. La 30 de minute



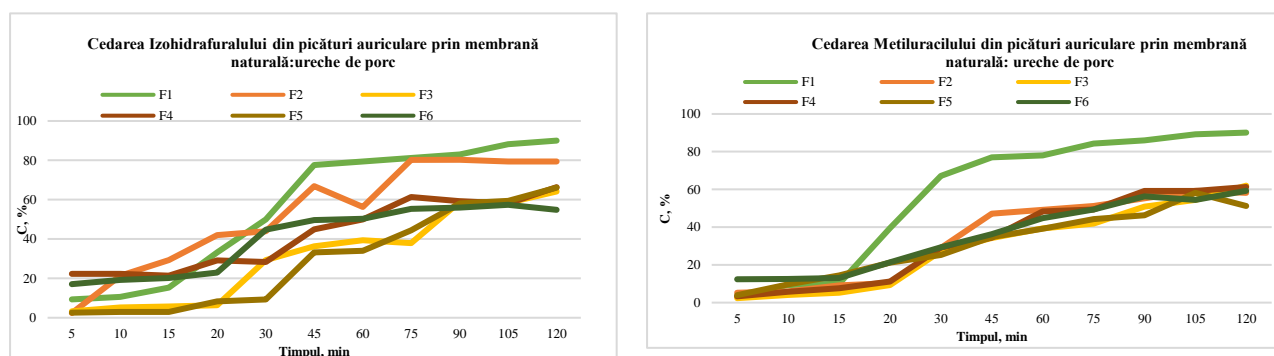
formulările F1, F2 și F6 au eliberat peste 55% de IHF, la 45 min doar în forma F1 concentrația a depășit 75% pentru IHF. MU a fost eliberat mai lent, rezultate mai bune au fost obținute pentru formele F1 (79%), F2 (69%) și F4 (50%) ( $SD < 0,1$ ;  $IQR = 0,01$ ; Tabelele A5.5 și A5.6).



**Fig. 3.23. Cedarea MU și IHF din picături auriculare prin membrană naturală: intestin de porc**

Rezultatele obținute la cedarea principiilor active din picăturile auriculare prin membrana biologică – ureche de porc sunt prezentate în tabelul A5.7. și figura 3.24.

La utilizarea membranei confecționate prin prelucrarea urechii de porc au fost obținute rezultate comparabile cu cedarea prin membrană din intestin, în special pentru formele F1 (77% ) la 45 min pentru IHF și F2, pentru ambele substanțe. Celelalte formulări au avut o cedare nesatisfăcătoare ( $SD < 0,1$ ;  $IQR = 0,01$ ; Tabelele A5.8 și A5.9).



**Fig. 3.24. Cedarea MU și IHF din picături auriculare prin membrană naturală: ureche de porc**

Fiindcă rezultatele obținute în urma cedării prin ambele membrane naturale nu au manifestat diferențe semnificative față de cele obținute la difuzia prin membrana semipermeabilă, valorile concentrațiilor la aceleași unități de timp corelează între ele, parametrii de difuzie, precum fluxul și coeficientul de difuzie au fost calculați doar pentru difuzia prin membrana artificială.

Viteza de permeație a substanței medicamentoase în stare staționară, sau fluxul ( $J$ ) este cantitatea de substanță (permeantul) care traversează membrana într-o unitate de timp. Este de

obicei calculat în unități de masă/zonă/timp. Dacă permeantul a fost aplicat într-o doză finită, atunci această valoare poate fi calculată cu ajutorul formulei:  $J = Q / (A \cdot t)$ , unde  $Q$  este cantitatea de compus care traversează membrana în timpul  $t$ , iar  $A$  este aria membranei expuse în  $\text{cm}^2$ . Unitatea de măsură a fluxului este cantitatea (g, mg sau  $\mu\text{g}$ )/ $\text{cm}^2/\text{oră}$ ) [335].

Orice compus aplicat fie pe țesut, fie pe o membrana artificială va avea un timp de latență (întârziere), timp necesar ca să pătrundă prin membrană și să difuzeze în fluidul receptor, ca mai apoi să ajungă în cele din urmă la o stare constantă de difuzie. Timpul de latență este perioada în care rata de permeație prin membrană este în creștere. Atunci când există o mișcare consistentă, neschimbătoare a permeantului prin membrană, este atinsă starea de echilibru. Timpul necesar pentru a atinge starea de echilibru depinde de mai mulți factori, precum permeabilitatea țesutului sau a membranei, proprietățile compusului studiat, ș.a.

Timpul de latență ( $T_{\text{lat}}$ , ore) a fost calculat din intercepția la axa  $x$  a porțiunii liniare a curbelor cantității cumulative de substanțe medicamentoase care au permeat în funcție de timp în condiții de stare staționară. Difuzivitatea este o proprietate a permeantului și este o măsură a ușurinței de pătrundere printr-o membrană specifică exprimată în unități de suprafață/timp. Coeficientul de difuzie ( $D$ ) descrie rata de penetrare permeantă pe unitatea de concentrație exprimată în distanță/timp. Coeficientul de difuzie poate fi calculat, dacă se cunoaște timpul de latență și parametrii membrane (în special grosimea acesteia), folosind expresia matematică:  $D = h^2 / T_{\text{lat}} \cdot 6$ , unde  $h$  este grosimea membrane,  $\mu\text{m}$ . [150].

Curbele cantităților cumulative de IHF și MU care au permeat pe unitatea de suprafață a membranei în funcție de timp (Figurile 3.20, 3.21, 3.22) au prezentat o porțiune liniară înainte de atingerea stării staționare. Se poate observa că ambele substanțe au avut un transfer destul de neomogen. O difuzie bună a manifestat formularea F1, pentru care valorile fluxului în stare staționară și ale vitezei de eliberare a principiilor active au fost cele mai mari (Tabelul 3.4).

**Tabelul 3.4. Parametrii specifici permeației și eliberării IHF și MU din picăturile auriculare prin membrană sintetică la 45 min**

IHF Picături F1-F6					MU Picături F1-F6			
	Q, $\mu\text{g}$	J, $\mu\text{g} / \text{cm}^2 \cdot \text{ora}$	$D \cdot 10^{-3}$ , $\text{cm}^2 / \text{oră}$	Tlat, ore	Q, $\mu\text{g}$	J, $\mu\text{g} / \text{cm}^2 \cdot \text{ora}$	$D \cdot 10^{-3}$ , $\text{cm}^2 / \text{oră}$	Tlat, ore
F1	45.0600	16.23784	2.57998	0.64600	1543.8	556.32432	1.18751	1.4035
F2	44.65000	16.09009	0.27700	6.01690	1285.8	463.35135	0.36075	4.62
F3	9.98500	3.59820	0.17506	9.52050	534.2	192.50450	0.18886	8.8249
F4	21.05500	7.58739	0.14524	11.47500	1007.6	363.09910	0.21898	7.6109
F5	14.64500	5.27748	0.11347	14.68800	275.8	99.38739	5.61356	0.2969
F6	27.15500	9.78559	0.13401	12.43700	594.2	214.12613	0.68545	2.4315

În urma evaluării parametrilor determinați (vâscozitate, pH, cedarea principiilor activi) s-a constatat, că formularea F1 a manifestat cele mai optimale caracteristici. Rezultatele obținute au fost folosite în studiile de optimizare a formulei cu aplicarea Software Design Expert.

### ***3.2.3. Elaborarea picăturilor auriculare cu conținut de EC, CIP și UVB***

Este cunoscut faptul, că uleiurile esențiale (volatile), pe lângă faptul că posedă o gamă largă de proprietăți curative, au și proprietatea de a mări gradul de penetrare a principiilor active la aplicare topică [9].

Dimensiunea moleculară mică a componentelor uleiului permite o permeanță mult mai rapidă decât a medicamentelor de sinteză. Totodată, uleiul volatil este solubil în lipide, și poate pătrunde rapid în membranele celulare, grație moleculelor de oxigen.

Pentru prepararea picăturilor auriculare sunt preferați solvenții hidrofilii. În acest context, uleiurile esențiale sunt adesea insolubile în apă și pot să nu se dizolve eficient în bazele hidrofile. Pentru a facilita dispersarea și omogenizarea uleiurilor esențiale în sistemul apos este necesar un emulgator. A fost selectat PS, care posedă o bună capacitate de emulsionare a uleiului volatil. Capacitatea conservantă a este asigurată de nipagină, iar menținerea pH-ului în limitele acceptabile s-a realizat cu ajutorul soluțiilor tampon.

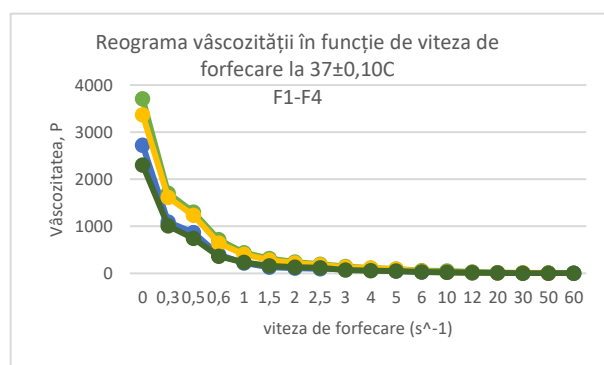
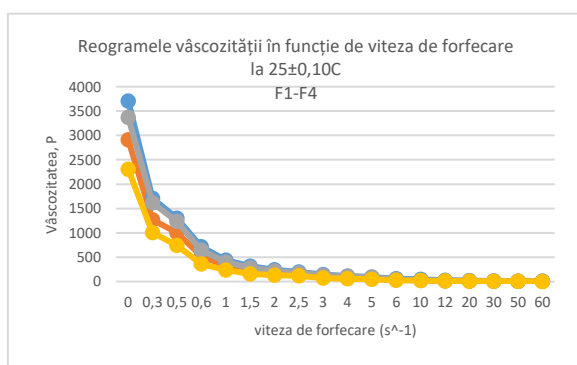
Au fost formulate 6 compoziții de picături auriculare cu conținut de principii active CIP, EC și UVB. S-au utilizat în calitate de excipienți PEG 400 și PS, care oferă o capacitate mai bună de solubilizare a substanțelor active, dar oferă și o vâscozitate optimală formei farmaceutice. Anume coraportul dintre acești excipienți a servit ca criteriu de evaluare în procesul de optimizare a formulărilor (Tabelul 3.5).

Toate compozițiile au fost evaluate după proprietăți organoleptice. Formularea F4 a fost cea cu caracteristicile mai favorabile. Formulările F5 și F6 au fost înlăturate din cercetările ulterioare, deoarece s-a constatat incapacitatea CMC (carboximetilcelulozei) de a solubiliza principiile active și încorporează uleiul volatil de busuioc.

Pentru evaluarea proprietăților reologice s-a determinat vâscozitatea picăturilor auriculare la 10 viteze de rotație (în ordinea crescătoare), la temperaturile 25<sup>0</sup>C și 37<sup>0</sup>C, conform tehnicii de lucru prezentate anterior. Au fost obținute reogramele vâscozității în raport cu rata de forfecare la ambele temperaturi, care demonstrează natura ne-Newtoniană și pseudoplastică a tuturor formulărilor: la mărirea tensiunii de forfecare vâscozitatea scade (Figura 3.25, Tabelul A 4.1 și Tabelul A 4.2).

**Tabelul 3.5. Formulările picăturilor auriculare combinat cu conținut de CIP, EC și UVB**

Componente	Compoziția formulărilor, g					
	F1	F2	F3	F4	F5	F6
CIP	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
EC	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
UVB	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
PEG 400	10,0	14,0	16,0	<b>10,0</b>	6,0	10,0
PS	-	-	4,0	<b>4,0</b>	-	-
Nipagină	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04
Sol. Tampon citrat cu pH=7.8	q.s. ad pH 5,0-7,5	-	q.s. ad pH 5,0-7,5	-	-	-
Sol. Tampon fosfat cu pH=6,0	-	-	-	<b>q.s. ad pH 5,0-7,5</b>	-	-
Hidroxid de sodiu 0,1 mol/l	-	q.s. ad pH 5,0-7,5	-	-	-	-
Clorură de sodiu 0,9%	-	-	-	-	-	10,0 ml
CMC	-	-	-	-	2,5	2,5
Apă purificată	ad 100,0 ml	ad 100,0 ml	ad 100,0 ml	ad 100,0 ml	ad 100,0 ml	ad 100,0 ml



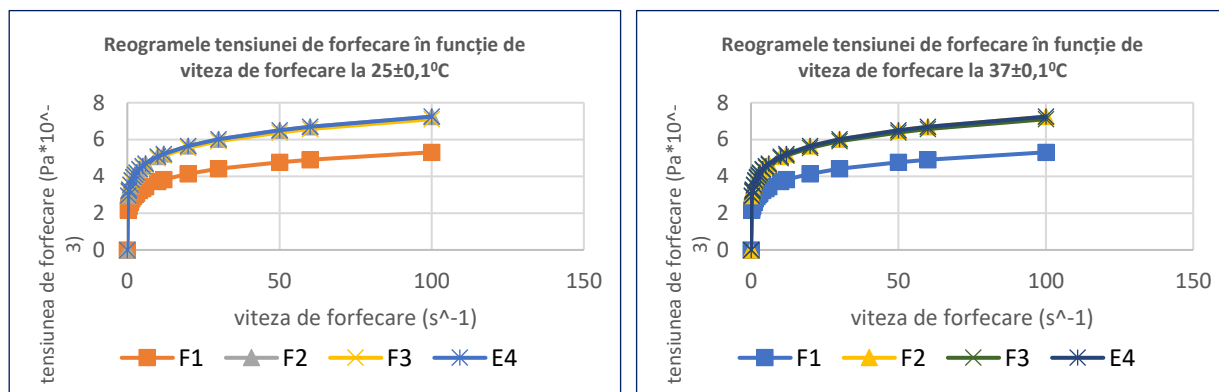
**Fig. 3.25. Reogramele vâscozității în funcție de viteza de forfecare la temperatura de  $25\pm 0,1^{\circ}\text{C}$  și  $37\pm 0,1^{\circ}\text{C}$  pentru formulările cercetate de picături cu CIP, EC și UVB**

Nu la toate formulările cercetate vâscozitatea s-a încadrat în limita valorilor admisibile între 10 și  $30 \text{ P} \cdot 10^2$ , la viteza minimă de turații ( $\text{SD} < 1$ ;  $\text{IQR} < 6$ ; Tabelul A4.6). Pentru formulările F2 și F3 aceste limite sunt depășite, fiind în corelare cu creșterea concentrației de PS (Tabelul 3.6).

**Tabelul 3.6. Conținutul de PEG și PS în componența formulărilor de picături cu CIP, EC și UVB**

Formularea picăturilor auriculare	Conținutul de PEG-400	Conținutul de PS
F1	10 %	-
F2	14 %	-
F3	16 %	4,0 %
F4	10 %	4,0 %

Evaluarea variației tensiunii de forfecare în funcție de viteza de forfecare în timp a confirmat caracterul tixotrop al formulărilor, evidențiindu-se o creștere a valorilor tensiunii de forfecare în concordanță cu intensificarea vitezei de forfecare. Valorile tensiunii de forfecare la ambele temperaturi sunt prezentate în tabelul A4.2 și figura 3.26.



**Fig. 3.26. Reogramele tensiunii de forfecare în funcție de viteza de forfecare la 25±0,1°C și 37±0,1°C pentru formulările 1-4 de picături cu CIP, EC și UVB**

S-a observat, că la toate formulările cercetate, vâscozitatea scade odată cu creșterea tensiunii de forfecare și respectiv a vitezei de deformare, ceea ce este caracteristic sistemelor pseudo plastice non-newtoniene.

Importanța menținerii unui pH neutru, cu valori mai aproape spre cel acid în canalul auditiv extern este foarte importantă pentru picăturile auriculare antibacteriene, care joacă un rol de protecție împotriva infecției. S-a evaluat pH-ul picăturilor auriculare, determinate prin metoda potențiometrică, pentru cele 6 formulări, acestea sunt prezentate în tabelul 3.7.

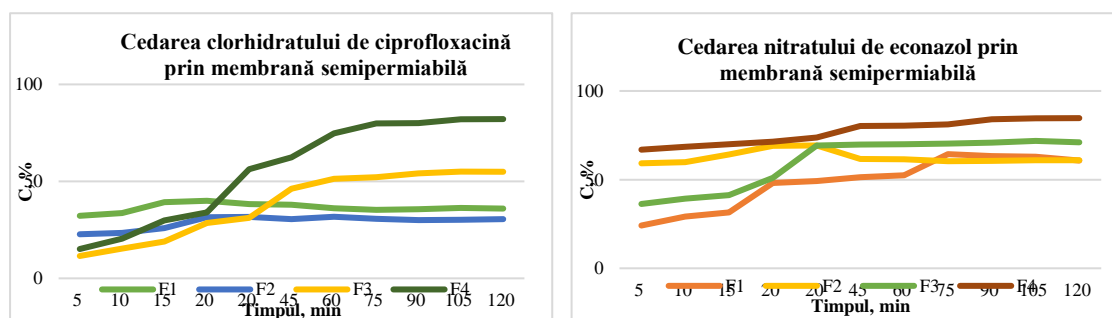
Deși rezultatele obținute denotă că pH-ul tuturor formulărilor se încadrează în limitele farmaceutice (de la 5,0 până la 7,0), valoarea pH-ului de 5,3 la formularea F4, stabilă la determinări repetate în timp, denotă o capacitate tampon mai bună a soluției tampon fosfat (pH=6,0), comparativ cu soluția tampon citrat (pH=7,8) și hidroxidul de sodiu 0,1 mol/l.

**Tabelul 3.7. Rezultatele determinării pH-ului pentru picăturile cu CIP, EC și UVB**

Formulare	Formula I	Formula II	Formula III	Formula IV
pH (media)	5,9	6,37	6,02	5,3
SD	0,15811	0,05431	0,03808	0,12247
Me	5,9000	6,3500	6,0000	5,3000
IQR	0,30	0,10	0,07	0,20

Disponibilitatea *in vitro* a picăturilor auriculare a fost evaluată analogic după aceeași metodologie, prin determinarea procesului de difuzie a substanțelor active, folosind metoda celulelor de difuziune Franz modificată.

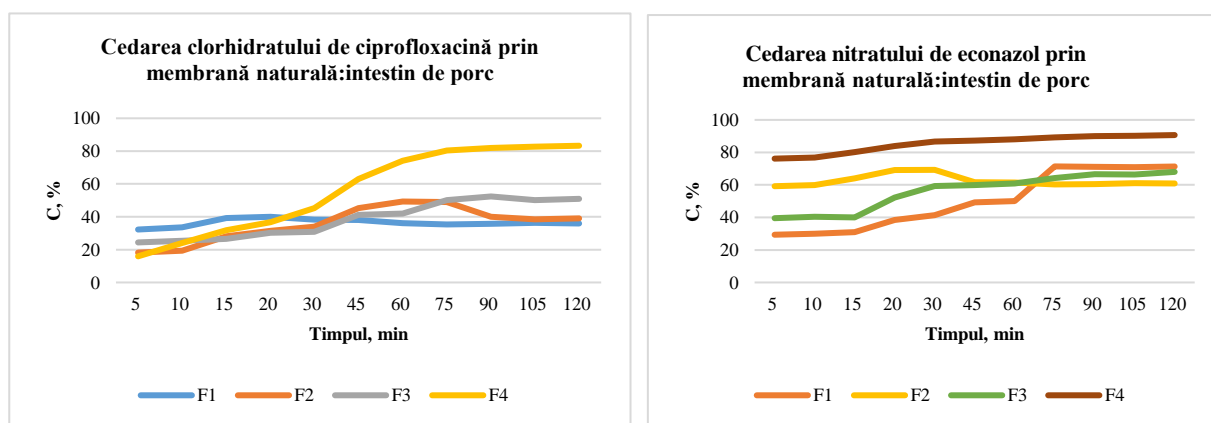
Pentru experimente au fost selectate: membrana semipermeabilă (artificială) cu mărimea porilor 0,45  $\mu\text{m}$ , diametrul filtrului 47 mm (Merck); membrane naturale – intestin subțire de porc și ureche de porc.



**Fig. 3.27. Cedarea CIP și EC din picături auriculare prin membrană semipermeabilă**

După cum se observă din figura 3.27 și tabelul A 5.10., debutul cedării este diferit pentru ambele substanțe, CIP pornește de la 15-20% în primele 5-10 min, pe când EC este eliberat până la 68%. Cedarea mai lentă a CIP este cauzată de particularitățile dimensiunii moleculare. Un comportament de cedare a principiilor activi mai avantajos și coerent se observă la formularea F4. Deși mai lent pentru CIP, după 75 min concentrația în compartimentul acceptor practic se egalează pentru ambele substanțe. Celelalte formulări prezintă dificultăți de difuzie pentru CIP. EC este cedat practic complet din toate formulările ( $SD < 0,02$ ;  $IQR < 0,03$ ; Tabelele A5.11 și A5.12).

Rezultatele obținute la cedarea principiilor active din picăturile auriculare prin membrana biologică – intestin de porc sunt prezentate în tabelul A5.13. și figura 3.28.

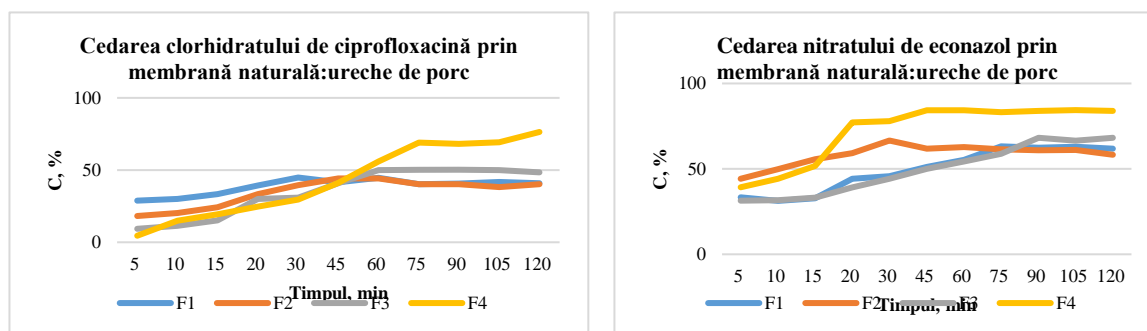


**Fig. 3.28. Cedarea CIP și EC din picăturile auriculare prin membrană naturală: intestin de porc**

Cercetările au arătat un comportament de cedare (prin membrana naturală- intestin de porc) foarte asemănător cu cel prin membrană semipermeabilă, fiind mai avantajos pentru formularea F4. După 60 min ambele substanțe au fost cedate peste 75%. Și la trecerea prin intestin de porc,

CIP are o cedare lentă și nesatisfăcătoare pentru formulările F1-F3 (35%, 49%, 50% la 75 min). EC este cedat mai lent decât prin intestin și membrană artificială, dar, la 45 min atinge concentrația de 84% în compartimentul donor ( $SD < 0,02$ ;  $IQR < 0,03$ ; Tabelele A5.14 și A5.15).

Rezultatele obținute la cedarea principiilor active din picăturile auriculare prin membrana biologică – ureche de porc sunt prezentate în tabelul A 5.16 și figura 3.29.



**Fig. 3.29. Rezultatele cedării CIP și EC din picături auriculare prin membrană naturală: ureche de porc**

În urma determinărilor s-a constatat că substanțele trec mai lent prin urechea de porc, cu o întârziere de circa 20 min, atingând o concentrație satisfăcătoare la 90 min pentru CIP (68%). EC, deja la 20 min a atins concentrația de 77%. Și în cazul membranei naturale ureche de porc, rezultatele sunt mai bune pentru formularea F4 ( $SD < 0,02$ ;  $IQR < 0,03$ ; Tabelele A5.17 și A5.18).

Fiindcă rezultatele obținute în urma cedării prin ambele membrane naturale nu au manifestat diferențe semnificative față de cele obținute la difuzia prin membrana semipermeabilă, parametrii de difuzie, precum fluxul și coeficientul de difuzie au fost calculați doar pentru difuzia prin membrana artificială.

S-a calculat fluxul pentru ambele substanțe active din cele patru formulări și timpul de latență. Rata de penetrare, exprimată prin coeficientul de difuzie (D) s-a calculat în baza valorilor timpului de latență, utilizând caracteristicile membranei.

Curbele cantităților cumulative de CIP și EC care au permeat pe unitatea de suprafață a membranei în funcție de timp (Figurile 3.25, 3.26, 3.27) au prezentat o porțiune liniară înainte de atingerea stării staționare. Se poate observa că ambele substanțe au avut un transfer destul de neomogen. O difuzie bună a manifestat formularea F4, pentru care valorile fluxului în stare staționară și ale vitezei de eliberare a principiilor active au fost cele mai mari (tabelul 3.8).

În urma evaluării parametrilor determinați (vâscozitate, pH, cedarea principiilor activi) s-a constatat, că formularea F4 a manifestat cele mai optimale caracteristici. Rezultatele obținute au fost folosite în studiile de optimizare a formulei cu aplicarea Software Design Expert.

**Tabelul 3.8. Parametrii specifici permeației și eliberării CIP și EC din picăturile auriculare prin membrană sintetică la 45 min**

CIP Picături F1-F4					EC Picături F1-F4			
	$Q, \mu g$	$J, \mu g / cm^2 * ora$	$D * 10^{-3}, cm^2 / oră$	$Tlat, ore$	$Q, \mu g$	$J, \mu g / cm^2 * or a$	$D * 10^{-3}, cm^2 / oră$	$Tlat, ore$
F1	76,0229	27,3956	0,0462	36,0482	102,7416	37,0240	0,06841	24,3618
F2	60,9408	21,9606	0,0672	24,7796	42,7459	15,4039	0,02615	63,7283
F3	92,5623	43,2243	0,2031	8,2024	139,6838	50,3365	0,04562	36,531
F4	124,6453	44,9143	0,3227	5,1636	160,4174	57,8080	0,25742	6,47492

### **3.3. Preformularea capsulelor combinate pentru tratamentul hipoacuziei senzorieurale cu conținut de PIR, NIC și extract uscat de păducel**

În Farmacopeea Română [88] este dată definiția, descrierea capsulelor operculate și caracterizarea acestora după aspect, metoda de preparare, parametrii de calitate cu specificarea limitelor de încadrare în normele stipulate [88, 161].

Se constată o cedare mai eficientă a principiilor active din capsule în comparație cu comprimatele, deși sunt necesare de parcurs mai multe etape [161].

Excipienții utilizați la formularea capsulelor joacă un rol primordial în asigurarea unei cedări adecvate, aceștia fiind mențiți să asigure proprietăți tehnologice care ar favoriza procesele de dizolvare, și, prin urmare, absorbția rapidă și biodisponibilitatea [161].

#### **3.3.1. Studii de compatibilitate a substanțelor active între ele și cu excipienții prin metode DSC, FTIR și difracție cu raze X**

Studiul compatibilității s-a realizat în conformitate cu metodologia expusă în subcapitolul 2.3.

Analiza DSC pentru testarea compatibilității principiilor active între ele și cu excipienții utilizați la formularea capsulelor a fost efectuată în cadrul Catedrei de Analiză a medicamentului UMF „Iuliu Hațieganu”, Cluj Napoca, România (mobilitate de cercetare CEEPUS), sub îndrumarea dnei dr., șef de lucrări Lucia Maria Rus, împreună cu absolventa (a. 2016) a facultății de farmacie Naomi Pop (unele aspecte a acestui studiu au făcut parte din lucrarea de licență a studentei nominalizate: „Studii de compatibilitate în elaborarea unei forme farmaceutice multicomponent cu utilizare în ORL”, coordonator dr., șef de lucrări Lucia Maria Rus) [257, 240].

DSC este o tehnică analitică utilizată atât pentru studiul proprietăților termice ale materialelor, cât și pentru evaluarea compatibilității și stabilității componentelor. Procesul de preparare a probelor pentru analiza DSC implică mai mulți pași, în funcție de obiectivul studiului, se selectează materialul sau amestecul care urmează să fie analizat.



Probele supuse analizelor termice au fost uniforme și curate privind compoziția, fiind formate din substanțe farmaceutice NIC, CIP și EP în amestecuri mecanice 1:1 între ele și cu excipienții. A fost efectuată măcinarea și omogenizarea probelor pentru a obține o distribuție uniformă a particulelor. Cantitatea fiecărei probe utilizate a fost 0,002 g, acestea fiind ambalate în capsule de aluminiu rezistente la căldură, pentru a evita contaminarea și pentru a asigura o transferare eficientă a căldurii. Calorimetrul DSC a fost calibrat înainte de efectuarea analizelor. În timpul analizelor DSC, probele au fost supuse unui ciclu controlat de încălzire și răcire, care a implicat rata de încălzire, intervalul de temperatură și modul de scanare specific. Pe măsură ce probele erau încălzite sau răcite, calorimetrul DSC a înregistrat schimbări de căldură specifice care au avut loc în material, fiind înregistrate sub formă de termograme DSC.

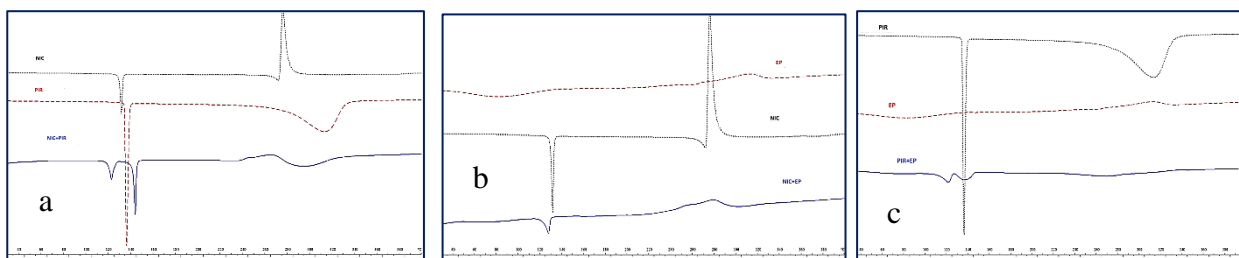
După înregistrarea datelor, acestea au fost analizate pentru a identifica și interpreta tranzițiile termice, cum ar fi punctele de topire, cristalizare, tranziții de fază.

Rezultatele obținute au fost interpretate din perspectiva absenței sau prezenței interacțiunilor de fază a substanțelor active NIC, PIR și UVB, precum și ale acestora cu excipienții monohidrat de lactoză (LM), stearat de magneziu (SM) și sodiu amidon glicolat (AGS).

Rezultatele determinărilor sub formă de raport complet sunt redate în anexa 6.

Analiza termogramelor NIC denotă prezența fenomenelor endoterme în intervale 125-135<sup>0</sup>C cu conturarea topirii NIC și a descompunerii acesteia. Pe termograma PIR se observă că aceasta are interval de topire apropiat cu cel al NIC, iar descompunerea începe la o temperatură mai ridicată. Analiza DSC a EP arată mai întâi o deshidratare în jur de 80<sup>0</sup>C, apoi un maxim la 148<sup>0</sup>C, care denotă topirea componentelor extractului, în special a rutozidei. Încă o componentă majoră din EP – hiperozida – se topește la 262<sup>0</sup>C. Aceste date, precum și valorile entalpiilor, prezentate în tabelul A 6.1, au servit la analiza amestecurilor mecanice.

*Evaluarea DSC a amestecurilor mecanice de substanțe active: NIC+PIR, NIC+EP și PIR+EP (Figura 3.30).*



**Fig. 3.30. Comportamentul termic al NIC+PIR (a), NIC+EP (b) și PIR+EP (c) [257, 240]**

Comportamentul termic al amestecului NIC+PIR (Figura 3.30a) denotă prezența fenomenelor endoterme în intervalul 118-130 <sup>0</sup>C (punctul de topire a NIC fiind la 123<sup>0</sup>C) și al

doilea prag de absorbție a căldurii în intervalul de 140- 147<sup>0</sup>C, unde se topește PIR. NIC se descompune mai ușor, fiind urmat de PIR cu o diferență de aproape 20<sup>0</sup>C.

În urma analizei termogramei amestecului NIC+EP (Figura 3.30b) prezintă absorbția de căldură formează un pic lat în intervalul 45 – 110<sup>0</sup>C, care practic repetă comportamentul EP individual prin manifestarea efectului de deshidratare la temperatură de 75 <sup>0</sup>C. La 120-130<sup>0</sup>C se topește NIC, fiind vizibilă o ne semnificativă deplasare a picului cu circa 5<sup>0</sup>C față de cel al NIC individuale. Peste 235<sup>0</sup>C se poate observa descompunerea ambelor substanțe din amestecul mecanic. Comportamentul termic al PIR în amestec cu EP este caracterizat de absorbția căldurii în zona 30-100 <sup>0</sup>C, unde se deshidratează amestecul, apoi are loc topirea PIR., urmată de descompunerea acestuia (Figura 3.30c).

Evaluarea DSC a amestecurilor mecanice de substanțe active cu excipienții

#### Comportamentul termic a amestecurilor NIC, PIR și EP cu excipienții

Termogramele amestecurilor mecanice 1:1 dintre NIC și excipienți sunt prezentate în Anexa 6. LM (Figura A6.1a) este practic complet deshidratată la 136<sup>0</sup>C, apoi se topește la 213<sup>0</sup>C mai întâi izomerul  $\alpha$ , urmat de izomerul  $\beta$  la 225<sup>0</sup>C. Ambii izomeri se descompun concomitent. Pierderea apei în amestecul NIC+LM are loc la 53<sup>0</sup>C, urmată de topirea NIC la 129<sup>0</sup>C și apoi de deshidratarea LM la 141<sup>0</sup>C. Ultimul proces de absorbție a căldurii corespunde topirii LM la 214<sup>0</sup>C. AGS (Figura A6.1b) este complet deshidratat la 82<sup>0</sup>C, și apoi se descompune și se carbonizează complet la 240<sup>0</sup>C. Amestecului NIC+AGS absoarbe căldura la 72<sup>0</sup>C, formând un pic întins, caracteristic pierderii apei AGS. Topirea NIC este marcată de un salt la 130<sup>0</sup>C, urmată de descompunerea ambelor substanțe.

SM (Figura A6.1c) este prezent pe termogramă la început cu un salt de temperatură la 68<sup>0</sup>C, care denotă topirea completă a acidului hexadecanoic, urmat de topirea acidului octadecanoic la 96<sup>0</sup>C, care au loc practic concomitent cu deshidratarea acestora, apoi în continuare are loc topirea completă a SM la 133<sup>0</sup>C cu degradare. Procesul de absorbție a căldurii pentru amestecul NIC+SM începe la 62<sup>0</sup>C cu topirea acidului hexadecanoic, și continuă cu topirea concomitentă a acidului octadecanoic și SM. NIC se topește la 130<sup>0</sup>C. Peste pragul de 241<sup>0</sup>C ambele substanțe se descompun. Termogramele amestecurilor mecanice 1:1 dintre PIR și excipienți sunt prezentate în Anexa 6.

Amestecul PIR+LM (Figura. A6.2a) formează pe termogramă picuri endoterme în intervalele de temperatură 105-121<sup>0</sup>C, unde LM se deshidratează, apoi se topește una dintre formele polimorfe ale PIR la 141<sup>0</sup>C. Izomerii LM se topesc practic concomitent la 184<sup>0</sup>C, apoi ambele substanțe se descompun. Amestecul PIR+AGS (Figura A6.2b) formează pe termogramă două salturi, la 121<sup>0</sup>C se manifestă topirea unuia dintre polimorfii PIR, la 147<sup>0</sup>C se topește PIR.

Ca și pe termograma AGS individual, pe cea a amestecului se vede descompunerea cu carbonizare a AGS, apoi degradarea PIR. Amestecul PIR+SM (Figura A6.3c) formează pe termogramă picuri cu consum de căldură: la 67<sup>0</sup>C (topirea acidului hexadecanoic), la 92<sup>0</sup>C (topirea acidului octadecanoic), la 125<sup>0</sup>C (topirea SM). PIR și forma lui polimorfă se topesc la 148<sup>0</sup>C și la 135<sup>0</sup>C. Termogramele amestecurilor mecanice 1:1 dintre EP și excipienți sunt prezentate în Anexa 6.

Pe curba termică a amestecului EP+LM (Figura A6.3a) primul fenomen termic cu consum de căldură se înregistrează la 68<sup>0</sup>C, care denotă deshidratarea EP, apoi se topește rutozida la 116<sup>0</sup>C. Deshidratarea LM are loc la 134<sup>0</sup>C, urmată de topirea concomitentă a izomerilor LM (200<sup>0</sup>C) și de topirea hiperozidei la 258<sup>0</sup>C. Pe curba termică a amestecului EP+AGS (Figura A6.3b) apare o variație termică detectabilă la 82<sup>0</sup>C, unde se petrece pierderea apei legate, și tocmai după 241<sup>0</sup>C se descompune amestecul. Pe curba termică a amestecului EP+SM (Figura A6.3c) se poate detecta variația termică de la 68<sup>0</sup>C (topirea acidului hexadecanoic), apoi variația termică de la 97<sup>0</sup>C (topirea acidului octadecanoic). Tot în acest interval se topește și EP.

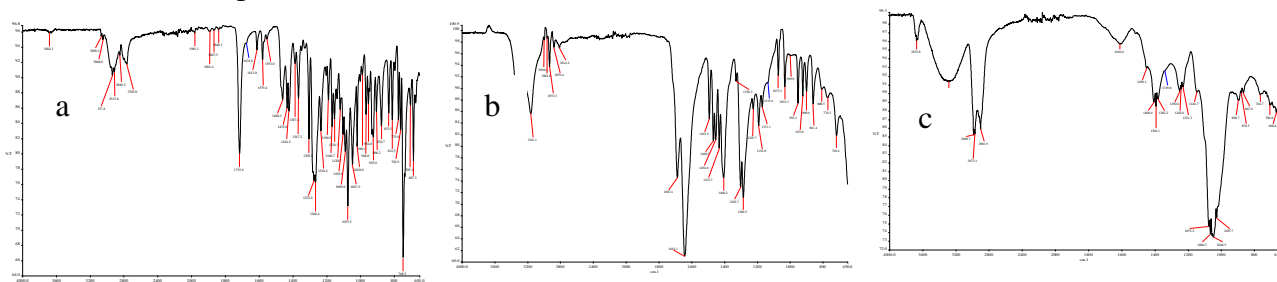
Analiza rezultatelor obținute prin evaluarea termogramelor substanțelor active în amestec unele cu altele și cu excipienții s-a constatat, că NIC nu a înregistrat schimbări a comportamentului termic în comparație cu cel individual, ceea ce denotă lipsa interacțiunilor, și, prin urmare, compatibilitatea acestora. Nici PIR nu a manifestat modificări majore a curbelor termice în amestecuri față de cele individuale, iar fiindcă PIR are mai multe forme polimorfe, se atestă apariția unor picuri suplimentare pe curbele termice ale amestecurilor. La analiza compatibilității PIR cu excipienții prin metoda FT-IR, se va putea concluziona despre compatibilitatea acestora cu o precizie mai bună. Comportamentul termic al EP este unul specific, dictat de cantitățile foarte mici de componente cu puncte bine stabilite de topire, este vorba de rutozidă și hiperozidă. Din acest motiv, de pe curbele termice ale amestecurilor EP cu NIC și PIR și pe cele ale EP cu toți excipienții dispar fenomenele termice ale componentelor active din EP. Acest fapt nu denotă neapărat o incompatibilitate, deoarece mai există posibilitatea, că componentele amestecurilor să se perceapă reciproc ca și impurități. Din acest motiv, studiile de compatibilitate prin DSC trebuie completate cu cele efectuate prin alte metode analitice, precum FT-IR și difracția cu raze X [288].

#### ***Studiul compatibilității componentelor din capsule cu utilizarea Spectroscopiei FT-IR.***

Radiațiile infraroșii, având lungimi de undă mari și energii mici, nu pot produce tranziții electronice, dar pot produce tranziții de vibrație și de rotație ale moleculelor. Pentru obținerea spectrelor în IR s-a stabilit radiația absorbită de o moleculă de analit, radiație care dispare din fascicolul complex al radiației incidente. Astfel au fost investigate cele trei substanțe active, și combinațiile dintre ele, și cu excipienții.

#### ***Caracteristica spectrelor IR ale substanțelor individuale.***

Spectrele IR a substanțelor individuale prezintă benzi de absorbție, fiecare bandă caracterizând o parte structurală a formulei de structură.



**Fig. 3.31. Spectrele FT-IR ale NIC, PIR și EP în regiunea 1800 – 650 cm<sup>-1</sup>**

Spectrul IR al NIC (Figura 3.31a) (IUPAC [(6*aR*,9*R*,10*aS*)-10*a*-methoxy-4,7-dimethyl-6*a*,8,9,10-tetrahydro-6*H*-indolo[4,3-*fg*]quinolin-9-yl)methyl 5-bromopyridine-3-carboxylate) este în corespundere cu spectrul substanței standard, cu evidențierea picurilor caracteristice principalelor grupe funcționale [82].

Spectrul IR al PIR (Figura 3.31b) (IUPAC 2-(2-oxopyrrolidin-1-yl)acetamide) este la fel în corespundere cu spectrul substanței standard, cu evidențierea picurilor caracteristice principalelor grupe funcționale [82].

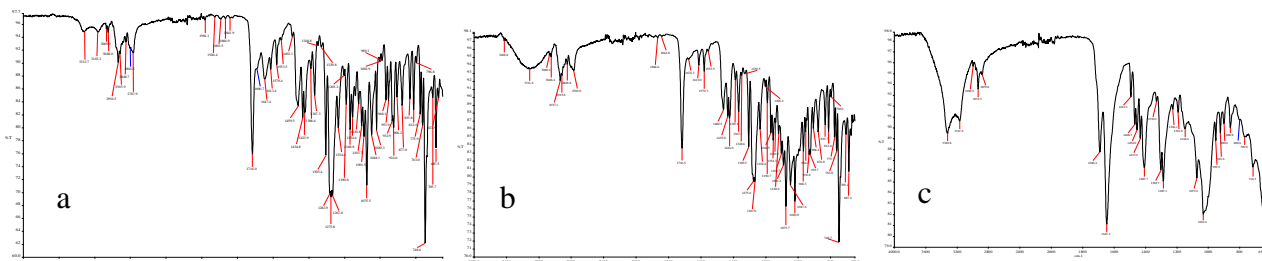
EP (Figura 3.31c) este caracterizat de 17 benzi de absorbție principale. În spectrele IR, prezența grupelor OH este vizibilă în intervalul 3000 – 3500 cm<sup>-1</sup> și de asemenea 1000-1140 a grupelor C-OH proprii alcoolilor primari sau secundari. Grupa carboxilică (R-COOH) este scoasă în evidență prin benzile din zona 1210-1760 cm<sup>-1</sup>. Banda cu intensitatea puternică înregistrată la 1394.1 poate fi atribuită acidului carboxilic ionizat (COO). Intervalul 1027.7 – 1150 cm<sup>-1</sup> este definit de grupările C-O, C-C și C-CH. Benzile de absorbție apărute la 1610.6 și 898.7 cm<sup>-1</sup> pot fi datorate vibrațiilor compușilor aromatici. Banda puternică, înregistrată la 1048.5 este provocată de silicii amorfi (componenta a frunzei). Banda 1146.7 este caracteristică polienelor, cum ar fi carotenoidele și resveratrolul. Benzile slabe și medii care apar în regiunea 1100-850 cm<sup>-1</sup> sunt atribuite fragmentelor aromatice și părților alifatiche.

*Caracteristica spectrelor IR a amestecurilor mecanice de substanțe active.*

Pentru studiul combinațiilor dintre principiile active acestea au fost amestecate în cantități de 0,5 mg fiecare și determinat spectrul de absorbție pentru fiecare combinație. În spectrele de absorbție au apărut benzile de absorbție ale substanțelor individuale cercetate, unele fiind comune.

În combinație cu PIR, NIC își păstrează benzile de absorbție. Din cele aproximativ 20 de benzi analizate aproximativ 11 au rămas caracteristice NIC, 6 benzi comune pentru ambele substanțe – NIC și PIR, și doar 1 bandă a rămas caracteristică pentru PIR (1647.4). Multe din benzile PIR fiind în suprapunere cu cele a substanței din combinație. Pe lângă acestea au apărut 2

benzi noi de absorbție - 3165.2 și 3313.7 sugerând prezența unor grupări OH, NH. Aspectul de bandă largă al absorbției indică asocierea prin legături de hidrogen (Figura 3.32a).

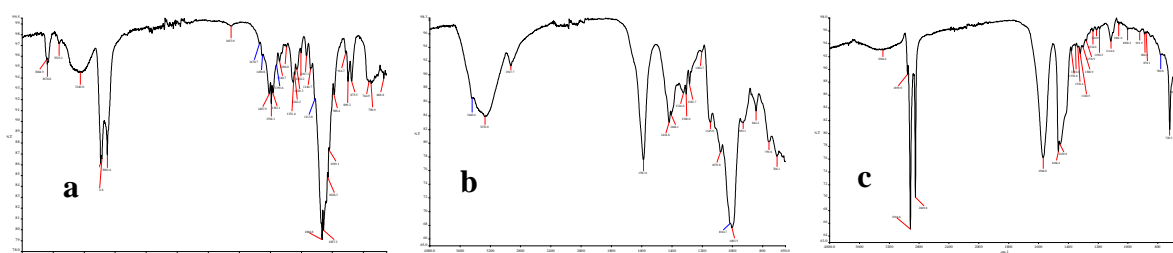


**Fig. 3.32. Spectrele FT-IR al amestecurilor NIC/PIR (a), NIC/EP (b) și PIR/EP (c) în regiunea 4000 – 650  $\text{cm}^{-1}$**

În combinația cu EP, NIC de asemenea își păstrează benzile caracteristice. Au fost înregistrate 12 benzi de absorbție provocate de NIC și o bandă caracteristică EP (1613.0). Alte benzi ale EP nu se pot observa din cauza suprapunerii ca și în cazul PIR. Picurile noi apărute sunt - 3311.6 și 3628.8 (Figura 3.32b)

Combinăția dintre PIR și EP (Figura 3.32c) se dovedește a fi compatibilă prin lipsa apariției benzilor noi în domeniul important al spectrului. În spectrograma acestei combinații sunt evidențiate 11 benzi de absorbție caracteristice PIR și 2 benzi specifice EP (900,5 și 1148,4). Totodată benzile comune sunt destul de evidente, la număr fiind 4, toate cuprinse în zona 1000.0 – 1407,7.

*Caracteristica spectrelor FT-IR a excipienților (Figura 3.33).*



**Fig.3.33. Spectrele FT-IR al excipienților: LM (a), AGS (b) și SM (c) în regiunea 4000 – 650  $\text{cm}^{-1}$**

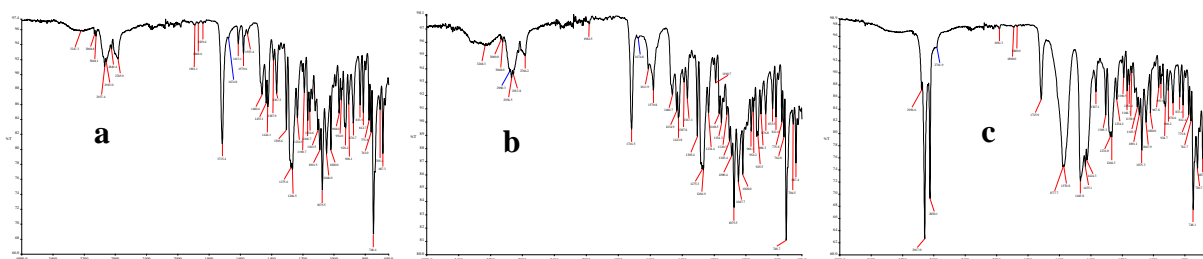
Spectrul FT-IR al LM (Figura 3.33a) este alcătuit din 10 maxime de absorbție principale. Intervalele 1019-1202 $\text{cm}^{-1}$ , 1340-1407 $\text{cm}^{-1}$  reprezintă picurile formate de vibrațiile legăturii – C-O. Vibrațiile picurilor din primul interval sunt de deformare, iar din al doilea de alungire. La 1229-1296 $\text{cm}^{-1}$  sunt vibrațiile de alungire a legăturii –C-O, care sunt de intensitate medie. Maximile de absorbție la 1450-1470 $\text{cm}^{-1}$  sunt formate de vibrații de deformare a grupei –CH<sub>2</sub>. Cel mai lat pic din spectru aparține legăturii –O-H.

Spectrul FT-IR al AGS (Figura 3.33b) este alcătuit din câteva picuri principale bine conturate. La intervalul  $1015-1283\text{ cm}^{-1}$  se observă 3 picuri pronunțate apărute în urma vibrației de alungire a legăturii  $\text{-C-O}$ , iar în regiunea  $1324-1418\text{ cm}^{-1}$  au apărut picurile în urma vibrației de deformare a grupei hidroxile. Maximele de absorbție din segmentul  $750-930\text{ cm}^{-1}$  sunt prezente în urma vibrației de deformare a legăturii  $\text{-C-H}$ .

Spectrul FT-IR al SM (Figura 3.33c) este marcat de picuri apărute în patru intervale. La  $2955-2849\text{ cm}^{-1}$  au apărut maximele în rezultatul vibrațiilor de alungire, iar în regiunea  $1568-1454\text{ cm}^{-1}$  în urma vibrațiilor de deformare a grupei metilenice. În segmentul  $1300-1000$  sunt prezente mișcările vibratorii de alungire a legăturii  $\text{-C-O}$ , iar în regiunea cea mai mică  $888-668\text{ cm}^{-1}$  avem vibrațiile de deformare  $\text{-C-H}$ .

*Caracteristica spectrelor FT-IR ale amestecurilor mecanice de substanțe medicamentoase cu excipienți.*

Spectrul FT-IR al amestecului binar NIC/LM (Figura 3.34a) prezintă benzi de absorbție a ambelor substanțe cercetate, unele fiind comune. În așa mod, benzile de absorbție principale caracteristice NIC sunt: la  $1730-1710\text{ cm}^{-1}$  avem picul vibrației de alungire a cetonei, iar în segmentul  $1290-1050\text{ cm}^{-1}$  - picurile vibrațiilor de alungire a grupării  $\text{-C-O}$ . S-a păstrat și picul vibrației al halogenului la  $748\text{ cm}^{-1}$ . La LM s-au păstrat picurile vibrațiilor de deformare a legăturii  $\text{-C-O}$  și picul la  $1470$  ce aparține grupei  $\text{-CH}_2$ .

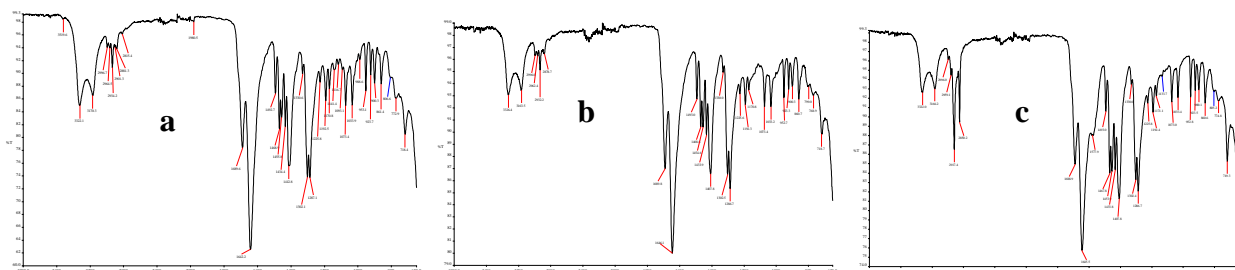


**Fig. 3.34 Spectrele FT-IR ael amestecurilor: NIC/LM (a), NIC/AGS (b) și NIC/SM (c) în regiunea  $4000 - 650\text{ cm}^{-1}$**

Spectrul FT-IR al amestecului binar NIC/AGS (Figura 3.34b) prezintă aceleași benzi de absorbție caracteristice NIC: la  $1730-1710\text{ cm}^{-1}$  avem picul vibrației de alungire a cetonei, în segmentul  $1290-1050\text{ cm}^{-1}$  - picurile vibrațiilor de alungire a legăturii  $\text{-C-O}$  și picul vibrației halogenului la  $748\text{ cm}^{-1}$ . Din picurile intense ale amidonglicolatului s-au păstrat doar unele, din segmentul  $1150-1000\text{ cm}^{-1}$  ce prezintă vibrații de alungire a hidroxizilor.

Spectrul FT-IR al amestecului binar NIC/SM (Figura 3.34c) prezintă aceleași maximele de absorbție caracteristice ambelor substanțe. NIC este reprezentată de picul caracteristic cetonei la  $1730-1710\text{ cm}^{-1}$ , în segmentul  $1290-1050\text{ cm}^{-1}$  - picurile vibrațiilor de alungire a legăturii  $\text{-C-O}$ , și

picul vibrației bromului la  $748\text{cm}^{-1}$ . SM și-a păstrat maximele cele mai informative: la  $1570\text{--}1450\text{cm}^{-1}$  picul vibrației de deformare a grupei  $-\text{CH}_2$  și benzile de absorbție la  $2900\text{--}2960\text{cm}^{-1}$  a vibrațiilor de alungire a aceleași grupe. Este prezent și picul la  $720\text{cm}^{-1}$  rezultatul vibrațiilor de deformare a grupei  $-\text{C-H}$ .



**Fig. 3.35** Spectrele FT-IR ale amestecurilor: PIR/LM (a), PIR/AGS (b) și PIR/SM (c) în regiunea  $4000 - 650\text{ cm}^{-1}$

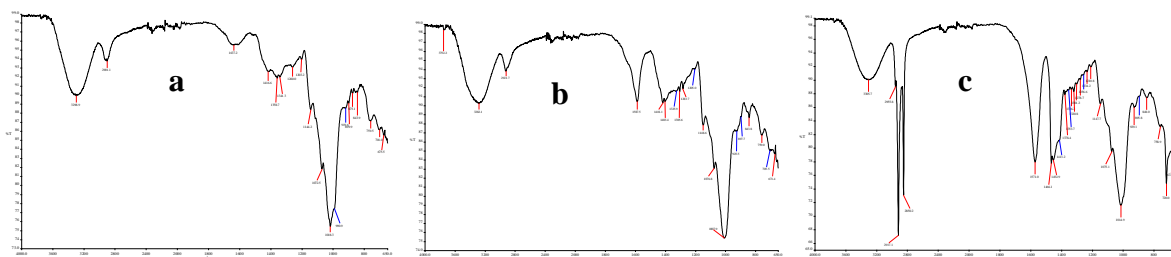
Spectrul FT-IR al amestecului binar PIR/LM (Figura 3.35a) prezintă aceleași benzi de absorbție caracteristice PIR: la  $1687\text{cm}^{-1}$ , picul vibrației de alungire a cetonei, la  $1643\text{cm}^{-1}$  picul vibrației de alungire a legăturii  $-\text{C}=\text{N}$ , picurile din intervalul numerelor de undă  $1420\text{--}1340\text{cm}^{-1}$  sunt vibrațiile hidroxizilor, iar maximele de absorbție cuprinse între  $1360$  și  $1030\text{cm}^{-1}$  sunt ale amidei. La LM s-au conturat doar câteva picuri: la  $1073\text{cm}^{-1}$ , picul vibrației grupei  $-\text{OH}$  și maxima de absorbție la  $763\text{cm}^{-1}$  formată în urma vibrației de deformare a legăturii  $-\text{C-H}$ .

Spectrul FT-IR al amestecului binar PIR/AGS (Figura 3.35b) conturează spectrul substanței active, maximele amidonglicolatului se suprapun sau sunt absente. Cel mai mare maxime de absorbție reprezintă vibrațiile de alungire a grupării  $-\text{C}=\text{N}$  la numărul de undă  $1643\text{cm}^{-1}$ , iar la picul alăturat, la  $1687\text{cm}^{-1}$  putem detecta vibrațiile de alungire a legăturii  $-\text{C}=\text{O}$ . Picurile din intervalul numerelor de undă  $1420\text{--}1340\text{cm}^{-1}$  arată prezența grupei hidroxilice în structura PIR, iar maximele de absorbție cuprinse între  $1360$  și  $1030\text{cm}^{-1}$  sunt specifice pentru amine și amide.

Spectrul FT-IR al amestecului binar PIR/SM (Figura 3.35c) repetă spectrul PIR cu mici excepții. Toate maximele informative ale PIR sunt prezente în spectru. Din picurile SM două se pun în evidență, unul la  $720\text{cm}^{-1}$  în rezultatul vibrațiilor de deformare a legăturii  $-\text{C-H}$ , altul o deviere a picului, la  $1577\text{cm}^{-1}$ .

Spectrul FT-IR al amestecului binar EP/LM (Figura 3.36a) amintește conturul păducelului, multe din picurile de bază fiind greu detectate din cauza suprapunerii lor și pierderii intensității. Din maximele de absorbție proprii păducelului avem: la  $1146\text{ cm}^{-1}$  ce s-a format în urma vibrației grupei hidroxilice, la  $1027\text{ cm}^{-1}$  ca rezultat a vibrației sulfoxizilor și picul  $898\text{cm}^{-1}$ - vibrații de deformare a legăturii  $-\text{C-H}$ . Din picurile LM sunt cele apărute în urma vibrației grupelor hidroxilice

la  $1340-1019\text{cm}^{-1}$ , în segmentul  $988-875\text{cm}^{-1}$  sunt detectate vibrațiile grupei C-H.



**Fig. 3.36. Spectrele FT-IR ale amestecurilor: EP/LM (a), EP/AGS (b) și EP/SM (c) în regiunea  $4000 - 650\text{ cm}^{-1}$**

Spectrul FT-IR al amestecului binar EP/AGS (Figura 3.36b). Picurile EP sunt mai puțin pronunțate în comparație cu cele de pe spectrul individual. Din picurile păducelului avem la  $1146$  și  $1075\text{cm}^{-1}$  ce sunt maximele vibrațiilor grupelor  $-\text{OH}$ . Maximele de absorbție ale AGS sunt  $1418-1404\text{cm}^{-1}$ - picurile vibrațiilor de deformare a grupărilor  $-\text{OH}$ , la  $1290-1070\text{cm}^{-1}$ , maxime aparute în urma vibrațiilor de alungire a legăturii  $-\text{C}-\text{O}$ .

Spectrul FT-IR al amestecului binar EP/SM (Figura 3.36c) prezintă aceleași maximele de absorbție caracteristice ambelor substanțe. Din maximele mai importante ale EP identificăm picul cel mai mare la  $1014\text{ cm}^{-1}$  și cele la  $1146$  și  $1075\text{cm}^{-1}$ , care s-au format datorită grupărilor hidroxilice din structură. Din picurile SM avem în segmentul  $1568-1454\text{cm}^{-1}$  din mișcările de vibrație a grupei  $-\text{CH}_2$ , în intervalul  $1300-1000\text{cm}^{-1}$  sunt picuri formate de la vibrațiile de alungire a legăturii  $-\text{C}-\text{O}$  și maxima  $720\text{cm}^{-1}$  formată de vibrația de deformare a legăturii  $-\text{C}-\text{H}$ .

#### ***Studiul compatibilității prin aplicarea metodei de difracție cu raze X.***

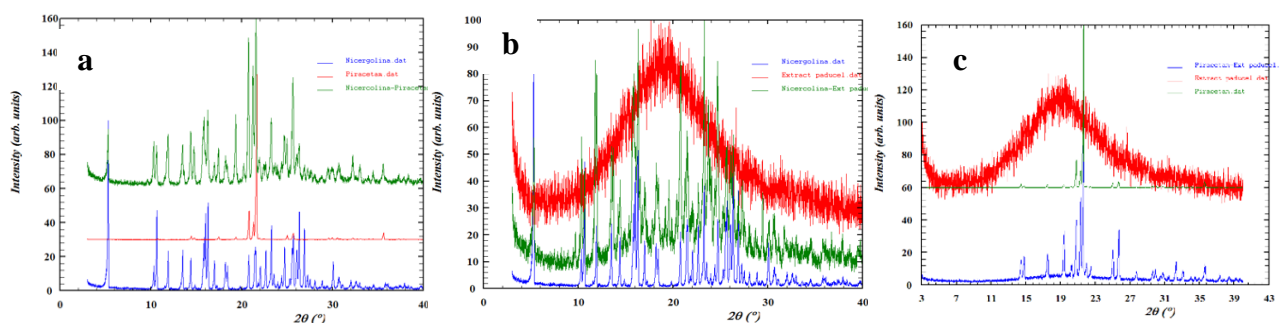
Pentru screening-ul compatibilității medicament/excipient s-a aplicat și Difracția cu raze X pe pulbere (XRPD), metoda XRPD a fost aplicată în pre-formulare. Datele XRPD au fost obținute utilizând difractometru Bruker D8 Advance în Bragg-Geometria Brentano. Difractometrul este echipat cu un monocromator Ge (111) în fasciculul incident pentru a elimina radiațiile  $\text{CuK}\beta$  și  $\text{CuK}\alpha_2$  pentru obținerea unui fascicul monocromatic corespunzător radiației  $\text{CuK}\alpha_1$  cu lungimea de undă  $\lambda = 1,54056\text{ \AA}$ . Modelele XRPD au fost înregistrate cu o super-viteză a detectorului de poziție LynxEye în intervalul  $5 - 50^\circ (2\theta)$ .

#### ***Caracteristica difractogramelor XRPD a amestecurilor mecanice de substanțe active.***

Modelul XRPD (domeniu  $2\theta = 5^\circ - 40^\circ$ ) al NIC, PIR și NIC/PIR (Figura 3.37a), denotă prezența a numeroase vârfuri distincte în spectrele XRPD, ceea ce indică faptul că toate trei substanțe studiate sunt materiale cristaline. Valorile  $2\theta$  ale vârfurilor mai intense ale NIC sunt  $5,02; 11,40; 17,10; 18,46; 22,20; 24,55; 26,12;$  și  $30,15$ . Valorile  $2\theta$  ale vârfurilor mai intense ale PIR sunt  $21,78$  și  $22,04$ .



Modelul XRPD al amestecului fizic de NIC cu PIR repetă profilurile substanțelor individuale, nu sunt detectate alte vârfuri noi și se atestă o compatibilitate deplină a substanțelor analizate.



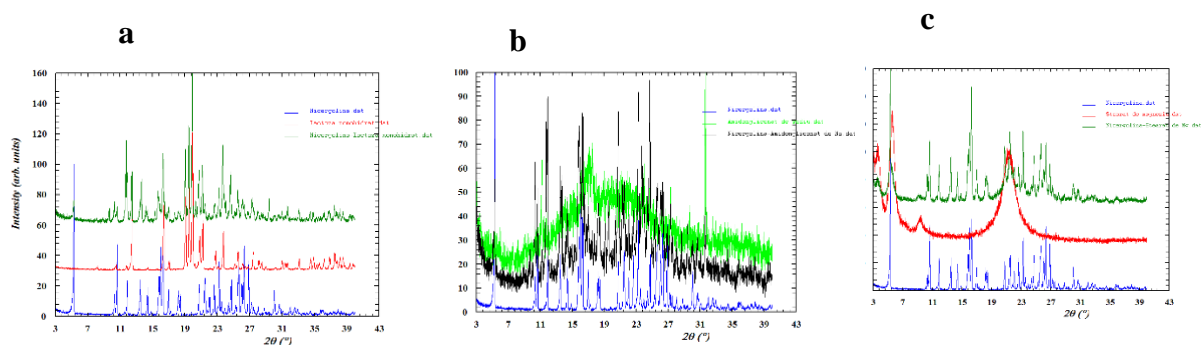
**Fig. 3.37. Difractogramele XRPD ale substanțelor active individuale și ale amestecurilor lor mecanice: NIC/PIR (a), NIC/EP (b), EP/PIR (c)**

Modelul XRPD (domeniu  $2\theta = 5^\circ - 40^\circ$ ) al NIC, EP și NIC/EP (Figura 3.37b), prezintă mai multe vârfuri distincte în spectrele XRPD a NIC, ceea ce atestă natura cristalină a acestei substanțe, iar EP nu formează picuri separate, astfel se atestă natura lui amorfă. În literatura de specialitate nu au fost găsite informații despre analiza XRPD a EP separat. Estimarea valorilor  $2\theta$  ale vârfurilor EP este dificil, se poate constata o creștere a intensității difracției la valori  $2\theta$  surprinse între 15,00 și 25,00. Modelul XRPD al amestecului fizic de NIC cu EP repetă profilul NIC, nu sunt detectate alte vârfuri noi și se atestă o compatibilitate deplină a substanțelor analizate.

Modelul XRPD (domeniu  $2\theta = 5^\circ - 40^\circ$ ) al PIR, EP și PIR/EP (Figura 3.37c), prezintă mai multe vârfuri distincte în spectrele XRPD a PIR, ceea ce atestă natura cristalină a acestei substanțe, iar EP nu formează picuri separate, astfel se atestă natura lui amorfă. Valorile  $2\theta$  ale vârfurilor mai intense ale PIR sunt 21,52 și 22,11. Se poate constata o creștere a intensității difracției EP la valori  $2\theta$  surprinse între 14,00 și 24,00. Modelul XRPD al amestecului fizic de PIR cu EP repetă profilul PIR și unele vârfuri distincte din profilul EP în zona intensității maxime, nu sunt detectate alte vârfuri noi și se atestă o compatibilitate deplină a substanțelor analizate.

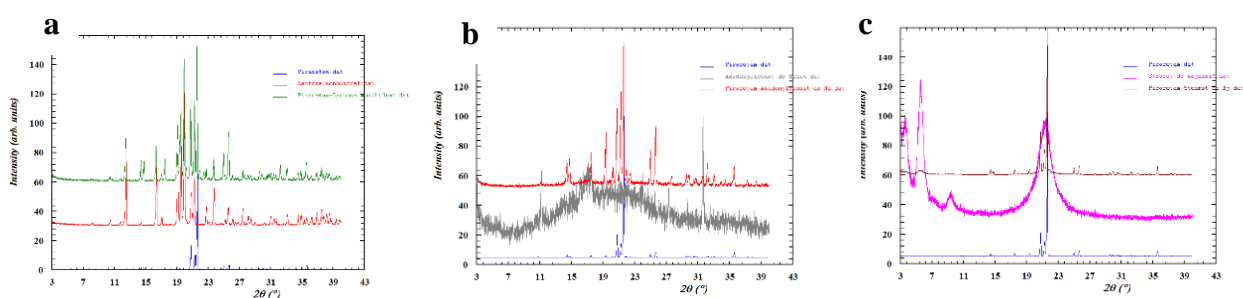
***Caracteristica difractogramelor XRPD a amestecurilor mecanice de substanțe active cu excipienții.***

Modelul XRPD (domeniu  $2\theta = 5^\circ - 40^\circ$ ) al NIC/LM, NIC/AGS și NIC/SM (Figura 3.38), prezintă mai multe vârfuri distincte în spectrele XRPD a NIC, ceea ce atestă natura cristalină a acestei substanțe. Valorile  $2\theta$  ale vârfurilor mai intense ale NIC în combinațiile cu toți cei trei excipienți sunt foarte apropiate, și se regăsesc în jurul valorilor 5,74; 11,39; 17,12; 18,44; 22,21; 24,62; 26,21; și 30,20. Spectrele substanțelor auxiliare individuale sunt în corespundere cu standardele farmaceutice de referință. Modelul XRPD al amestecului fizic de NIC cu excipienții repetă profilul NIC, nu sunt detectate alte vârfuri noi și se atestă o compatibilitate deplină a substanțelor analizate.



**Fig. 3.38. Difractogramele XRPD ale amestecurilor mecanice pentru NIC cu: LM(a), AGS (b) și SM (c)**

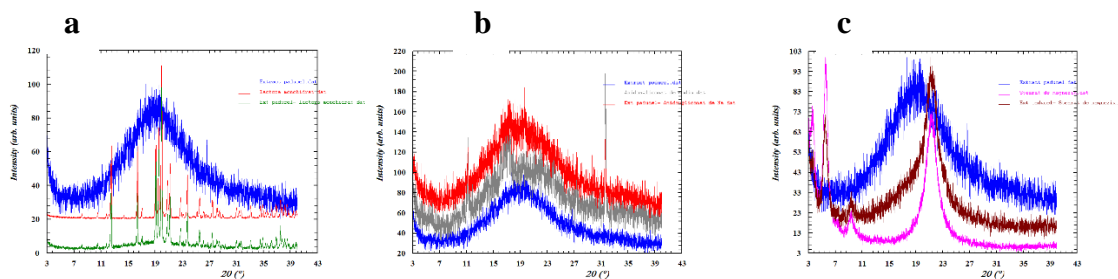
Modelul XRPD (domeniu  $2\theta = 5^\circ - 40^\circ$ ) al PIR/LM, PIR/AGS și PIR/SM (Figura 3.39), prezintă mai multe vârfuri distincte în spectrele XRPD a PIR, ceea ce atestă natura cristalină a acestei substanțe. Valorile  $2\theta$  ale vârfurilor mai intense ale PIR în combinațiile cu toți cei trei excipienți sunt foarte apropiate, și se regăsesc în jurul valorilor 21,86 și 22,03. Modelul XRPD al amestecului fizic de PIR cu excipienții repetă profilul PIR, nu sunt detectate alte vârfuri noi și se atestă o compatibilitate deplină a substanțelor analizate.



**Fig. 3.39. Difractogramele XRPD ale amestecurilor mecanice pentru PIR cu: LM (a), AGS (b) și SM (c)**

Modelul XRPD (domeniu  $2\theta = 5^\circ - 40^\circ$ ) al EP/LM, EP/AGS și EP/SM (Figura 3.40), prezintă mai multe vârfuri distincte în spectrele XRPD ale excipienților, ceea ce atestă natura cristalină a acestor substanțe, iar EP nu formează picuri separate, astfel se atestă natura lui amorfă. Se poate constata o creștere a intensității difracției în spectrul EP la valori  $2\theta$  surprinse între 15,00 și 25,00. Modelul XRPD al amestecului fizic de EP cu excipienții repetă profilul acestora, nu sunt detectate alte vârfuri noi și se atestă o compatibilitate deplină a substanțelor analizate.

Studiile de compatibilitate prin analize FT-IR și Difracție cu raze X au confirmat lipsa interacțiunilor dintre substanțele active între ele și cu excipienții selectați pentru formularea capsulelor operculate combinate cu aplicare în terapia hipoacuziei senzoreineurale.



**Fig. 3.40. Difractogramele XRPD ale amestecurilor mecanice pentru EP cu: LM (a), AGS (b) și SM (c)**

### 3.3.2. Elaborarea capsulelor combinate și determinarea parametrilor tehnologici

În prezent capsulele, ca formă medicamentoasă, sunt una dintre cele mai utilizate forme farmaceutice, grație unor avantaje legate de procesul de fabricație, protecția substanțelor active față de factorii externi, mascarea gustului neplăcut al unor substanțe medicamentoase, dezagregarea și biodisponibilitatea corespunzătoare.

Pentru studiile de preformulare a capsulelor operculate cu substanțele active NIC, PIR și EP s-au folosit următoarele substanțe auxiliare: lactoza monohidrat, stearatul de magneziu, amidonglicolatul de sodiu, celuloza microcristalină și polivinilpirolidona K30.

În industria farmaceutică, lactoza este utilizată pe scară largă ca agent de umplere sau diluant la formarea comprimatelor sau capsulelor deoarece are proprietăți excelente de compresibilitate și capacitate de curgere [350]. Stearatul de magneziu este adesea folosit ca anti aderent, are proprietăți lubrefiante, fiind cel mai des utilizat lubrifiant, care previne lipirea ingredientelor de echipamentele de producție [352]. Amidonglicolatul de sodiu este un ingredient comun în mai multe forme farmaceutice solide în calitate de dezintegrant rapid. Celuloza microcristalină este un agent de încărcare și anti agregant. Polivinilpirolidona îmbunătățește alunecarea suprafețelor și se folosește ca glisant în formularea capsulelor.

#### *Studii de preformulare a capsulelor operculate combinate.*

Excipienții utilizați la preformulare au o influență decisivă pentru biodisponibilitate. În acest context, pentru facilitarea procesului de dizolvare sunt utilizați diluanții (lactoza și celuloza microcristalină). Stearatul de magneziu este folosit la mărirea capacității de curgere a pulberii sau granulelor, dar dacă sunt folosiți în exces determină micșorarea dizolvării [161].

Pentru încapsularea celor trei principii active: NIC, PIR și EP, au fost cercetate un șir de substanțe auxiliare cu diferite proprietăți, pentru a obține un amestec omogen. Excipienții au fost selectați în baza a patru criterii: proprietățile fizico-chimice ale substanțelor active și a celor auxiliare; dozele substanțelor active; destinația excipientilor; frecvența utilizării substanțelor auxiliare în forme farmaceutice solide. Astfel, au fost utilizate următoarele clase de excipienți: diluanți - lactoza monohidrat și celuloza microcristalină, fiecare diluant are o anumită cantitate admisibilă pentru

amestecare cu substanțele active, de exemplu lactoza monohidrat poate fi amestecată în proporții de la 70% până la 100% din masa capsulei; excipienți aglutinanți (numiți și lianți sau adezivi) – gelul de polivinilpirolidonă de diferite concentrații (5% și 10%); excipient lubrifiant – stearatul de magneziu, în proporții 1% din masa capsulei; agent de dezintegrare – amidonglicolat de sodiu.

Pentru realizarea scopului propus au fost elaborate patru formule cu substanțele active NIC, PIR și EP. Dozele principiilor active au fost calculate și estimate în corespundere cu indicația farmacoterapeutică, toxicitatea fiecărei substanțe, efectul preconizat, fiind comparate cu dozele terapeutice individuale.

Excipienții au fost selectați reieșind din proprietățile fizico-chimice ale substanțelor active, dar și a excipienților (tabelul 3.9).

**Tabelul 3.9. Proprietățile fizico-chimice ale substanțelor active și a excipienților la preformularea capsulelor**

Substanța	Sol. în apa	Sol.in alcool	Sol. în cloroform	Higroscopia
Nicergolina	Putin solubila	+	+	Higroscopic
PIR	+ (14.22mg/mL) sau 4.76 mg/mL 252 mg/ml la 23,3°C	Solubil (96%)	-	Higroscopic
Extract uscat de păducel	Solubil	-	-	Higroscopic
Lactoza monohidrat	195000 mg/L (at 20 °C)	-	-	-
Celuloza microcristalina	Insolubil	Insolubil		
Amidonglicolat Na	Insolubil	Putin solubil		Higroscopic
Stearat de Mg	Insolubil	0,020 <sup>25</sup> g/100 ml		-
PVP K 30	Solubil	Solubil		Higroscopic

Substanțele active și excipienții au fost caracterizați după proprietățile fizico-chimice, fiind expuse în tabelul 3.9.

Substanțele active au fost amestecate cu diferite tipuri și cantități de excipienți conform tabelului 3.10, pentru încapsulare. Au fost obținute 4 formulări de tip pulberi.

**Tabelul 3.10. Formulele capsulelor operculate combinate (cantități pentru o capsulă)**

Denumirea componentelor	Codul formulelor/ Cantitățile componentelor, mg			
	F1	F2	F3	F4
NIC	4,5	4,5	4,5	4,5
PIR	200	200	200	200
Extract uscat de păducel	50	50	50	50
Stearat de magneziu	2,5	2,5	2,0	2,0
Celuloza microcristalină	-	140,5	-	141,5
Amidonglicolat de sodiu	2,5	-	-	2,0
PVP K30	-	2,5	2,0	-
Lactoza monohidrat	240,5	100,0	241,5	100,0
Total	500	500	500	500

*Pregătirea substanțelor auxiliare.* Pulberile se cern prin sita cu diametrul ochiurilor de 0,2-0.5 mm. Pentru prepararea a câte 25 g de amestec F1, F2, F3, F4 se cântăresc cantitățile necesare calculate de substanțe.

**Tabelul 3.11. Cantitățile de substanțe necesare pentru prepararea a 25,0 g de pulbere, pentru determinarea parametrilor tehnologici la etapa de preformulare**

Denumirea componentelor	Codul formulelor/ Cantitățile componentelor, g			
	F1	F2	F3	F4
NIC	0,225	0,225	0,225	0,225
PIR	10,0	10,0	10,0	10,0
Extract uscat de păducel	2,5	2,5	2,5	2,5
Stearat de magneziu	0,125	0,125	0,1	0,1
Celuloza microcristalină	-	12,025	-	12,075
Amidonglicolat de sodiu	0,125	-	-	0,1
PVP K30	-	0,125	0,1	-
Lactoza monohidrat	12,025	-	12,075	-
Total	25,0	25,0	25,0	25,0

*Amestecarea componentelor.* Pulberile cântărite de excipienți se amestecă și se omogenizează la mojar.

Determinarea parametrilor farmaco-tehnologici ai pulberilor preparate pentru încapsulare

După preparare, cele patru formulări au fost supuse studiului proprietăților reologice: unghiul de înclinare, unghiul de repaus, indicele Carr și indicele Hausner [179].

*Unghiul de înclinare.* Tehnica de lucru constă în încărcarea a 50 g de amestec în pâlnia aparatului „VP-12A”, după conectarea aparatului se deschide clapeta, în urma căreia se formează un con, la care se măsoară unghiul format de paralela care trece prin vârful conului și planul înclinat a laturii conului. Se efectuează 5 măsurări pentru fiecare probă. Unghiul de înclinare variază de la 25° - 35° pentru pulberile ușor fluide, până la 60° - 70° pentru amestecurile greu fluide. Rezultatele experiențelor sunt redate în tabelul 3.12 [20].

**Tabelul 3.12. Parametrii farmaco-tehnologici (unghiul de înclinare și de repaus) ale formulărilor**

Codul formulelor Parametrii farmaco-tehnologici	Unghiul de înclinare, ° (n=5)	Unghiul de repaus, ° (n=5)
F1	31	20
F2	48	45
F3	21	25
F4	45	45

*Unghiul de repaus.* Tehnica de lucru constă în alimentarea cu 50 g de amestec pâlnia aparatului „VP-12A”, după conectarea aparatului se deschide clapeta, în urma căreia se formează pe un plan orizontal un con cu un vârf ascuțit sau rotunjit, la care se măsoară unghiul format dintre latura conului și suprafața pe care a fost etalat. Se efectuează 5 măsurări pentru fiecare probă. Cu cât unghiul de repaus este mai mic cu atât proprietățile de curgere a amestecurilor sunt mai bune. Rezultatele experiențelor sunt redată în tabelul 3.12. [20].

Un alt parametru de descriere a fluidității pulberilor este *determinarea capacității volumetrice*. Tehnica de lucru constă în amplasarea a 10 g de amestec în cilindrul gradat a aparatului „545-P-AK-3” și se fixează volumul pe care-l ocupă până și după tasare. Se efectuează 5 măsurări pentru fiecare probă. După care datele obținute sunt introduse în formulele de calcul a indicelui Carr și fracției Hausner (tabelul 3.13). Rezultatele experiențelor sunt redată în tabelul 3.13 și demonstrează că pulberile au o fluiditate excelentă.

**Tabelul 3.13. Indicele Carr și indicele Hausner determinați pentru 4 formulări**

Formulări analizate	Unghiul de inclinare, °	Volumul inițial al pulberii $V_0$ , cm <sup>3</sup>	Volumul pulberii după tasare $V_t$ , cm <sup>3</sup>	Densitatea volumetrică inițială $d_{vi}$ , g/cm <sup>3</sup>	Densitatea volumetrică după tasare $d_{vt}$ , g/cm <sup>3</sup>	Indicele Carr, %	Indicele Hausner
<b>Amestecuri de excipienți</b>							
Lactoza monohidrat Stearat de magneziu Amidonglicolat (F1)	<b>36</b>	<b>32</b>	<b>28</b>	<b>0,77</b>	<b>0,88</b>	<b>12,5</b>	<b>1,14</b>
Celuloza microcristalina Stearat de magneziu PVP K30 (F2)	<b>45</b>	<b>49</b>	<b>34</b>	<b>0,50</b>	<b>0,73</b>	<b>30,6</b>	<b>1,44</b>
Lactoza monohidrat Stearat de magneziu PVPK30 (F3)	<b>26</b>	<b>31</b>	<b>27</b>	<b>0,73</b>	<b>0,84</b>	<b>12,90</b>	<b>1,15</b>
Celuloza microcristalina Stearat de magneziu Amidonglicolat (F4)	<b>50</b>	<b>59</b>	<b>49</b>	<b>0,39</b>	<b>0,47</b>	<b>16,95</b>	<b>1,20</b>
<b>Excipienți cu substanțele active</b>							
F1	<b>31</b>	<b>30</b>	<b>25</b>	<b>0,33</b>	<b>0,40</b>	<b>16,67</b>	<b>1,21</b>
F2	<b>48</b>	<b>35</b>	<b>25</b>	<b>0,29</b>	<b>0,40</b>	<b>28,57</b>	<b>1,38</b>
F3	<b>21</b>	<b>30</b>	<b>23</b>	<b>0,33</b>	<b>0,43</b>	<b>23,33</b>	<b>1,30</b>
F4	<b>45</b>	<b>55</b>	<b>45</b>	<b>0,18</b>	<b>0,22</b>	<b>18,18</b>	<b>1,22</b>
<i>Notă: * valori medii, n=6 pentru fiecare formulare</i>							

Pulberile destinate umplerii capsulelor trebuie să demonstreze o bună fluiditate, să nu prezinte lipici și să aibă o coeziune adecvată. În mod obișnuit, evaluarea fluidității pulberilor se realizează folosind indicele de compresibilitate Carr, care este asociat cu modificările în greutatea de umplere a capsulei. În unele circumstanțe, pot fi necesare valori intermediare ale indicelui Carr pentru a preveni problemele legate de fluiditatea redusă (indice Carr ridicat) sau de fluiditatea

excesivă (indice Carr scăzut). De regulă, o capacitate mai mare de descompunere corespunde unei coeziuni reduse, evitând astfel eventualele neplăceri asociate. Un indice Carr mai mare de 25 indică o capacitate slabă de curgere, în timp ce un indice sub 15 sugerează o bună fluiditate [139].

După cum se observă din tabel, formulările care au în componența lor lactoză monohidrat (formulările 1 și 3) au o capacitate de curgere mai bună, posedând un indice Carr și o valoare a fracției Haussner mai mică.

***Evaluarea disponibilității farmaceutice a formulărilor elaborate de capsule combinate cu aplicarea testului de dizolvare.***

Aparatajul și condițiile de determinare sunt descrise în capitolul 2 [241]. Probele celor 4 formulări de capsulele cu conținut identic de principii active, dar diferit al excipienților au fost analizate conform *tehnicii de lucru*: câte 10 mL au fost prelevate manual în următoarea consecutivitate de timp: 5, 10, 15, 20, 30, 45 și 60 min. Prelevările au fost urmate de înlocuire cu mediu blank degazat, pentru menținerea condițiilor sink și evitarea alterărilor hidrodinamice asociate scăderilor de volum. Poziționarea pipetei în timpul prelevării a fost la jumătatea distanței dintre suprafața lichidului și capătul superior al coșulețului, la minim 10 mm de peretele vasului.

*Analiza cantitativă* s-a efectuat spectrofotometric (tehnica de lucru este expusă în capitolul 4), după diluțiile adecvate cu soluție metanolică de HCl 0,1 M.

*Cercetarea profilului de dizolvare a NIC din capsule combinate.*

*Soluția standard:* a fost preparată conform procedurii descrise în capitolul dozare spectrofotometrică 4.1.2.

*Soluția probă:* Determinarea cantitativă a NIC în fiecare 10 mL de probă prelevată a fost efectuată prin metoda spectrofotometrică UV-VIS. În calitate de soluție de referință a servit soluția placebo a formulării respective.

Pentru a asigura comparabilitatea datelor generate pentru formulările analizate, a fost adoptată aceeași procedură pentru toate seturile de probe.

***Cercetarea profilurilor de dizolvare a NIC din capsule combinate în mediu de HCl 0,1M (pH=1,2).***

Spectrul UV-VIS a fost studiat în diapazonul 190-300 nm (Figura A7.1.).

După cum se observă din tabelul (A7.1) valorile absorbantei NIC în mediul acid s-au aflat în limitele de la 0,0006-0,8.

Conținutul de nicergolină se calculează conform formulei (3.1):

$$X_t = \frac{A_1 * b * D * 100}{A_2 * a}, \quad (3.1)$$

În care:

$X_t$  – cantitatea de substanță în proba de analizat (%) la intervalul de timp ( $t$ );

$A_1$  – absorbanta soluției cercetate;

$A_2$  – absorbanta soluției standard;

$D$  – diluția (ml)

$b$  – masa probei standard, g;

$a$  – masa probei cercetate, g.

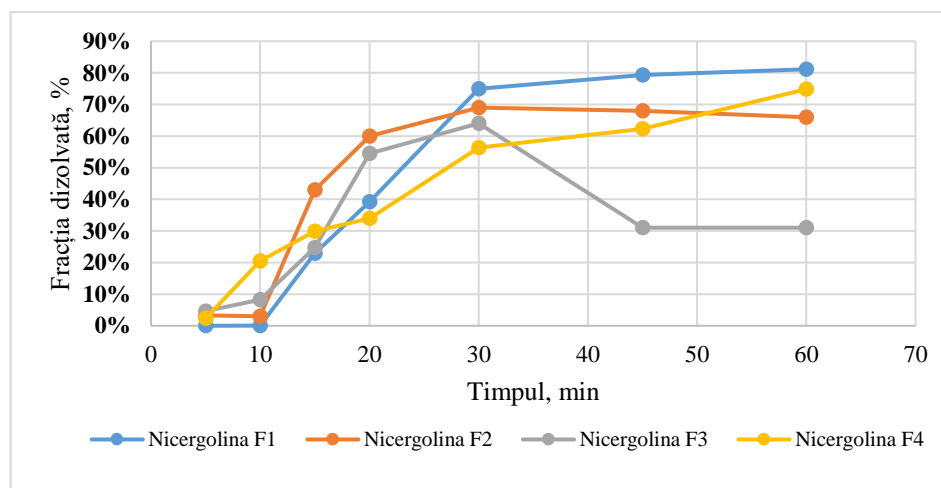
Notă: se utilizează expresia:  $A_1 = (\text{absorbanta NIC} - \text{absorbanta extractului uscat de păducel})$  la calcularea conținutului de NIC din capsulele F2 și F3

Spectrele de absorbție, valorile absorbanțelor și a concentrațiilor obținute au fost redată în Anexa 7, tabelul 3.14 și figura 3.41.

**Tabelul 3.14. Cedarea NIC (%) din capsule în mediul acid**

(valori medii, n=5 pentru fiecare unitate de timp)

Timpul, min	NIC	NIC	NIC	NIC
	F1	F2	F3	F4
10	0.002	3.29	4.62	20.52
15	22.94	43.21	8.24	29.91
20	39.24	59.51	24.76	33.94
30	75.01	68.83	54.46	56.32
45	79.35	68.30	64.01	62.3
60	81.13	66,154	31.06	74.83



**Fig. 3.41. Profilurile de dizolvare ale NIC în mediul acid din cele 4 formulări.**

*Cercetarea profilurilor de dizolvare a NIC din capsule combinate în mediul tampon fosfat (pH=6,8).*

Spectrele UV-VIS au fost studiate în diapazonul 190-300 nm (Figura A7.2).

După cum se observă din tabelul A7.3., valorile absorbantei NIC după dizolvarea în mediul



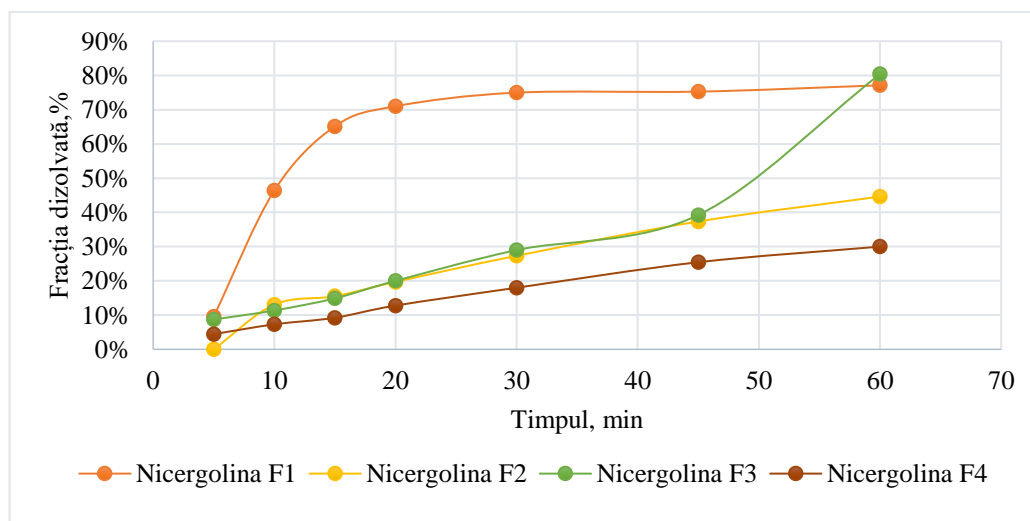
neutru s-au aflat în limitele de la 0,008-0,16.

Calcularea conținutului de NIC dizolvată în mediu neutru din capsule se efectuează conform formulei (3.1). Rezultatele determinărilor sunt redată în tabelul 3.15 și figura 3.42.

**Tabelul 3.15. Cedarea NIC din capsule în mediul neutru**

(valori medii, n=5 pentru fiecare unitate de timp)

Timpul, min	NIC	NIC	NIC	NIC
	F1	F2	F3	F4
10	46.38	13.07	11.36	7.31
15	65.14	15.51	14.9	9.23
20	71.01	19.7	20.01	12.78
30	74.98	27.32	29.01	18.01
45	75.28	37.35	39.25	25.45
60	77.12	44.62	80.4	30.01



**Fig. 3.42. Profilurile de dizolvare a NIC în mediul neutru din cele 4 formulări**

*Cercetarea profilului de dizolvare a PIR din capsule combinate.*

Soluția standard de piracetam: a fost preparată conform procedurii descrise în capitolul 4.1.2

Soluțiile probă

*Analiza PIR din capsula F1 după dizolvarea în mediul acid:* Probele prelevate la 5, 10 și 15 minute în volum de 10 ml au fost analizate la spectrofotometru fără a fi diluate. În următoarele intervale de timp s-a procedat în felul următor: din 10 ml probă prelevată, 1,2 ml s-au trecut într-un balon cotat de 10 ml și s-a adus până la cotă cu soluție metanolică de HCl 0,1M.

*Analiza PIR din capsulele F2, F3 și F4 după dizolvarea în mediul acid:* S-au prelevat 10 ml soluție probă la intervale de timp stabilite și s-au efectuat diluțiile în felul următor: 0,6 ml soluție au fost trecuți într-un balon cotat de 10 ml și s-a adus până la cotă cu soluție metanolică de HCl 0,1 M.

*Analiza PIR din capsulele după dizolvarea în mediul neutru:* Soluțiile probe, prelevate în volum de 10ml, au fost analizate la spectrofotometru fără a fi diluate cu soluție metanolică de HCl 0,1 M.

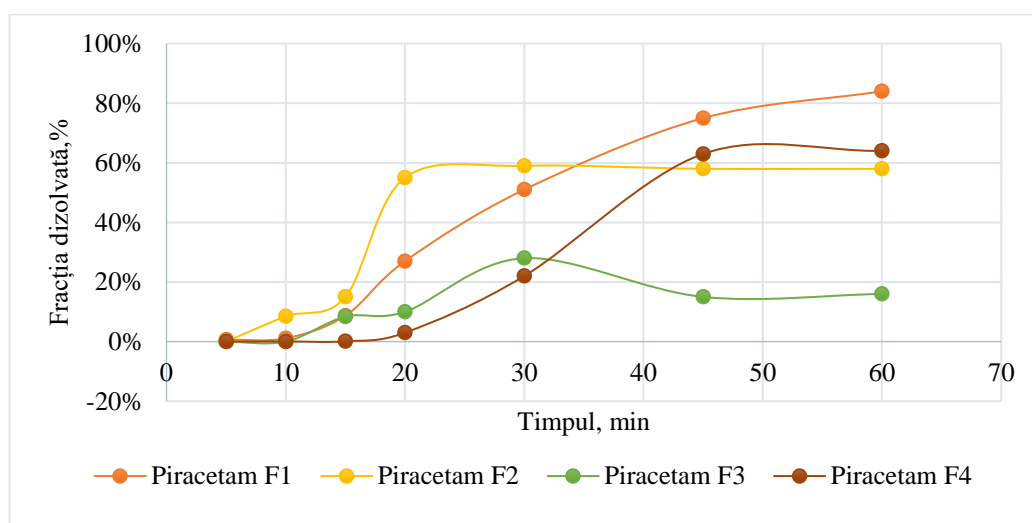
Analiza soluțiilor preparate a fost efectuată la spectrofotometru UV-VIS. În calitate de soluție de referință au servit soluțiile placebo ale formulărilor respective.

***Cercetarea profilurilor de dizolvare a PIR din capsule combinate în mediul acid.***

Spectrele UV-VIS au fost studiate în diapazonul 190-300 nm (Figura A7.3). Pe spectru se atestă un pic la  $205 \pm 1$  nm (lungimea de undă caracteristică PIR) cu absorbanta în limitele de la 0,1 – 1,3001. Calcularea conținutului de PIR dizolvat în mediul acid din capsule se efectuează conform formulei (3.1). Rezultatele determinărilor sunt redată în tabelul 3.16 și figura 3.43.

**Tabelul 3.16. Cedarea PIR din capsule în mediul acid**

Timpul, min	PIR	PIR	PIR	PIR
	F1	F2	F3	F4
10	1.12	0.0022	0.0028	0.0022
15	8.68	8.46	0.0024	0,05
20	26.98	14.74	8.4	0,11
30	50.95	55.32	9.6	2,54
45	75.09	59.24	28.06	21,25
60	84.39	58.19	15.69	63,32



**Fig. 3.43. Profilurile de dizolvare ale PIR în mediul acid din cele 4 formulări**

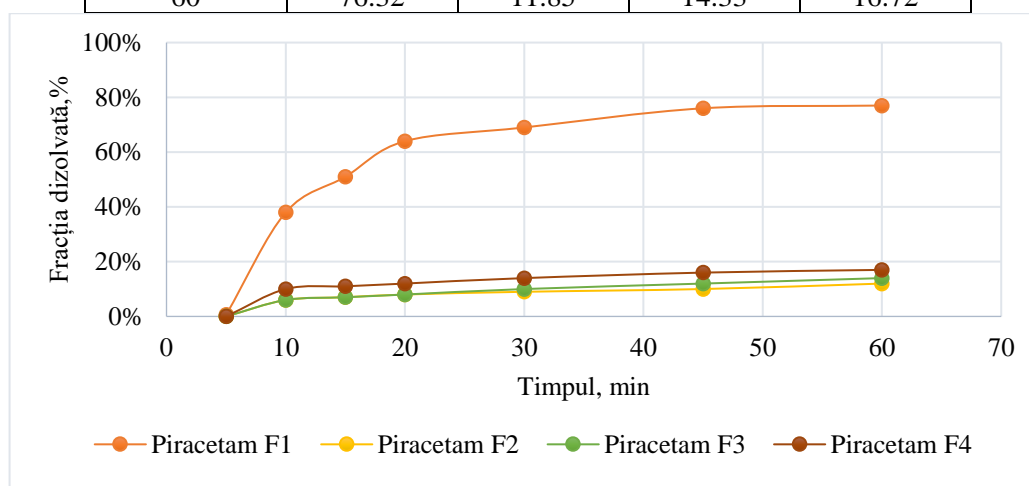
***Cercetarea profilurilor de dizolvare a PIR din capsule combinate în mediul tampon fosfat (pH=6,8).***

Spectrele UV-VIS au fost studiate în diapazonul 190-300 nm (Figura A7.4.). Conform spectrelor la  $205 \pm 1$  nm (lungimea de undă caracteristică PIR) au fost înregistrate absorbantele cu valorile cuprinse între 0,70 – 2,40.

Calcularea conținutului de PIR dizolvat în mediul neutru din capsule se efectuează conform formulei (3.1). Calculele au fost descrise în Anexa 7. Rezultatele determinărilor sunt redată în tabelul 3.17 și figura 3.44.

**Tabelul 3.17. Cedarea PIR din capsule în mediul neutru**

Timpul, min	PIR	PIR	PIR	PIR
	F1	F2	F3	F4
10	38.19	6.45	6.37	10.43
15	51.31	7.4	7.25	11.31
20	64.08	7.85	8.25	12.21
30	69.31	9.01	9.78	14.07
45	76.02	10.11	11.75	15.75
60	76.32	11.85	14.33	16.72



**Fig. 3.44. Profilurile de dizolvare ale PIR în mediul neutru din cele 4 formulări**

În urma analizei profilurilor de dizolvare pentru NIC și PIR din formulările testate, s-a constatat o cedare mai bună la dizolvarea în mediul acid. În mediul neutru dizolvarea fiind treptată, uniformă, corespunde cerințelor cantitative de dizolvare a cel puțin 75 % în 45 min pentru formulările F1 și F2 din mediul acid (PIR, NIC) și formularea F1 din mediul neutru (PIR, NIC).

***Evaluarea cineticii dizolvării NIC și PIR din capsule în mediul acid.***

Au fost calculați parametrii cinetici dizolvării substanțelor active din capsule și evaluată constanta vitezei de dizolvare în urma cedării doar din mediul acid, deoarece s-a constatat, că ambele substanțe sunt eliberate mai ușor în mediul acid (tabele 3.18 și 3.19).

**Tabelul 3.18. Cinetica dizolvării NIC din capsulele F1 și F2 în mediul acid**

Timpul	Nicergolina din capsula F1						Nicergolina din capsula F2					
	Q0, mg	C, %	Qt, mg	Q0-Qt, mg	ln(Q0-Qt)	Kd 1, min <sup>-1</sup>	C, %	Qt, mg	Q0-Qt, Mg	ln(Q0-Qt)	Kd 2, min <sup>-1</sup>	
5	4,5	0,00	0	4,50	1,504	0,0000	3,29	0,15	4,35	1,47	0,0041	
10	4,5	0,002	0,09	4,41	1,484	0,02	3,29	0,15	4,26	1,45	0,1023	
15	4,5	22,94	1,03	3,47	1,244	0,004	43,21	1,94	2,56	0,94	0,0677	
20	4,5	39,24	1,77	2,73	1,004	0,048	59,51	2,68	1,82	0,60	0,0262	
30	4,5	75,01	3,38	1,12	0,113	0,048	68,83	3,10	1,40	0,34	0,0260	
45	4,5	79,35	3,57	0,93	-0,073	0,0891	68,30	3,07	1,43	0,36	-0,02	
60	4,5	81,13	3,65	0,85	0,163	-0,016	66,15	2,98	1,52	0,42	-0,06	
					K <sub>1med</sub> =	0,0322					K <sub>2med</sub> =	0,0237

**Notă:** Q<sub>0</sub>– conținutul de substanță medicamentoasă în forma farmaceutică; Q<sub>t</sub>- cantitatea de substanță medicamentoasă dizolvată la momentul de timp (t); Q<sub>0</sub>-Q<sub>t</sub> – cantitatea de substanță care mai rămâne să se dizolve; K<sub>d</sub>- constantei vitezei de dizolvare.

Calcularea constantei vitezei de dizolvare ( $K_d$ ) pentru ambele formulări a fost realizată după formula:

$$K_d = (\ln C_1 - \ln C_2) / (t_2 - t_1) \text{ (min}^{-1}\text{)} \quad (3.2)$$

În urma analizei rezultatelor obținute se poate concluziona, că constanta de dizolvare a NIC din capsula F1 este de 1,36 ori mai mare decât din capsula F2.

**Tabelul 3.19. Cinetica dizolvării PIR din capsulele F1 și F2 din mediu acid**

Timpul	PIR din capsula F1						PIR din capsula F2					
	Q0, mg	C, %	Qt, mg	Q0-Qt, mg	ln(Q0-Qt)	Kd 1, min <sup>-1</sup>	C, %	Qt, mg	Q0-Qt, mg	ln(Q0-Qt)	Kd 2, min <sup>-1</sup>	
5	200	0,00	0	200	5,30		0,00	0	200	5,30	0,0000	
10	200	1.12	2,24	197,76	5,29	0,002	0.0022	0,0044	199,99	5,30	0,0000	
15	200	8.68	17,36	182,64	5,208	0,0164	8.46	16,92	183,08	5,21	0,018	
20	200	26.98	53,96	146,04	4,984	0,0448	14.74	29,48	170,52	5,14	0,014	
30	200	50.95	101,9	98,1	4,586	0,0398	55.32	110,64	89,36	4,49	0,065	
45	200	75.09	150,18	49,82	3,908	0,0452	59.24	118,48	81,52	4,40	0,006	
60	200	84.39	168,78	31,22	3,441	0,0311	58.19	116,38	83,62	4,43	-0,03	
					K <sub>1med</sub> =	0,01495				K <sub>2med</sub> =	0,0146	

Totodată s-a determinat, că constanta de dizolvare a PIR din capsula F1 este de 1,03 ori mai mare decât din capsula F2. Aceste rezultate au arătat, că atât după rata dizolvării, cât și din punct de vedere a cineticii dizolvării, formularea F1 este mai optimă. Aceste rezultate au fost confirmate și în studiile de optimizare a formulărilor.

### 3.4. Optimizarea și tehnologia de obținere a picăturilor auriculare combinate

Determinarea compoziției optime reprezintă un moment decisiv pentru elaborarea picăturilor combinate, oferind un echilibru esențial între proprietățile reologice și caracteristicile tixotrope ale soluției. Această fază crucială a cercetării permite optimizarea parametrilor, asigurând astfel o stabilitate corespunzătoare și o reactivitate adecvată în contextul aplicațiilor specifice [84].

#### 3.4.1. Optimizarea și tehnologia picăturilor auriculare cu conținut de IHF și MU

Pentru determinarea compoziției optimale a picăturilor combinate cu conținut de IHF și MU s-a utilizat designul factorial deplin 32 și analiza suprafețelor de răspuns [162, 186, 65].

În calitate de variabile independente s-au selectat conținutul de PEG 400 și PG (Tabelul 3.20).

Parametrii utilizați în calitate de variabile dependente au fost selectați în baza criteriului de importanță în procesul de preformulare a picăturilor auriculare: vâscozitatea la cea mai mică viteză de forfecare, la temperaturile de 25±0,1<sup>0</sup>C și 37±0,1<sup>0</sup>C, pH-ul formei farmaceutice și coeficientul de difuzie a principiilor activi din forma farmaceutică prin membrana biologică.

**Tabelul 3.20. Valorile variabilelor independente utilizate în optimizarea formulării picăturilor auriculare combinate cu conținut de IHF și MU**

Denumirea variabilelor	Cantitatea, %		
	Nivelul de jos (-1)	Nivelul de bază (0)	Nivelul de sus (+1)
PEG 400 (X <sub>1</sub> )	50	60	70
Propilenglicol (X <sub>2</sub> )	10	20	30

Valorile experimentale obținute ale variabilelor dependente (răspunsurilor) sunt redată în Tabelul 3.21.

**Tabelul 3.21. Rezultatele experimentale ale variabilelor dependente**

Variabile dependente	Formulara						
	F1	F2	F3	F4	F5	F6	
*Vâscozitatea la cea mai mică viteză de forfecare, cP*10 <sup>2</sup>	25°C	2724,71	2889,52	2600,12	2657,32	2701,82	2865,64
	37°C	2698,90	2754,11	2511,11	2498,20	2564,11	2621,32
*Coeficientul de difuzie a principiului activ la 45 min, D*10 <sup>-3</sup> , cm <sup>2</sup> /oră	IHF	2.57998	0.27700	0.17506	0.14524	0.11347	0.13401
	MU	1.18751	0.36075	0.18886	0.21898	5.61356	0.68545
pH		5,80	5,46	5,05	5,10	5,18	5,21
<i>Notă: * valori medii, n=6 pentru fiecare formulare</i>							

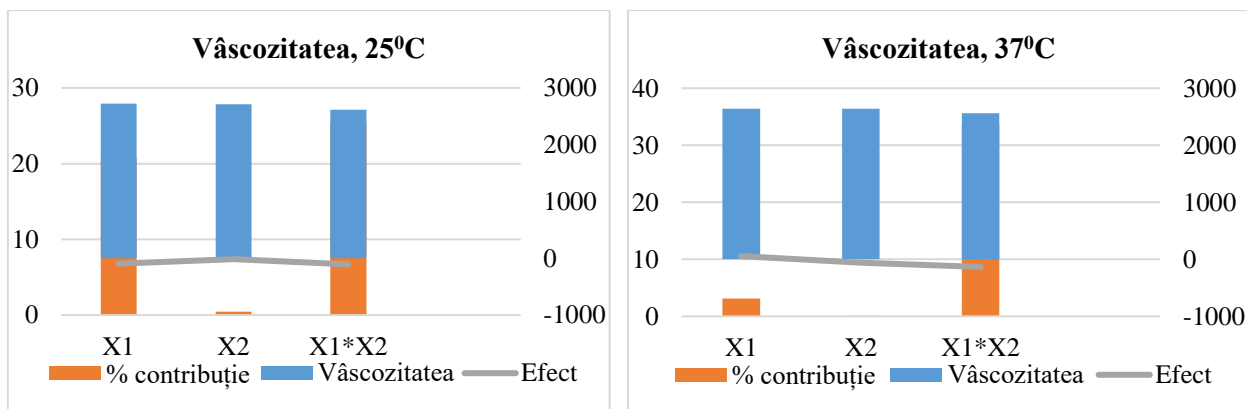
În studiile de optimizare s-a utilizat Design-Expert 7 Stat-Ease Software (Minneapolis, SUA). Datele experimentale au fost evaluate prin două modele: factorial și analiza suprafețelor de răspuns. S-a realizat evaluarea matricei de proiectare pentru ambele modele, analiza proceselor fiind efectuată prin corelarea rezultatelor și fitarea acestora (Tabelul A 9.1 și Figura A 9.1).

Graficele reziduale ale răspunsurilor obținute (Actual) față de răspunsurile prezise (Predicted) au arătat corelații de fitare satisfăcătoare (Figura A 9.2). Pentru analiza variațiilor a fost aplicat testul ANOVA, care a arătat, că rezultatele obținute sunt semnificative din punct de vedere statistic (Tabelul A 9.2).

Analiza rezultatelor obținute în procesul de optimizare a datelor a permis evaluarea gradului de influență a variabilelor independente asupra proprietăților formei farmaceutice: vâscozitate, difuzie și nivel de pH.

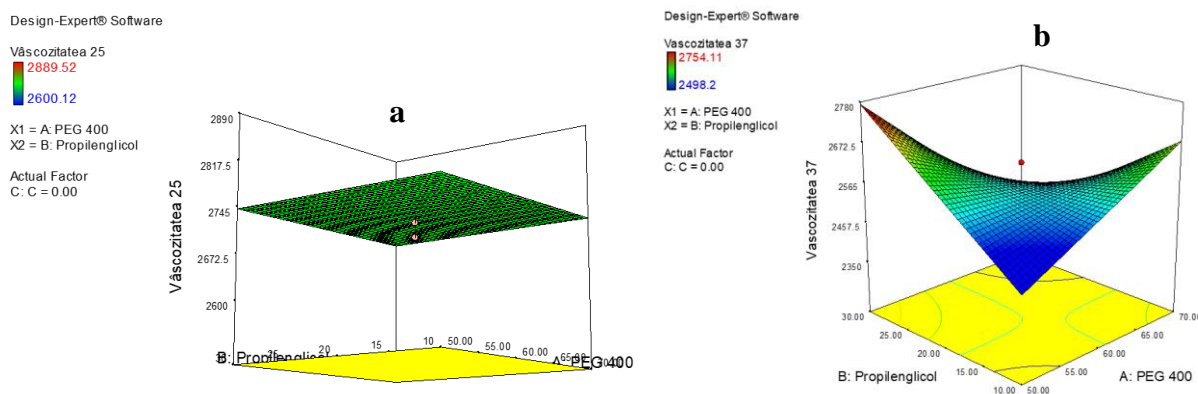
- *Influența variabilelor independente asupra vâscozității la cea mai mică viteză de forfecare, determinată la temperaturile de 25±0,1°C și 37±0,1°C.*

În urma rezultatelor obținute se poate constata că la ambele temperaturi, atât PEG 400, cât și PG au o influență negativă asupra vâscozității la cea mai mică viteză de forfecare pentru cele șase formulări (Figura 3.45 și Tabelul A 9.3). Doar că gradul de contribuție în menținerea vâscozității optime este mult mai mare pentru PEG 400 (20,683% la 25°C și 3,129% la 37°C) în comparație cu PG (0,4704% la 25°C și 0,0697% la 37°C).



**Fig. 3.45. Influența factorilor de formulare asupra vâscozității la  $25\pm 0,1^\circ\text{C}$  și la  $37\pm 0,1^\circ\text{C}$**

Analiza suprafețelor de răspuns relevă faptul că, valorile vâscozității la cea mai mică viteză de forfecare pentru toate formulările cresc odată cu mărirea concentrației de PEG 400 și micșorarea cantității de PG (Figura 3.46).

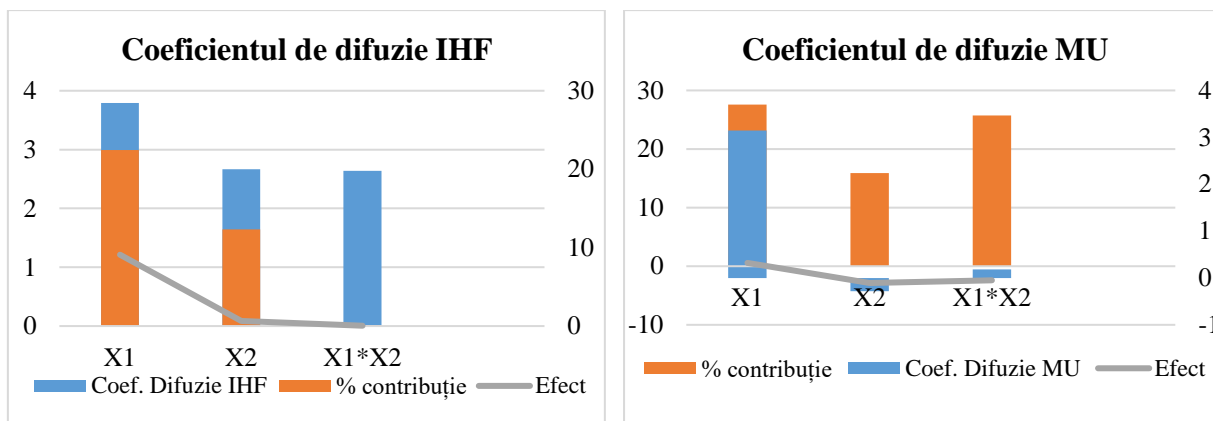


**Fig. 3.46. Suprafețele de răspuns ale factorilor de formulare și vâscozității (a –  $25\pm 0,1^\circ\text{C}$ ; b –  $37\pm 0,1^\circ\text{C}$ )**

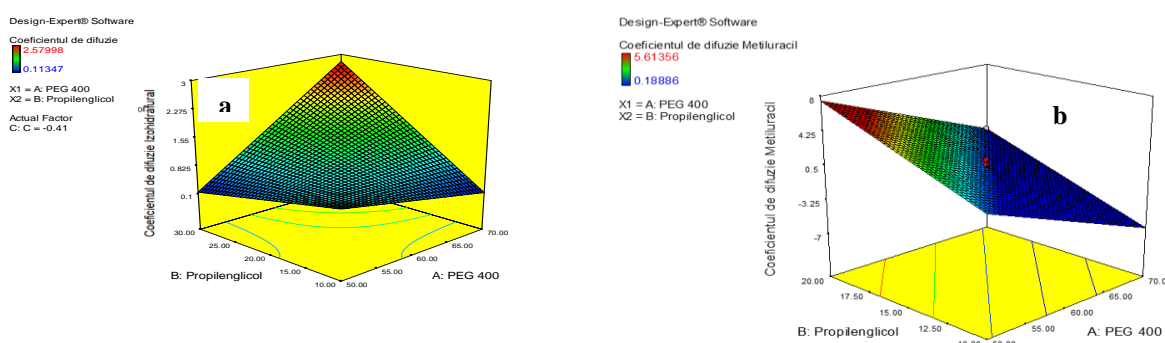
- *Influența variabilelor independente asupra coeficientului de difuzie a IHF și MU.*

Valorile coeficientului de difuzie pentru cele șase formulări diferă substanțial, fiind în corelare directă cu cantitatea de excipienți. S-a determinat, că atât PEG 400, cât și PG au o influență pozitivă asupra coeficientului de difuzie a IHF pentru cele șase formulări, cu o influență mai mare pentru PEG 400 (contribuție 22,42%) în comparație cu PG (contribuție 12,32%). Totodată, difuzia MU este influențată negativ de către PG (15,90%), iar PEG 400 are o influență pozitivă (27,58%) (Figura 3.47, Figura 3.48 și Tabelul A 9.4).

Analiza suprafețelor de răspuns confirmă că, la mărirea cantității de PG, coeficientul de difuzie a MU scade, fiind într-o ușoară creștere la mărirea cantității de PEG 400. Difuzia IHF are o tendință de creștere la mărirea cantităților ambilor excipienți pentru toate formulările (Figura 3.39).



**Fig. 3.47. Influența factorilor de formulare asupra coeficienților de difuzie a IHF și MU**



**Fig. 3.48. Suprafețele de răspuns ale factorilor de formulare și coeficienților de difuzie a IHF (a) și MU (b)**

#### *Influența factorilor de formulare asupra pH-ului.*

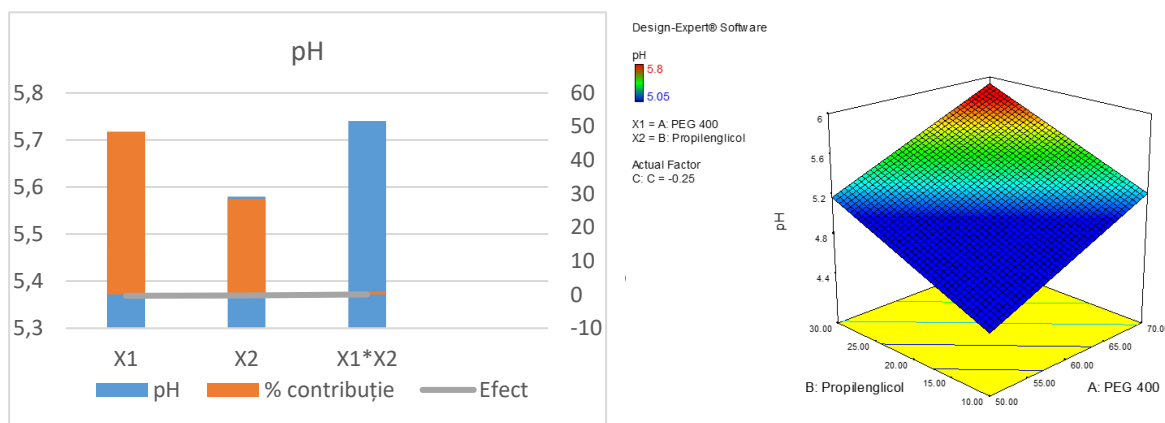
Studiile experimentale efectuate au arătat, că ambii excipienți au o influență negativă asupra pH-ului, acesta scade odată cu mărirea cantităților de PEG 400 (48,52% contribuție) și PG (28,47% contribuție), fapt confirmat și în urma analizei suprafețelor de răspuns (Figura 3.49 și Tabelul A 9.5).

Așa cum s-a observat din studiile de preformulare, în baza suprafețelor de răspuns a planurilor experimentale, pentru o formulare optimă este important să se determine cantitățile de PEG 400 și PG.

Compoziția optimizată a picăturilor auriculare, care include IHF și MU, a fost determinată folosind modulul de optimizare al programului Design Expert 7 (Tabelul 3.22).

**Tabelul 3.22. Formularea optimă a picăturilor auriculare combinate cu conținut de IHF și MU**

Variabile independente	Cantitatea, %
PEG 400 ( $X_1$ )	61,66
PG ( $X_2$ )	20,88



**Fig. 3.49. Influența factorilor de formulare asupra pH-ului și suprafețele de răspuns ale factorilor de formulare și pH-ul formei farmaceutice**

*Identificarea formulării optime de picături auriculare cu IHF și MU.*

Datele obținute sunt foarte apropiate de compoziția formulării F1, care a fost identificată ca una din cele mai optime și în studiile de preformulare.

Rezultatele teoretice și practice obținute și corelarea acestora sunt prezentate în Tabelul 3.23.

**Tabelul 3.23. Rezultatele teoretice și practice ale formulării optime de picături auriculare combinate cu conținut de IHF și MU**

Variabile dependente	Teoretic	Experimental	Eroarea estimată, %
Vâscozitate la 25±0,1 <sup>o</sup> C, cP	2752,64	2724,71	-0,0098
Vâscozitate la 37±0,1 <sup>o</sup> C, cP	2664,22	2698,90	0,0001
Coeficient de difuzie IHF, D*10 <sup>-3</sup> , cm <sup>2</sup> /oră	0,5257	0,5268	0,2092
Coeficient de difuzie MU, D*10 <sup>-3</sup> , cm <sup>2</sup> /oră	0,1397	0,1375	1,574
pH	5,3378	5,3360	-0,1461

Rezultatele experimentale obținute sunt foarte apropiate de valorile teoretice, confirmând astfel validitatea planului experimental utilizat. Rezultatele anticipării rezultatelor variabilelor dependente în funcție de factorii de formulare optimizați sunt redată în Tabelul A9.6.

*Tehnologia de preparare a picăturilor auriculare combinate cu conținut de IHF și MU.*

Forma medicamentoasă - picături auriculare combinate cu IHF și MU a fost preparată în conformitate cu cerințele monografiilor farmaceutice „Solutions”, „Suspensiones”, „Otoguttae” Ph.Eur. Tehnologia de preparare a fost elaborată pentru formularea optimă, ținându-se cont de proprietățile fizico-chimice ale substanțelor active și excipienților [322, 339, 296].

Procesul tehnologic a început cu etapele de pregătire a spațiilor, utilajului, substanțelor active și auxiliare: cântărirea, măsurarea volumelor de PEG 400 și PG, pregătirea soluției tampon acetat cu pH-ul 4,5-5,0 conform cerințelor Ph.Eur [54].



Încorporarea substanțelor medicamentoase: IHF se triturează la mojar cu volumul necesar de PEG-400 (60 ml) prin omogenizare atentă pentru incorporare sub formă de suspensie, se adaugă PG (20 ml) și MU, se omogenizează până la dizolvare completă. Suspensia obținută se transferă în cilindru gradat de 100 ml, prin spălarea pereților mojarului cu un volum mic de apă purificată. Ulterior se dizolvă conservantul (nipagină), se ajustează pH-ul cu soluție tampon acetat și se completează cu apă purificată până la volumul final (100 ml). Se amestecă (agită) bine până la omogenitate. Forma farmaceutică se prepară în condiții aseptice. La etapa finală se verifică calitatea, se ambalează în recipiente sterilizate și se etichetează (Anexa 6) [68].

### 3.4.2. Optimizarea și tehnologia picăturilor auriculare cu conținut de CIP, EC și UVB

Pentru determinarea compoziției optime a picăturilor combinate cu conținut de CIP, EC și ulei volatile de busuioc s-a utilizat designul factorial deplin  $3^2$  și analiza suprafețelor de răspuns [162]. În calitate de variabile independente s-au selectat conținutul de PEG 400 și PS (Tabelul 3.24).

**Tabelul 3.24. Valorile variabilelor independente utilizate în optimizarea formulării picăturilor auriculare combinate cu conținut de CIP, EC și UVB**

Denumirea variabilelor	Cantitatea, %		
	Nivelul de jos (-1)	Nivelul de bază (0)	Nivelul de sus (+1)
PEG 400 ( $X_1$ )	5	10	15
PS ( $X_2$ )	2	4	6

Parametrii utilizați în calitate de variabile dependente au fost selectați aceiași ca și la picăturile cu IHF și MU: vâscozitatea la cea mai mică viteză de forfecare, la temperaturile de  $25 \pm 0,1^\circ\text{C}$  și  $37 \pm 0,1^\circ\text{C}$ , pH-ul formei farmaceutice și coeficientul de difuzie a principiilor activi din forma farmaceutică prin membrana semipermeabilă.

Valorile experimentale obținute ale variabilelor dependente (răspunsurilor) sunt redată în Tabelul 3.25

**Tabelul 3.25. Rezultatele experimentale ale variabilelor dependente la optimizarea picăturilor cu CIP, EC și UVB**

Variabile dependente		Formulara			
		F1	F2	F3	F4
*Vâscozitatea la cea mai mică viteză de forfecare, $\text{cP} \cdot 10^2$	$25^\circ\text{C}$	2912,2	3705,9	3368,7	2303,6
	$37^\circ\text{C}$	2721,9	3354,1	3011,1	2294,2
*Coeficientul de difuzie a principiului activ la 45 min, $\text{D} \cdot 10^{-3}$ , $\text{cm}^2/\text{oră}$	CIP	0,04623	0,06726	0,20319	0,32277
	EC	0,06841	0,02615	0,04562	0,25742
pH		5,9	6,37	6,02	5,3

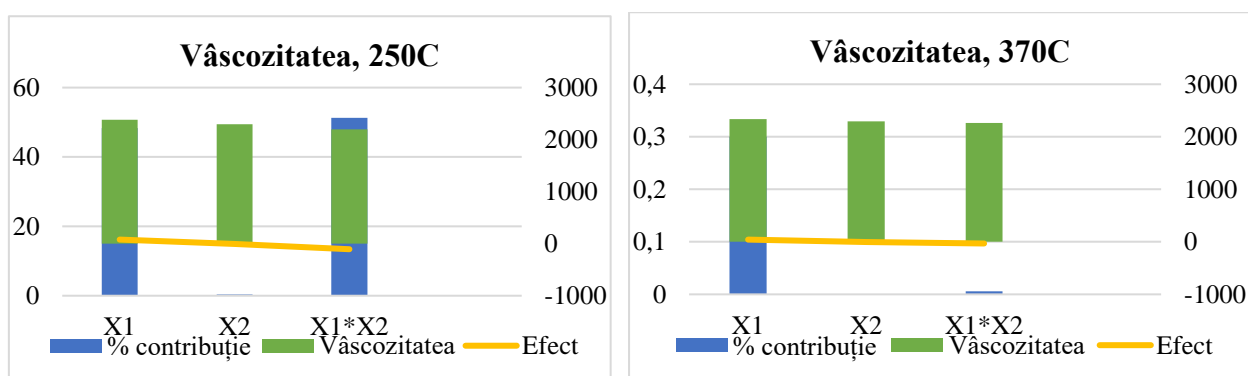
Notă: \* valori medii,  $n=6$  pentru fiecare formulare

Designul de optimizare a fost analogic ca și la formularea și IHF și MU. (Figura A 10.1).

Graficele reziduale ale răspunsurilor obținute (Actual) față de răspunsurile prezise (Predicted) au arătat corelații de fitare satisfăcătoare (Tabelul A.10.1 și Figura A 10.2). Pentru analiza variațiilor a fost aplicat testul ANOVA, care a arătat, că rezultatele obținute sunt semnificative din punct de vedere statistic (Tabelul A.10.2). Analiza rezultatelor obținute în procesul de optimizare a datelor a permis evaluarea gradului de influență a variabilelor independente asupra proprietăților formei farmaceutice: vâscozitate, difuzie și nivel de pH.

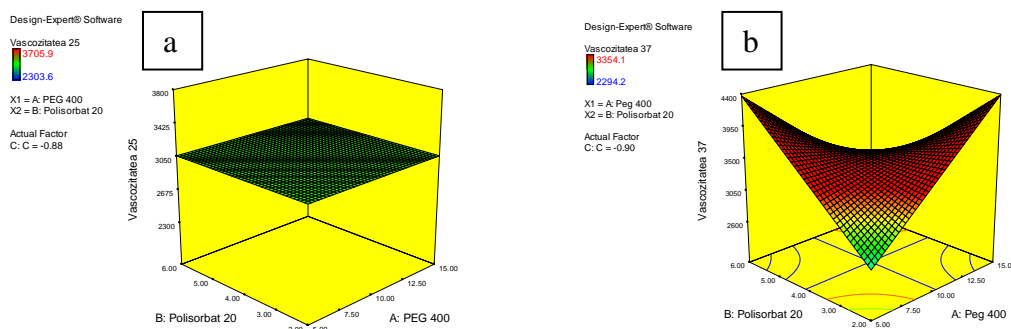
*Influența variabilelor independente asupra vâscozității picăturilor auriculare cu CIP, EC și UVB la cea mai mică viteză de forfecare, determinată la temperaturile de  $25\pm 0,1^{\circ}\text{C}$  și  $37\pm 0,1^{\circ}\text{C}$ .*

În urma rezultatelor obținute se poate constata că la temperatura de  $25\pm 0,1^{\circ}\text{C}$ , PEG 400 manifestă un efect pozitiv asupra vâscozității la cea mai mică viteză de forfecare, pe când PS are o influență negativă asupra vâscozității pentru cele patru formulări (Figura 3.50 și Tabelul A 10.3). Gradul de contribuție în menținerea vâscozității optime este mult mai mare pentru PEG 400 (48,358% la  $25^{\circ}\text{C}$  și 0,3001% la  $37^{\circ}\text{C}$ ) în comparație cu PS (0,3486% la  $25^{\circ}\text{C}$  și 0,0004% la  $37^{\circ}\text{C}$ ).



**Fig. 3.50. Influența factorilor de formulare asupra vâscozității la  $25\pm 0,1^{\circ}\text{C}$  și la  $37\pm 0,1^{\circ}\text{C}$**

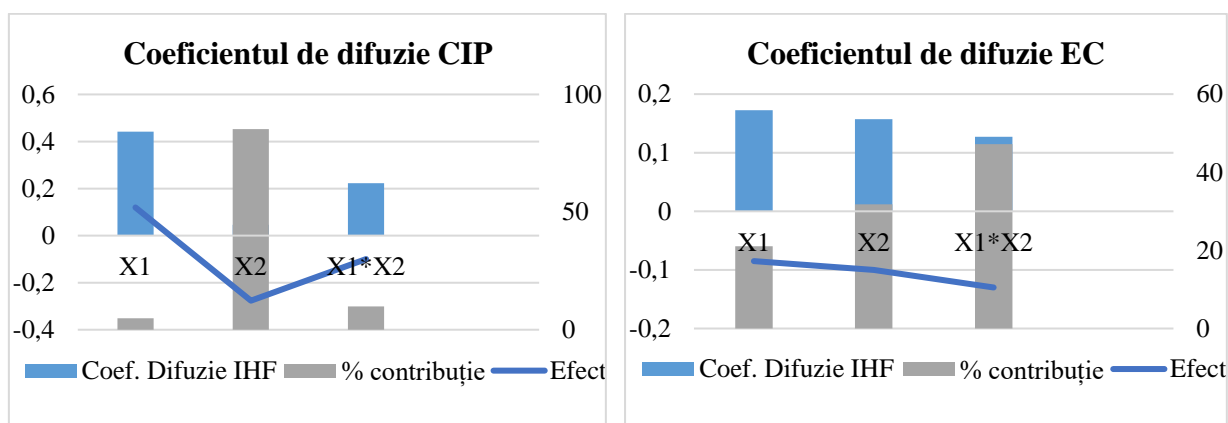
Analiza suprafețelor de răspuns relevă faptul că, valorile vâscozității la cea mai mică viteză de forfecare pentru toate formulările cresc odată cu mărirea concentrației de PEG 400 și micșorarea cantității de PS (Figura 3.51).



**Fig. 3.51. Suprafețele de răspuns ale factorilor de formulare și vâscozității (a –  $25\pm 0,1^{\circ}\text{C}$ ; b –  $37\pm 0,1^{\circ}\text{C}$ )**

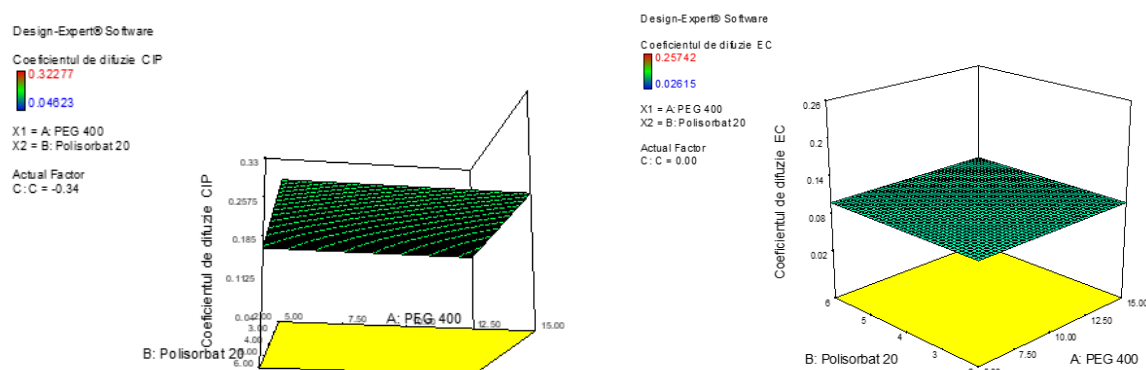
### *Influența variabilelor independente asupra coeficienților de difuzie a CIP și EC.*

Rezultatele determinărilor au arătat, că valorile coeficientului de difuzie pentru cele patru formulări sunt în corelare directă cu cantitatea de excipienți și diferă substanțial. S-a determinat, că PEG 400 are o influență pozitivă, iar PS – o influență negativă asupra coeficientului de difuzie a CIP pentru cele patru formulări, cu o influență mai mare pentru PS (contribuție 85,22%) în comparație cu PEG 400 (contribuție 4,86%). Totodată, difuzia EC este influențată negativ de către ambele variabile: PS cu o contribuție de 31,78%, iar PEG 400 cu o contribuție de 2,02%) (Figura. 3.52, Figura 3.53 și Tabelul A 10.4).



**Fig. 3.52. Influența factorilor de formulare asupra coeficienților de difuzie a CIP și EC**

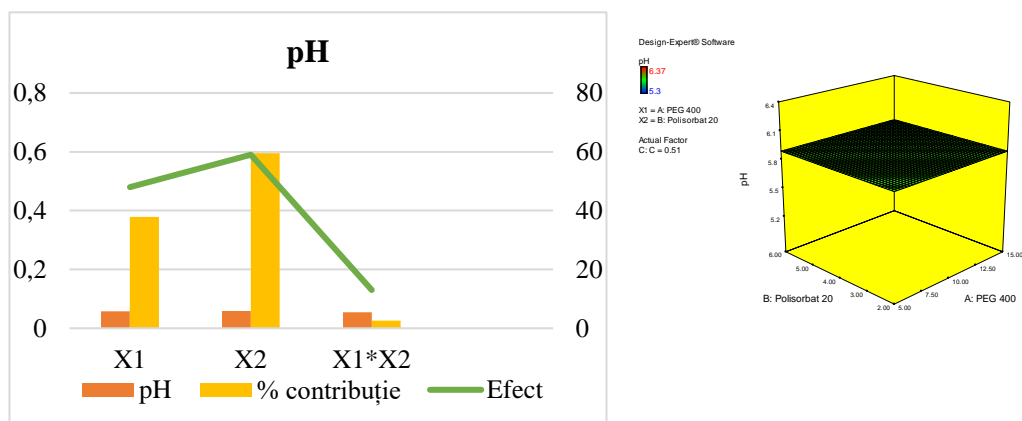
Analiza suprafețelor de răspuns confirmă că, la mărirea cantității de PS, coeficientul de difuzie a CIP scade, fiind într-o ușoară creștere la mărirea cantității de PEG 400. Difuzia EC are o tendință de micșorare la mărirea cantităților ambilor excipienți pentru toate formulările (Figura 3.53).



**Fig. 3.53. Suprafețele de răspuns ale factorilor de formulare și coeficienților de difuzie a CIP și EC**

### *Influența factorilor de formulare asupra pH-ului formei farmaceutice.*

Studiile experimentale efectuate au arătat, că ambii excipienți au o influență pozitivă asupra pH-ului, acesta crește odată cu mărirea cantităților de PEG 400 (37,9% contribuție) și PS (59,47% contribuție), fapt confirmat și în urma analizei suprafețelor de răspuns (Figura 3.54 și Tabelul A 10.5).



**Fig. 3.54. Influența factorilor de formulare și suprafețele de răspuns ale pH-ului formei farmaceutice**

*Identificarea formulării optime de picături auriculare cu CIP, EC și UVB.*

Așa cum s-a observat din studiile de preformulare, în baza suprafețelor de răspuns a planurilor experimentale, pentru o formulare optimă este important să se determine cantitățile de PEG 400 și PS. Compoziția optimizată a picăturilor auriculare, care include CIP, EC și UVB, a fost determinată folosind modulul de optimizare al programului Design Expert 7 (Tabelul 3.26).

**Tabelul 3.26. Formularea optimă a picăturilor auriculare combinate cu conținut de CIP, EC și UVB**

Variabile independente	Cantitatea, %
PEG 400 ( $X_1$ )	10,84
PS ( $X_2$ )	4,44

Rezultatele teoretice și practice obținute sunt prezentate în Tabelul 3.27

**Tabelul 3.27. Rezultatele teoretice și practice ale formulării optime de picături auriculare combinate cu conținut de CIP, EC și UVB**

Variabile dependente	Teoretic	Experimental	Eroarea estimată, %
Vâscozitate la $25 \pm 0,1^\circ\text{C}$ , cP	3072,60	3073,86	-1,00
Vâscozitate la $37 \pm 0,1^\circ\text{C}$ , cP	2845,32	2843,99	0,047
Coeficient de difuzie CIP, $D \cdot 10^{-3}$ , $\text{cm}^2/\text{oră}$	0,1598	0,1479	-7,447
Coeficient de difuzie EC, $D \cdot 10^{-3}$ , $\text{cm}^2/\text{oră}$	0,0994	0,1010	1,6096
pH	5,1501	5,2852	2,6233

Rezultatele experimentale obținute sunt foarte apropiate de valorile teoretice, confirmând astfel validitatea planului experimental utilizat. Formularea optimală selectată pentru studiile analitice și de standardizare a fost F4, cu cele mai optimale valori ale parametrilor cercetați. Rezultatele anticipării rezultatelor variabilelor dependente în funcție de factorii de formulare

optimizați sunt redade în Tabelul A10.6.

*Tehnologia de preparare a picăturilor auriculare combinate cu conținut de CIP, EC și UVB.*

Forma medicamentoasă - picături auriculare combinate cu CIP, EC și UVB a fost preparată în conformitate cu cerințele monografiilor farmaceutice „*Solutiones*”, „*Suspensiones*”, „*Otoguttae*” Ph.Eur. Tehnologia de preparare a fost elaborată pentru formularea optimă, ținându-se cont de proprietățile fizico-chimice ale substanțelor active și excipienților.

Procesul tehnologic a început cu etapele de pregătire a spațiilor, utilajului, substanțelor active și auxiliare: cântărirea, măsurarea volumelor de PEG 400 și PS, pregătirea soluției tampon acetat cu pH-ul 4,5-5,0 conform cerințelor Ph.Eur.

Încorporarea substanțelor medicamentoase: se amestecă PS împreună cu ulei de busuioc, se obține emulsia primară; se omogenizează bine. La emulsia primară se adaugă în proporții mici EC (până la dizolvarea completă). Separat se amestecă ciprofloxacina cu nipagina și PEG 400 cu circa 1/3 din apă (câte puțin în câteva prize) și se omogenizează bine; această soluție obținută se adaugă în prize mici la primul amestec, se omogenizează și apoi se adaugă restul apei până la volumul final (100 ml). Se măsoară pH-ul suspensiei și dacă este cazul, acesta este ajustat cu ajutorul soluției tampon fosfat cu pH=6,0 (ad 1 ml) până la pH-ul convenit 5,0-7,5. Se amestecă bine până la omogenitate. Forma farmaceutică se prepară în condiții aseptice. La etapa finală se verifică calitatea, se ambalează în recipiente sterilizate și se etichetează (Anexa 6).

### 3.5. Optimizarea și tehnologia de obținere a capsulelor combinate

Pentru determinarea compoziției optime a capsulelor operculate cu conținut de NIC, PIR și EP s-a utilizat designul factorial deplin  $3^2$  [162].

În calitate de variabile independente s-au selectat conținutul de LM și SM (Tabelul 3.28).

**Tabelul 3.28. Valorile variabilelor independente utilizate în optimizarea formulării capsulelor combinate cu conținut de NIC, PIR și EP**

Denumirea variabilelor	Cantitatea, %		
	Nivelul de jos (-1)	Nivelul de bază (0)	Nivelul de sus (+1)
Lactoză monohidrat ( $X_1$ )	46	48	50
Stearat de magneziu ( $X_2$ )	0,4	0,5	0,6

Parametrii utilizați în calitate de variabile dependente au fost selectați în baza criteriului de importanță în procesul de preformulare a capsulelor operculate: indicele Carr, indicele Hausner și constantele de dizolvare ale NIC și PIR în mediu acid.

Valorile experimentale obținute ale variabilelor dependente (răspunsurilor) sunt redade în Tabelul 3.29.

**Tabelul 3.29. Rezultatele experimentale ale variabilelor dependente**

Variabile dependente		Formulara			
		F1	F2	F3	F4
*Indicele Carr, %		16,67	28,57	23,33	18,18
*Constanta de dizolvare	NIC	0,0322	0,0237	0,0023	0,0303
	PIR	0,01495	0,0146	0,0115	0,0170
*Indicele Hausner		1,21	1,38	1,30	1,22
<i>Notă: * valori medii, n=6 pentru fiecare formulare</i>					

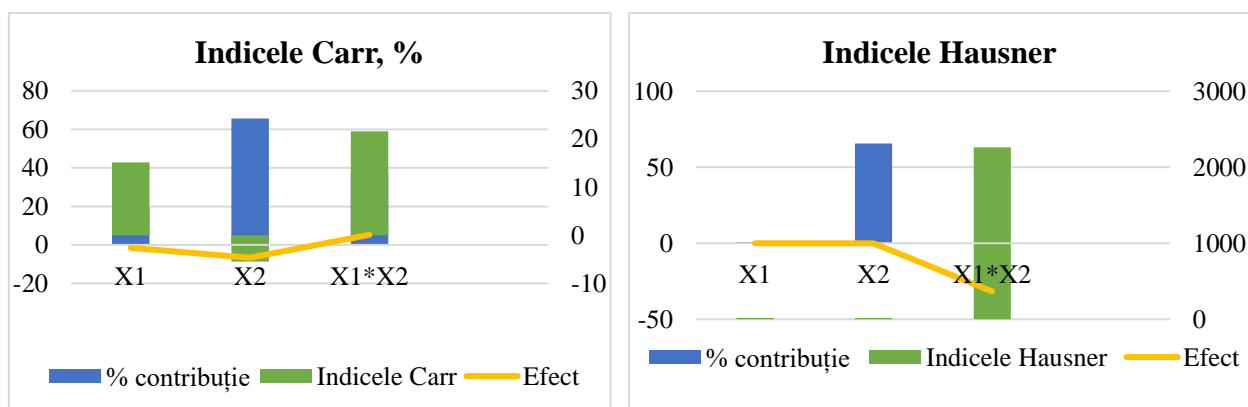
În studiile de optimizare s-a utilizat Design-Expert 7 Stat-Ease Software (Minneapolis, SUA). Datele experimentale au fost evaluate prin două modele: factorial și suprafețe de răspuns. S-a realizat evaluarea matricei de proiectare pentru ambele modele, analiza proceselor fiind efectuată prin corelarea rezultatelor și fitarea acestora (Figura A 11.1).

Graficele reziduale ale răspunsurilor obținute (Actual) față de răspunsurile prezise (Predicted) au arătat corelații de fitare satisfăcătoare (Tabelul A11.1 și Figura A 11.2). Pentru analiza variațiilor a fost aplicat testul ANOVA, care au arătat, că rezultatele obținute sunt semnificative din punct de vedere statistic. (Tabelul A. 11.2).

Analiza rezultatelor obținute în procesul de optimizare a datelor a permis evaluarea gradului de influență a variabilelor independente asupra proprietăților formei farmaceutice: indicele Carr, indicele Hausner și constanta de dizolvare.

- *Influența variabilelor independente (lactoză monohidrat și stearat de magneziu) ca factori de formulare asupra parametrilor tehnologici: indicele Carr și indicele Hausner.*

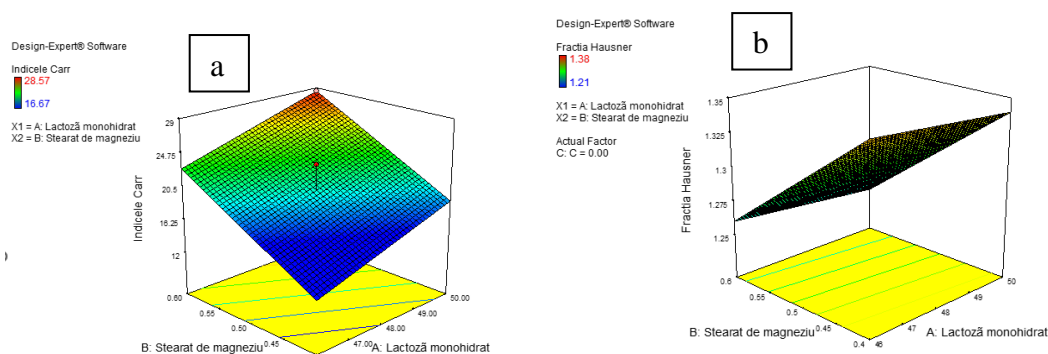
În urma rezultatelor obținute se poate constata că cantitățile de LM și SM manifestă un efect negativ asupra indicelui Carr, pentru cele patru formulări (Figura 3.55 și Tabelul A 11.3). Gradul de contribuție în asigurarea unei compresivități optimale este mult mai mare pentru SM (65,58%) în comparație cu LM (18,73%).



**Fig. 3.55. Influența factorilor de formulare asupra indicilor Carr și Hausner**

Analiza suprafețelor de răspuns relevă faptul că, valorile Indicelui Carr pentru toate

formulările cresc odată cu mărirea concentrației de SM, ce poate duce la o compactare mai mare a materialului și la o diminuare a capacității de debitare a acestuia, iar la mărirea cantității de LM acesta înregistrează o creștere mai pronunțată, ceea ce ar putea duce la o mai bună fluidizare a amestecului și la o îmbunătățire a caracteristicilor de reținere a apei în produsul final (Figura 3.56).



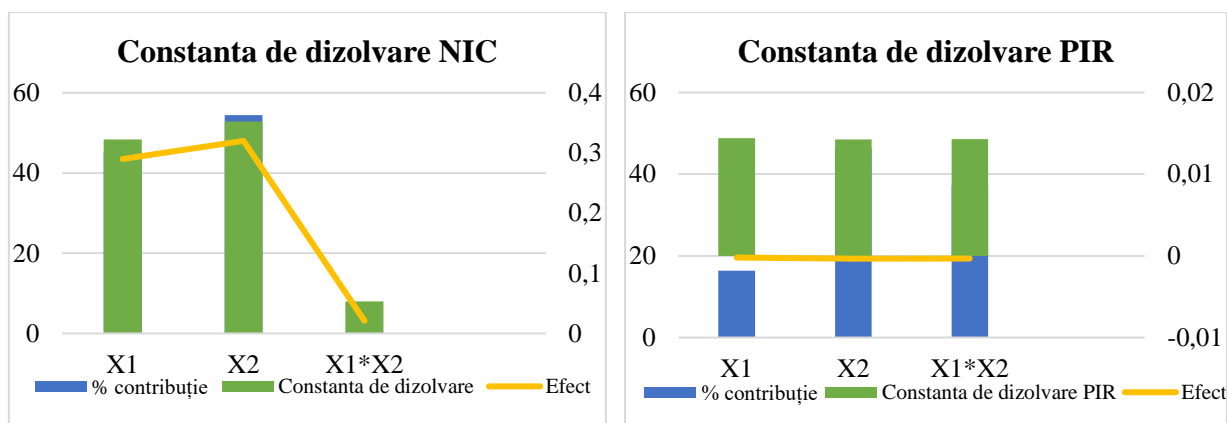
**Fig. 3.56. Suprafețele de răspuns ale factorilor de formulare și ale indicilor Carr (a) și Hausner (b)**

- *Influența variabilelor independente asupra constantelor de dizolvare ale NIC și PIR.*

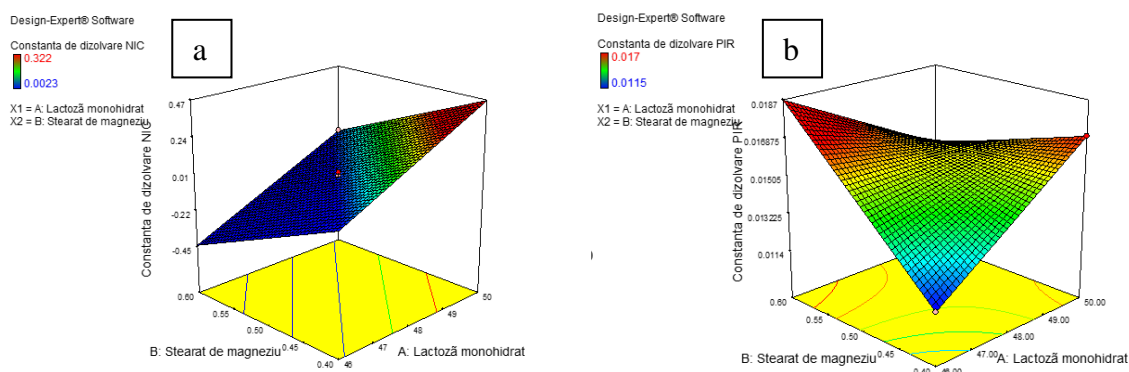
Rezultatele determinărilor au arătat, că valorile constantelor de dizolvare pentru cele patru formulări sunt în corelare directă cu cantitatea de excipienți și diferă substanțial, deoarece excipienții selectați în calitate de variabile independente (LM și SM) pot influența procesul de dizolvare prin diverse mecanisme, cum ar fi creșterea solubilității substanțelor active, modificarea ratei de dispersie ale acestora sau influențarea proprietăților de suprafață. Astfel, variațiile în cantitatea de excipienți pot determina diferențe semnificative în comportamentul de dizolvare al formulărilor, ceea ce poate avea un impact important asupra eficacității și biodisponibilității medicamentului. S-a determinat, că LM are o influență pozitivă asupra constantei de dizolvare a NIC și influență negativă asupra constantei de dizolvare a PIR, cu o influență mai mare NIC (contribuție 45,32%) în comparație cu influența asupra dizolvării PIR (contribuție 16,34%). SM manifestă o influență pozitivă asupra constantelor de dizolvare ale ambelor substanțe pentru cele patru formulări, cu o influență mai mare la NIC (contribuție 54,44%) în comparație cu PIR (contribuție 46,29%). Astfel, este clar, că anume SM influențează în mare parte dizolvarea ambelor principii active din formulări (Figura 3.56, Figura 2.19 și Tabelul A 11.4).

Analiza suprafețelor de răspuns confirmă că, la mărirea cantității de SM, procesul de dizolvare ale ambelor principii active este mai lent, fapt explicat prin formarea de straturi hidrofobe care încetinesc eliberarea principiilor active în mediu gastric. Astfel, optimizarea conținutului de stearat de magneziu în formularea selectată de capsule combinate va fi esențială pentru asigurarea unei biodisponibilități și eficacități optime a produsului (Figura 3.57). Mărirea conținutului de LM va face procesul de dizolvare mai lent, deoarece aceasta poate forma un strat mai dens sau poate

îngreuna dispersia particulelor de principii active în lichidul gastric, ceea ce poate întârzia eliberarea și, implicit, acțiunea medicamentului. Este important să se ia în considerare acest aspect în formularea capsulelor combinate, pentru a asigura o eliberare eficientă și consistentă a NIC și PIR (Figura 3.58).



**Fig. 3.57. Influența factorilor de formulare asupra constantelor de dizolvare ale NIC și PIR**



**Fig. 3.58. Suprafețele de răspuns ale factorilor de formulare și ale constantelor de dizolvare ale NIC (a) PIR (b)**

Compoziția optimizată a capsulelor operculate combinate, care include NIC, PIR și EP, a fost determinată folosind modulul de optimizare al programului Design Expert 7 (Tabelul 3.30).

**Tabelul 3.30. Formularea optimă a capsulelor combinate cu conținut de NIC, PIR și EP**

Variabile independente	Cantitatea, %
Lactoză monohidrat ( $X_1$ )	47,64
Stearat de magneziu ( $X_2$ )	0,46

Rezultatele teoretice și practice obținute sunt prezentate în Tabelul 3.31.

Rezultatele experimentale obținute sunt foarte apropiate de valorile teoretice, confirmând astfel validitatea planului experimental utilizat. Formularea optimală selectată (tabelul 3.31) pentru studiile analitice și de standardizare a fost F1, cu cele mai optimale valori ale parametrilor cercetați.



Rezultatele anticipării rezultatelor variabilelor dependente în funcție de factorii de formulare optimizați sunt redate în Tabelul A11.5.

**Tabelul 3.31. Rezultatele teoretice și practice ale formulării optime de picături auriculare combinate cu conținut de NIC, PIR și EP**

Variabile dependente	Teoretic	Experimental	Eroarea estimată, %
Indicele Carr, %	23,8397	23,3684	-1,9769
Indicele Hausner	1,3085	1,3036	-0,3744
Const. de diz. NIC, min <sup>-1</sup>	0,060388	0,06187	2,4541
Const. de diz. PIR, min <sup>-1</sup>	0,0156898	0,015354	-2,1352

*Tehnologia de preparare a capsulelor operculate combinate cu conținut de NIC, PIR și EP.*

**Tabelul 3.32. Componența formulării optimale selectate**

Denumirea materiei prime	Cantitatea, mg	Condiții de calitate
Nicergolină	4,5	Ph. Eur.
Piracetam	200,0	Ph. Eur.
Extract uscat de păducel	50,0	Ph. Eur.
Stearat de magneziu	2,5	Ph. Eur.
Amidonglicolat de sodiu	2,5	Ph. Eur.
Lactoză monohidrat	240,5	Ph. Eur.
<b>TOTAL</b>	<b>500,0 mg</b>	

Prepararea capsulelor operculate este un proces complex și precis care implică mai multe etape. Pentru a asigura o dozare precisă, este important, ca amestecul de pulberi introdus în capsule să aibă o fluiditate adecvată, astfel încât să permită umplerea rapidă și uniformă a acestora. Dimensiunea particulelor trebuie adaptată la tipul de dispozitiv de umplere și la dimensiunile capsulelor. Ideal ar fi ca particulele să fie cât mai uniforme în mărime. Fluiditatea amestecului a fost asigurată de adăugarea stearatului de magneziu. Pentru umplerea capsulelor operculate, s-a folosit dispozitivul numit “gelulier”, care este de obicei utilizat pentru umplerea manuală a capsulelor în condiții de farmacie. Gelulierul este format dintr-o placă prevăzută cu orificii în care se introduc capsulele operculate goale. Cu ajutorul unei manete se ridică căpăcelele apoi cu o pâlnie dozatoare este introdus amestecul de încapsulare, după care maneta secționează în sens invers și căpăcelele sunt readuse pe corpul capsulelor realizându-se închiderea lor [63].

Capsulele au fost preparate în condiții de laborator (3 serii). Ulterior, procesul tehnologic a fost ajustat pentru condiții industriale și elaborat Regulamentul tehnologic de producere (Anexa 8). Prepararea și condiționarea pulberilor în capsule operculate s-a efectuat în condiții aseptice.

Înainte de a începe producția capsulelor, a fost formulat amestecul sub formă de pulbere de substanțe medicamentoase și excipienți, cântăriți în cantități necesare pentru obținerea a 100 de capsule. Pulberea a fost triturată și omogenizată la mojar până la un amestec uniform. Pentru

încapsulare s-au utilizat capsule gelatinoase tari de mărimea 0, transparente, grad farmaceutic, fabricate fără conservanți, fără aditivi, fără gluten sau organisme modificate genetic; lot nr. 20110865 (Roxlor LLC Company). Capsulele goale, alcătuite din două părți - corp și capac - sunt alimentate în dispozitivul de încapsulare cu distribuirea amestecului de pulbere în capsulele goale. După aceasta, cele două părți ale capsulelor sunt unite împreună, sigilând conținutul în interiorul capsulei. După încapsulare, capsulele sunt supuse unei inspecții riguroase pentru a asigura că sunt sigilate corect și că nu prezintă defecte sau contaminări. Se efectuează, de asemenea, teste pentru a verifica cantitatea de substanță activă și pentru a evalua uniformitatea dozelor între capsule. Capsulele sigilate și verificate sunt ambalate în flacoane de sticlă, și etichetate corespunzător.

Capsulele elaborate au fost supuse controlului calității și standardizate în conformitate cu reglementările în vigoare ICH, Ph Eur. [347]. Schema fluxului tehnologic a întrunit principalele etape ale procesului de fabricație (Anexa 8).

### **Sinteza capitolului 3**

Pe piața farmaceutică autohtonă nu există niciun preparat combinat auricular cu acțiune antibacteriană și regenerantă. Totodată, se constată un număr destul de redus de produse farmaceutice antifungice pentru tratamentul otomicozelor. Pe piața farmaceutică a Republicii Moldova există doar 3 preparate medicamentoase de import, monocomponente, care se prezintă sub formă de unguente și creme. Combinații dintre antibacteriene și antifungice auriculare nu sunt. Preparatele vasodilatatoare și nootrope sunt destul de variate, doar că în combinație se regăsesc doar 2 poziții (PIR cu cinarizină și cu vinpocetină). Combinații ale vasodilatatoarelor, nootropelor cu antioxidanți la fel nu există. Aceste studii argumentează actualitatea temei investigate și justifică selectarea obiectelor de studiu.

În conformitate cu metodologia de cercetare abordată, studiile de preformulare au debutat cu evaluarea compatibilității principiilor active între ele și cu excipienții pentru fiecare formă farmaceutică elaborată. Compatibilitatea a fost determinată prin aplicarea metodelor DSC și FT-IR la picăturile auriculare, care s-au completat reciproc, furnizând date despre lipsa interacțiunilor dintre principiile active, și nici ale acestora cu excipienții. Pentru capsulele combinate, suplimentar la metodele DSC și FT-IR, s-a mai aplicat și analiza prin difracție cu raze X, care la fel, a arătat că NIC, PIR și EP sunt compatibile.

Pentru stabilirea compozițiilor optime, s-au elaborat 6 formule experimentale de picături auriculare cu IHF și MU, și câte 4 de picături cu CIP, EC și UVB și capsule cu NIC, PIR și EP, în care cantitatea de principii active a fost identică, variind doar compoziția și cantitățile de substanțe auxiliare. Formulările de picături au fost testate după parametrii reologici (vâscozitate și tensiunea de forfecare), pH și cedarea principiilor active, care a fost testată *in vitro*, prin membrane artificială (polimerică

semipermeabilă) și naturale (intestin și ureche de porc). Studiile au arătat, că formulările se prezintă sub formă de lichide ne-Newtoniene și pseudo plastice, cu caracter tixotrop. Ph-ul formulărilor a fost stabilizat cu ajutorul soluțiilor tampon. A fost stabilită viteza de permeație a substanțelor medicamentoase în stare staționară și determinate constantele de difuzie pentru IHF, MU, CIP și EC din formulările testate. Evaluarea formulărilor experimentale de capsule s-a efectuat după parametrii tehnologici (indicii Carr și Hausner) și după profilurile de dizolvare a NIC și PIR din capsule în medii acid și neutru, cu evaluarea cineticii dizolvării (constantele de dizolvare ale NIC și PIR). Rezultatele obținute în aceste cercetări au fost folosite pentru studiile de optimizare a formulelor de picături auriculare și de capsule cu aplicarea Software Design Expert.

Pentru determinarea compoziției optimale a formelor combinate s-a utilizat designul factorial deplin  $3^2$  și analiza suprafețelor de răspuns. În calitate de variabile independente la picăturile combinate au servit factorii de formulare (cantitățile de PEG 400, PG și PS la picăturile auriculare și cantitățile de lactoză monohidrat și stearat de magneziu la capsule), iar în calitate de variabile dependente au fost stabilite vâscozitatea la  $25^{\circ}\text{C}$  și la  $37^{\circ}\text{C}$ , pH-ul și coeficientul de difuzie a substanțelor active IHF, MU, CIP, EC la picături, și indicele Carr, fracția Hausner și constanta de dizolvare a NIC și PIR la capsule. S-a realizat evaluarea matricei de proiectare pentru ambele modele, analiza proceselor fiind efectuată prin corelarea rezultatelor și fitarea acestora. Graficele reziduale ale răspunsurilor obținute față de răspunsurile prezise au arătat corelații de fitare satisfăcătoare, iar testul ANOVA de analiză a variațiilor a arătat, că rezultatele obținute sunt semnificative din punct de vedere statistic. La picăturile auriculare se constată, că valorile vâscozității la cea mai mică viteză de forfecare pentru toate formulările cresc odată cu mărirea concentrației de PEG 400 și micșorarea cantităților de PG sau PS, cantitatea de PEG 400 în mare măsură determină procesul de difuzie prin creșterea coeficientului, pe când PG și PS îl scad. Valorile pH-ului picăturilor cresc odată cu mărirea concentrațiilor de excipienți. La capsule, se atestă o creștere a valorilor indicelui Carr la mărirea concentrației de SM. Tor SM în mare măsură influențează și procesul de dizolvare a ambelor substanțe, micșorând constanta de dizolvare.

În urma acestor studii ample, au fost selectate compozițiile optimale de picături auriculare și capsule, pentru care a fost elaborat procesul tehnologic cu stabilirea etapelor de formulare.

Cercetările care au vizat elaborare a tehnologiilor de preparare ale picăturilor auriculare și capsulelor combinate au stat la baza elaborării Regulamentelor Tehnologice de producere pentru produsele: picături auriculare combinate „Izofural M” cu conținut de UHF și MU; picături auriculare combinate „Otocibex” cu conținut de CIP, EC și UVB; capsule combinate „Otoneurex” cu conținut de NIC, PIR și EP.

## **4. ANALIZA ȘI STANDARDIZAREA FORMELOR FARMACEUTICE ELABORATE: PICĂTURI AURICULARE ȘI CAPSULE COMBinate**

### **4.1. Analiza picăturilor auriculare cu conținut de IHF și MU**

Studiile de elaborare a metodelor de analiză pentru formele farmaceutice combinate elaborate s-au bazat pe abordarea sistemică și metodologia de control a calității, care are ca temelie cercetarea multilaterală substanțelor active: proprietăți fizico-chimice, metode de identificare și dozare, precum și controlul purității substanțelor individuale [293].

Au fost luate în considerare și metodele de analiză a substanțelor active în alte forme farmaceutice [66, 345, 200]. Totodată, s-a ținut cont de metodele aplicate pentru analiza și controlul calității substanțelor active din alte tipuri de forme farmaceutice, pentru aprecierea posibilităților de selectare a tehnicilor de lucru. [29, 353, 284, 313, 327, 344, 323].

Trei serii experimentale (01, 02, 03) de picături auriculare cu conținut de IHF și MU au fost preparate în LEASM al CȘM, cu concentrație de IHF 0,05 g/ 100 g și MU 2,00 g/100 g.

#### ***4.1.1. Identificarea principiilor active prin reacții chimice și metode fizico-chimice.***

##### ***Studii de puritate.***

Identificarea IHF și MU prin reacții chimice de culoare s-a efectuat pentru substanță pură, amestec mecanic (1:1) și formă farmaceutică după grupele funcționale prezente în structura moleculelor cercetate.

Pentru analiza s-au utilizat: soluție NaOH 0,1 mol/l; soluție N,N-dimetilformamidă; alcool etilic 96 %; soluție alcoolică  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$  1 %; soluție de amoniac 10 %; eprubete de 10 și 15 ml; pipete de 1, 2 și 5 ml.

##### ***Reacții calitative pentru IHF.***

#### **I. Reacția cu soluție de bază (sensibilitatea 20 μg/ml)**

Tehnică de lucru: La 0,025 mg de substanță pură, sau la 0,05 g de amestec mecanic din IHF și MU (1:1), sau la 5 ml soluție (picături auriculare) se adaugă câte 2 ml soluție NaOH 0,1 mol/l. În rezultatul reacțiilor se obține colorație roșu-brun pentru substanța pură; brună pentru amestec mecanic și galben-oranj pentru IHF din forma farmaceutică.

#### **II. Reacția cu soluție de N,N-dimetilformamidă (sensibilitatea 20 μg/ml)**

Tehnică de lucru: La 0,025 mg de substanță pură, sau la 0,05 g de amestec mecanic din IHF și MU (1:1), sau la 5 ml soluție (picături auriculare) se adaugă câte 2 ml soluție N,N-dimetilformamidă. În rezultatul reacțiilor se obține colorație oranj cu fluorescență pentru substanța pură; galben pentru amestec mecanic și gălbuie pentru IHF din forma farmaceutică.

*Reacții calitative pentru MU.*

III. Reacția cu soluție alcoolică de  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$  (sensibilitatea 10  $\mu\text{g}/\text{ml}$ )

Tehnică de lucru: La 0,05 g de substanța pură, sau la 0,01 g de amestec mecanic din IHF și MU (1:1), sau la 5 ml soluție (picături auriculare) se adaugă câte 5-6 picături de etanol 96% și se încălzește cu atenție timp de 30 de secunde. După răcire se adaugă câte 3 picături de soluție alcoolică 1%  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$  și câte 2 picături de soluție de  $\text{NH}_3$ . În rezultatul reacțiilor se obține colorație albastră pentru substanța pură; albastru întunecat pentru amestec mecanic și albastru-verzui pentru MU din forma farmaceutică.

Rezultatele reacțiilor de culoare sunt prezentate în tabelele A12.1 și A12.2

*Identificarea IHF și MU și determinarea purității formei farmaceutice prin metoda CSS.*

Pentru determinările CSS au fost utilizate fazele mobile: cloroform-acetonă (70:30), 1-butanol-eter dietilic-acetonă (10:85:5), etilacetat-hexan (2:1), acid acetic glacial-apă-butanol (1:1:4), cloroform-metanol-acid acetic glacial (90:8:8), cloroform-metanol-acid acetic glacial (95:10:2). În cadrul analizei au fost elaborate patru tehnici de lucru, care au fost aplicate inițial pe substanțele individuale.

Tehnică de lucru 1. 200 mg de substanța medicamentoasă se dizolvă în 10 ml de dimetilformamidă adăugată, se agită timp de 30 min. Cu ajutorul microseringii pe liniile de start a plăcilor se aplică câte o picătură de soluție obținută, astfel încât diametrul spotului să fie de 0,5-1 cm. Plăcile se usucă atent timp de 10 min și se introduc în camere de cromatografiere, separate, cu utilizarea fazelor mobile: **a**) cloroform-acetonă (70:30); **b**) 1-butanol-eter dietilic-acetonă (10:85:5) și **c**) etilacetat-hexan (2:1). Plăcile se scot din camere după ce amestecul de solvenți ajunge la linia frontului (0,5-0,7 mm de la marginea plăcii). Pentru sistemul de dezvoltare **a** se realizează vizualizarea plăcii în lumină ultravioletă la lungimea de undă de 254 nm pentru identificarea IHF, iar pentru identificarea MU placa se pulverizează cu soluție 1% de p-dimetilaminobenzaldehidă într-un amestec de acid clorhidric și alcool metilic (1: 3). Pentru sistemul **b** revelarea se realizează în mod identic, prin vizualizarea plăcii în lumina ultravioletă la lungimea de undă de 254 nm. Pentru sistemul **c** placa se pulverizează cu soluție de piridină și se analizează în lumina ultravioletă la lungimea de undă 366 nm.

Tehnică de lucru 2. 500 mg de substanța medicamentoasă se dizolvă în 50 ml de amestec de apă și acid acetic glacial (1: 1) și se filtrează. 0,02 ml din soluția obținută (200  $\mu\text{g}$ ) se aplică pe placă cromatografică cu ajutorul microseringii. Placa se usucă și se introduce în camera cromatografică cu faza mobilă cloroform-metanol-acid acetic glacial (95:10:2). Revelarea se realizează prin pulverizare cu soluție 1% de p-dimetilaminobenzaldehidă în soluție de acid sulfuric.

Tehnică de lucru 3. 100 mg de probă se dizolvă în 1 ml de acid formic 99,7 %, la care se

adaugă 1 ml apă și se amestecă. 0,5 ml de soluție se diluează cu apă până la 250 ml. Pe linia de start a plăcii din silicagel se aplică 5 μl soluției de analizat cu ajutorul microsiringii. În calitate de faza mobilă servește amestecul de acid acetic glacial-apă-butanol (1:1:4). Revelarea are loc prin vizualizarea plăcii în lumina ultravioletă la lungimea de undă 254 nm.

Tehnică de lucru 4. 100 mg de probă se dizolvă în 10 ml de amestec din acetonă-apă (1:1) cu agitare puternică. Cu ajutorul microsiringii pe linia de start a plăcii se aplică 5 μl soluției de analizat. În calitate de faza mobilă se folosește amestec de cloroform - metanol- acid acetic glacial (90:8:8). Placa este vizualizată în lumină ultravioletă la lungimea de undă 254 nm după pulverizarea cu soluție de 1 % de p-dimetilaminobenzaldehidă în acid sulfuric.

Rezultatele analizelor cromatografice sunt redată în tabelul 4.1.

**Tabelul 4.1. Rezultatele analizei prin cromatografie pe strat subțire a substanțelor individuale**

	IHF	MU
<b>Faza mobilă</b> cloroform-acetonă (70:30) 1-butanol-eter dietilic- acetonă (10:85:5)	Spot galben-oranj cu fluorescență în lumina UV la lungimea de undă 254 nm. <b>Rf</b> = 0,32 <b>Rf</b> = 0,27	Spoturi nedeterminate.
<b>Faza mobilă</b> acid acetic glacial- apă- butanol (1:1:4)	Spoturi nedeterminate.	Spoturi nedeterminate.
<b>Faza mobilă</b> cloroform - metanol- acid acetic glacial (90:8:8)	Spoturi nedeterminate.	Spot roșu după pulverizare cu sol. de p-dimetilaminobenzaldehidă în acid sulfuric și vizualizare la lungimea de undă 254 nm. <b>Rf</b> = 0,87
<b>Faza mobilă</b> cloroform - metanol – acid acetic glacial (95:10:2)	Spot roz la pulverizare cu sol. 1% de p dimetilaminobenzaldehidă în acid sulfuric. <b>Rf</b> = 0,78	Spoturi nedeterminate.
<b>Faza mobilă</b> etilacetat-hexan (2:1)	Spot roșu la pulverizare cu soluție de piridină și vizualizarea în UV la lungimea de undă 366 nm. <b>Rf</b> =0,37	Spot roșu la pulverizare cu soluție de piridină și vizualizarea în UV la lungimea de undă 254 nm. <b>Rf</b> = 0,72

Rezultatele analizelor efectuate au demonstrat, că numai faza mobilă etilacetat-hexan (2:1) asigură posibilitatea detectării ambelor substanțe. Din aceste considerente pentru analiza calitativă a compușilor în amestec mecanic și formă farmaceutică a fost utilizată faza mobilă menționată.

Tehnică de lucru pentru cromatografierea amestecului mecanic. 200 mg de amestec mecanic se dizolvă în 10 ml de dimetilformamidă, se agită timp de 30 min. Cu ajutorul microsiringii pe linia de start a plăcii se aplică o picătură de soluție, astfel încât diametrul spotului să fie de 0,5-1 cm. Placa se usucă atent timp de 10 min și se introduce în camera de cromatografiere. Când solventul se ridică până la linia front placa se scoate, se usucă și se pulverizează cu soluție de piridină. Vizualizarea are loc în lumina ultravioletă la  $\lambda = 254$  nm și 366 nm.

Tehnică de lucru pentru cromatografierea picăturilor auriculare. 2 ml de picături auriculare se diluează cu apă în raport 1:1. Cu ajutorul microseringii pe linia de start a plăcii se aplică o picătură de soluție, astfel încât diametrul spotului să fie de 0,5-1 cm. Placa se usucă atent timp de 10 min și se introduce în camera de cromatografiere. Când solventul se ridică până la linia front placa se scoate, se usucă și se pulverizează cu soluție de piridină și se vizualizează în lumina ultravioletă la  $\lambda=254$  nm și 366 nm. Rezultatele analizelor cromatografice sunt redată în tabelul 4.2.

**Tabelul 4.2. Rezultatele analizei prin CSS a amestecului mecanic și formei farmaceutice**

	Amestec mecanic (1:1)		Forma farmaceutică	
	IHF	MU	IHF	MU
<b>Faza mobilă</b> etilacetat- hexan (2:1)	Spot roșu la pulverizare cu sol. piridină și vizualizarea în UV la $\lambda=366$ și 254 nm. $R_f = 0,37$	Spot roz la pulverizare cu sol. piridină și vizualizarea în UV la $\lambda=254$ nm. $R_f = 0,72$	Spot roșu la pulverizare cu sol. piridină și vizualizarea în UV la $\lambda=366$ și 254 nm. $R_f = 0,35$	Spot roz la pulverizare cu sol. piridină și vizualizarea în UV la $\lambda=254$ nm. $R_f = 0,7$

Metoda CSS a fost aplicată pentru identificarea substanțelor medicamentoase IHF și MU în forma farmaceutică) prin măsurarea factorului de retenție  $R_f$  cu utilizarea fazei mobile etilacetat-hexan (2:1) și compararea lui cu substanțele individuale. În rezultatul analizei efectuate s-a determinat că valorile  $R_f$  ale compuşilor în forma medicamentoasă și substanțele pure sunt foarte apropiate și permit identificarea lor la prezența concomitentă [321].

Aprecierea purității formei farmaceutice s-a efectuat prin excluderea apariției spoturilor suplimentare pe cromatogramele soluțiilor probă de picături auriculare.

*Identificarea și determinarea purității picăturilor auriculare prin spectrofotometrie UV-VIS.*

Determinarea purității picăturilor auriculare combinate poate fi efectuată prin metoda spectrală concomitent cu procesul de identificare prin compararea spectrelor UV-VIS ale probelor cu cele ale soluțiilor standard [33].

Spectrele UV-VIS ale soluțiilor probe trebuie să conțină aceleași maxime de absorbție precum în cazul soluțiilor standard ale substanțelor medicamentoase. Spectrele UV-VIS ale probelor de IHF 5  $\mu\text{g/ml}$ , MU 10  $\mu\text{g/ml}$  emise în regiunea 230-450 nm au prezentat un maxim de absorbție specific IHF: la  $373 \pm 1$  nm și 1 maxim de absorbție caracteristic MU: la  $267 \pm 1$  nm, fiind înregistrate și pe spectrele UV-VIS al soluțiilor standard de substanțe medicamentoase (Figura 4.1 și Tabelul 4.3) [340].

**Tabelul 4.3. Valorile maximelor de absorbție ale substanțelor medicamentoase din picături**

Picături auriculare combinate	Substanța medicamentoasă	Solventul	Lungimea de undă maximă de absorbție, nm
IHF și MTU	IHF	Dimetilformamidă	$373 \pm 1$
	MU		$269 \pm 1$

#### 4.1.2. Dozarea spectrofotometrică a principiilor active

Pentru analiza s-au utilizat: balanța electronică OHAUS DV215 C, pipete de 0,5; 1 și 2 ml, baloane cotate de 10, 25 și 50 ml, spectrofotometru UV-VIS Agilent 8453.

*Pregătirea probei de IHF.* 1 ml de picături auriculare obținute se plasează într-un balon cotate de 10 ml și se aduce la cotă cu dimetilformamidă. 1 ml din această soluție se aduce până la 10 ml cu solvent.

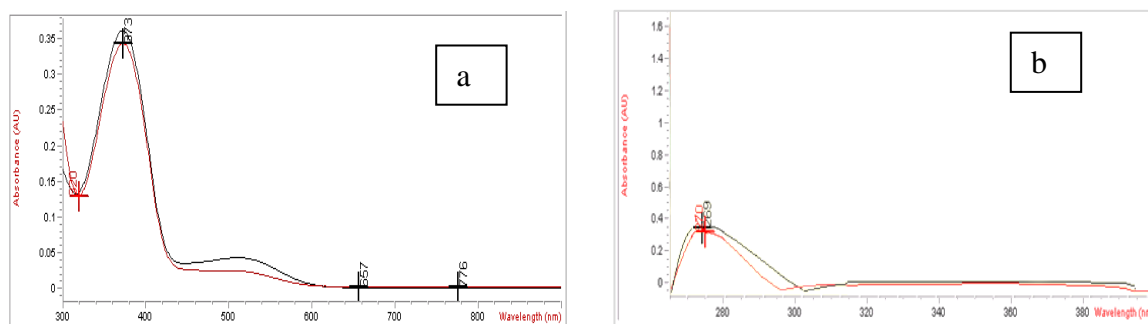
*Pregătirea probei de MU.* 0,125 ml de picături auriculare obținute se transferă într-un balon cotate de 25 ml și se aduce la cotă cu dimetilformamidă. 1 ml din această soluție se aduce până la 10 ml cu solvent.

*Pregătirea soluției standard de IHF (5 μg/ml).* 0,005 g (masă exactă) de substanță standard de IHF se plasează într-un balon cotate cu capacitatea 50 ml, se adaugă 15 ml dimetilformamidă. Se agită până la dizolvare și se aduce la cotă cu același solvent. 2,5 ml de soluție obținută se transferă într-un balon cotate de 50 ml și se aduce la semn cu același solvent.

*Pregătirea soluției standard de MU (10 μg/ml).* 0,025 g (masă exactă) de substanță standard de MU se plasează într-un balon cotate cu capacitatea 25 ml, se adaugă 10 ml dimetilformamidă. Se agită până la dizolvare și se aduce la cotă cu același solvent. 0,5 ml de soluție obținută se transferă într-un balon cotate de 50 ml și se aduce la semn cu același solvent.

*Pregătirea soluției placebo:* substanțele auxiliare PEG-400, PG, nipagină, sol.tampon acetat și apă purificată în cantitățile stipulate din capitolul 3. 1,0 ml de amestec se transferă într-un balon cotate de 10 ml și se aduce la cotă cu dimetilformamidă. 1 ml din această soluție se aduce până la 10 ml cu solvent.

Tehnică de lucru: Se înregistrează spectrele UV-Vis ale soluțiilor standard și probe și se citește valoarea absorbanțelor la  $\lambda_{\max}$  (Figura 4.1). În calitate de soluție de referință a servit soluția placebo.



**Fig. 4.1** Spectrele de absorbție UV-VIS ale soluțiilor standard și probă de IHF 5μg/ml (a) și ale soluțiilor standard și probă de MU 10μg/ml în DMFA (b) din picături combinate cu IHF și MU



**Tabelul 4.4. Rezultatele determinării cantitative a IHF și MU din picături auriculare prin metoda spectrofotometrie UV-VIS.**

IHF						MU					
Seria 01		Seria 02		Seria 03		Seria 01		Seria 02		Seria 03	
A	C, g	A	C, g	A	C, g	A	C, g	A	C, g	A	C, g
0.4077	0.0498	0.4183	0.0511	0.4225	0.0516	0.6915	1.9915	0.6925	1.9945	0.6921	1.9933
0.4012	0.0490	0.4222	0.0516	0.4224	0.0516	0.6901	1.9875	0.6917	1.9922	0.6921	1.9933
0.4013	0.0490	0.4187	0.0511	0.4223	0.0516	0.6927	1.9950	0.6922	1.9936	0.6922	1.9937
0.4011	0.0490	0.4243	0.0518	0.4123	0.0503	0.6890	1.9844	0.6977	2.0095	0.6965	2.0060
0.4013	0.0490	0.4182	0.0511	0.4223	0.0516	0.6984	2.0114	0.6923	1.9940	0.6941	1.9991
0.4100	0.0501	0.4183	0.0511	0.4223	0.0516	0.6985	2.0118	0.6924	1.9941	0.6935	1.9974

IHF a prezentat absorbția la lungimea de undă 373 nm, MU – 269 nm. În total s-au efectuat câte 6 determinări pentru trei serii de picături auriculare (Tabelul 4.4). Valorile conținutului de IHF și MU s-au situat în limita abaterilor admisibile ( $\bar{X}$ =0,051; SD=0,00044; RSD<1,0; P>0,05, tabelul A12.3).

#### ***4.1.3. Elaborarea și validarea metodei HPLC de dozare a IHF și MU din picături auriculare***

Substanțe chimice: acid acetic, acetat de sodiu, acid clorhidric, hidroxid de sodiu, peroxid de hidrogen apos de calitate analitică 30% Riedel-de-Haen, Reag. Ph. Eur., Germania și metanol de calitate HPLC au fost achiziționați de la Honeywell (Riedel-de-Haen, pentru HPLC, grad de gradient,  $\geq 99,9\%$ , Franța).

Metoda analitică a fost dezvoltată folosind un sistem de cromatografie lichidă de înaltă performanță (Shimadzu-20A cu detector UV-VIS (Japonia). Ingredientele active (IHF și MU) au fost separate pe o coloană Teknokroma C1 5 $\mu$ m (150\* 4,6mm), detector UV-Vis.

Condiții de separare cromatografică: faza mobilă a fost preparată prin amestecarea metanolului cu apă purificată în raport de 60:40 în volum, filtrarea soluției s-a efectuat sub vid printr-un filtru de capron Millipore XF 5423050 (0,45  $\mu$ m) și degazare în DONAU-LAB SONIC DLS 660 T/H. Temperatura coloanei cromatografice a fost de 30°C; volum de injecție 20  $\mu$ l; debit fază mobilă – 0,6 ml/min; eluare izocratică. Lungimile de undă ale detectorului au fost setate la 360 nm pentru IHF și 244 nm pentru MU. Timpul de retenție a fost de 4,3 min pentru IHF și 3,5 min pentru MU.

#### **Dezvoltarea și validarea metodei.**

*Prepararea soluției standard IHF:* Cantitatea adecvată de IHF (5 mg) a fost cântărită cu precizie și transferată într-un balon cotat de 25 ml, apoi dizolvată și diluată la marcaj cu fază mobilă metanol: apă (60:40) (prin încălzire și agitare pe baie cu ultrasunete). 0,5 ml din soluția

obținută se diluează cu același solvent la 10 ml pentru a obține o soluție cu concentrație cunoscută de aproximativ 10 µg/ml.

*Prepararea soluției standard de MU:* cantitatea adecvată de MU (200 mg) a fost cântărită cu precizie și transferată într-un balon cotate de 25 ml, apoi dizolvată și diluată până la semn cu fază mobilă metanol:apă (60:40). 0,5 ml din soluția obținută se diluează cu același solvent la 10 ml pentru a obține o soluție cu o concentrație cunoscută de aproximativ 400 µg/ml.

*Prepararea soluției de probă farmaceutică:* 1,0 ml de picături se transferă într-un balon cotate de 50 ml și se diluează cu fază mobilă metanol : apă (60:40).

*Prepararea soluției placebo:* Toți excipienții fără substanțele active au fost amestecați în cantitățile prevăzute pentru prepararea formei farmaceutice finite. 1,0 ml din amestecul placebo se transferă într-un balon cotate de 50 ml și se diluează cu fază mobilă metanol:apă (60:40).

*Controlul utilității sistemului cromatografic:* Înainte de efectuarea analizei, coloana cromatografică se stabilizează cu fază mobilă timp de 10 min, apoi se cromatografiază 20 µl de soluții standard până se obțin timpii de retenție stabiliți (4,3 min și 3,5 min) după două injecții consecutive; se obțin cel puțin 3 cromatograme pentru fiecare soluție standard. Sistemul cromatografic este considerat util atunci când: performanța coloanei, calculată prin vârfulurile IHF și MU, este de cel puțin 2000 de plăci teoretice; coeficientul de asimetrie a vârfului, calculat la ½ din înălțimea vârfului, nu depășește 1,5; abaterea standard relativă a zonei vârfului nu depășește 2,0%.

*Studii de degradare forțată.* Aceste studii au fost efectuate pentru a verifica dacă metoda propusă este capabilă să separe substanțele medicamentoase de substanțele înrudite chimic formate la degradare. Forma farmaceutică a fost supusă diferitelor condiții de stres accelerat: iradiere cu lumină UV, temperatură, hidroliză acidă, hidroliză bazică și stres oxidativ.

Prepararea probei pentru hidroliza acidă: se amestecă 3,0 ml de formă farmaceutică cu 3,0 ml de soluție de acid clorhidric 1 M, se agită bine timp de 3 ore pe o baie de apă la 70°C.

Pregătirea probei pentru hidroliza bazică: 3,0 ml de formă farmaceutică se amestecă cu 3,0 ml de soluție de hidroxid de sodiu 1 M, se agită bine timp de 3 ore pe o baie de apă la 70°C.

Pregătirea probei pentru stres oxidativ: 3,0 ml de formă farmaceutică se amestecă cu 3,0 ml de soluție de peroxid de hidrogen 5%, se agită bine timp de 6 ore la 25°C.

Pregătirea probei pentru stres termic: forma farmaceutică a fost plasată într-un termostat la 60°C timp de 1 lună.

Pregătirea probei pentru expunerea la lumină: 5,0 ml de formă farmaceutică au fost expuse la lumină UV (254 nm) timp de 7 zile.

După expunerea la diverși factori nocivi, probele de 0,5 ml au fost diluate cu fază mobilă la un volum de 25 ml (s-au obținut concentrații de 10 µg/ml IHF și 400 µg/ml MU), filtrate prin

filtre cu membrană de 0,22  $\mu\text{m}$  și supuse cromatografiei prin metoda propusă.

**Determinarea cantitativă.** Fiecare 20  $\mu\text{l}$  de soluție probă și soluții standard au fost cromatografiate, obținându-se cel puțin 5 cromatograme din fiecare soluție în aceleași condiții indicate mai sus. Au fost apoi determinate valorile medii ale zonelor de vârf IHF și MU în cromatogramele soluției de probă ( $S_{\text{an}}$ ) și soluțiilor standard ( $S_{\text{st}}$ ). Cromatogramele soluțiilor standard cu concentrații de 10  $\mu\text{g/ml}$  IHF și 400  $\mu\text{g/ml}$  MU, soluția probă și soluția placebo sunt prezentate în figura 4.2 și figura 4.3. Conținutul de IHF și MU în formă farmaceutică ( $X_g$ ) a fost calculat conform standardelor.

Metoda a fost validată conform ghidului ICH [124].

**Liniaritate.** Linearitatea metodei cromatografice a fost evaluată în intervalul 8,0–12,0  $\mu\text{g/ml}$  pentru IHF și 320,0 – 480,0  $\mu\text{g/ml}$  pentru MU, utilizând soluții de cinci niveluri de concentrație. Linearitatea a fost evaluată prin analiza de regresie liniară (Tabelul 4.5). Ecuația de regresie a fost calculată pentru fiecare curbă. Au fost preparate trei serii independente de soluții standard de lucru (la cinci niveluri de concentrație diferite) de IHF și MU. Determinările au fost efectuate în triplicat, fiind construită curba de calibrare.

**Tabelul 4.5. Analiza de regresie în studiile de linearitate**

<b>Parametrii statistici</b>	<b>IHF</b>	<b>MU</b>
Nivel de semnificație, $\alpha$	0,05	0,05
Număr de determinări	30	30
$R^2$	0.99987	0.99988
R	0.99993	0.99994
Deviația standard, s	318255.9	4420162.5
Panta, a	201269.6	70017.5
Intercepția, b	-318216.4	235891.1

**Sensibilitate (LOQ și LOD).** Limita de detecție (LOD) și limita de cuantificare (LOQ) a IHF și MU au fost determinate prin analiza soluțiilor de substanță și măsurarea raportului semnal-zgomot cu valori RSD ( $n = 3$ ) mai mici de 10%.

**Acuratețe.** Pentru a determina acuratețea metodei de testare HPLC pentru IHF și MU, metoda de adausului standard (îmbogățirea probei) a fost utilizată prin analizarea soluțiilor în triplicat cu concentrații de 80%, 100% și 120% (8,0  $\mu\text{g/ml}$ , 10  $\mu\text{g/ml}$ , 12, 0  $\mu\text{g/ml}$  pentru IHF și 320  $\mu\text{g/ml}$ , 400  $\mu\text{g/ml}$ , 480  $\mu\text{g/ml}$  pentru MU) și a fost calculată recuperarea procentuală a cantității de substanță, valoarea RSD fiind evaluată pentru fiecare nivel de concentrație (Tabelul A12.4 ) [124].

**Precizie.** Determinarea preciziei metodei s-a realizat prin evaluarea repetabilității pentru 6 probe, la nivelul de concentrație al substanței medicamentoase de 100%, în aceeași zi, cu respectarea aceluiași condiții (Tabelul A12.5) și preciziei intermediare, care s-a determinat

efectuând 6 determinări în 2 zile diferite, în aceleași condiții: același laborator, de către diferiți operatori, folosind diferite echipamente și într-un anumit interval de timp (Tabel A12.6).

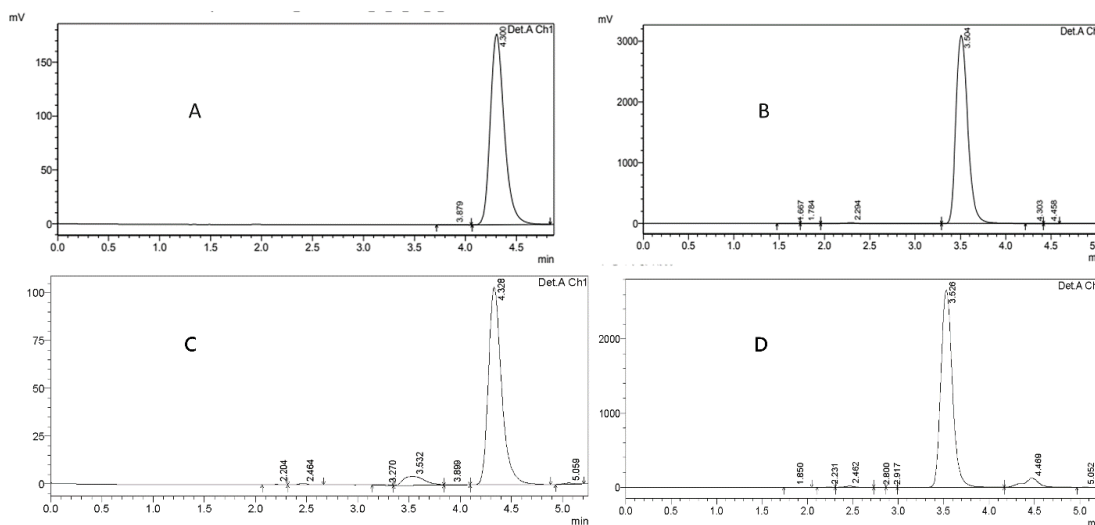
**Robustețe.** Robustețea a fost determinată prin varierea următoarelor condiții cromatografice: debitul fazei mobile cu  $\pm 0,1$  ml/min, cantitatea de acetonitril în faza mobilă cu  $\pm 2\%$  și temperatura coloanei cu  $\pm 5^\circ\text{C}$  [124] (Tabelul A12.7).

**Specificitate.** Specificitatea metodei a fost evaluată prin analiza cromatogramelor picăturilor și a soluției placebo (Figurile 4.2 și 4.3). Această analiză a fost efectuată pentru a verifica absența oricărui semnal de la excipienți la timpii de retenție ai compușilor activi.

**Analize statistice.** Analiza statistică a fost efectuată utilizând software-ul Statistical Package for the Social Sciences (IBM SPSS Statistics 26).

#### *Dezvoltarea și optimizarea metodei.*

O bună separare a vârfurilor IHF și MU a fost observată când se utilizează metanol și apă ca fază mobilă în raport de 60:40 și debit de 0,6 ml/min. Timpul total de rulare a fost de 5,5 minute. Temperatura optimă a coloanei cromatografice a fost de  $30^\circ\text{C}$ . În condiții optimizate, timpii de retenție au fost  $4,305 \pm 0,016$  min pentru MU și, respectiv,  $3,500 \pm 0,006$  min pentru IHF. Metoda dezvoltată a permis analiza a două ingrediente active în picături într-un singur test (Figurile 4.2 și 4.3).

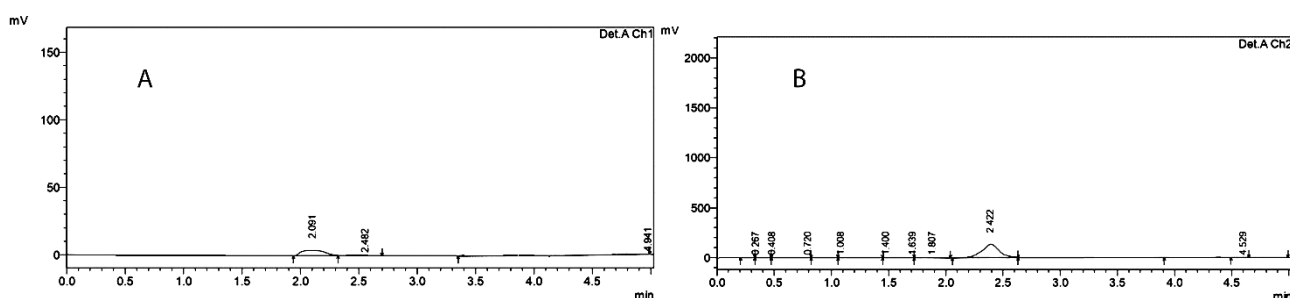


**Fig. 4.2 Cromatogramele soluțiilor standard și probă: IHF (A, 360 nm) și MU (B, 240 nm) la 360 nm (IHF, C) și 240 nm (MU, D)**

Rezultatele studiului de liniaritate au arătat o relație liniară în intervalul de concentrație de 8-12  $\mu\text{g/ml}$  pentru IHF și 320-480  $\text{pg/ml}$  pentru MU. Pentru a evalua acuratețea rezultatelor obținute în analiza de regresie, a fost efectuată analiza reziduală. Distribuția reziduurilor poate fi considerată normală deoarece valoarea probabilității pentru testul Shapiro-Wilk este mai mare decât valoarea de 0,05. Rezultatele analizei de regresie sunt prezentate în Tabelul 4.5.

Parametrii de calibrare indică o liniaritate bună: coeficienții de corelație (R) și coeficientul

de determinare ( $R^2$ ) sunt mai mari de 0,9999 pentru ambele substanțe. A fost testată semnificația statistică a coeficienților de regresie. Atât în curba de calibrare pentru IHF, cât și pentru MU, interceptia nu este semnificativ diferită de zero ( $p > 0,05$ ).



**Fig. 4.3. Cromatogramele soluției placebo la 360 nm (A) și 240 nm (B)**

Limita de detectare și limita de cuantificare (LOD și LOQ). Rezultatele determinărilor au arătat un LOD de 0,5478 pg/ml pentru IHF; 8,3795 pg/ml pentru MU; LOQ de 1,6600  $\mu$ g/ml pentru IHF și, respectiv, 25,3926  $\mu$ g/ml pentru MU [98].

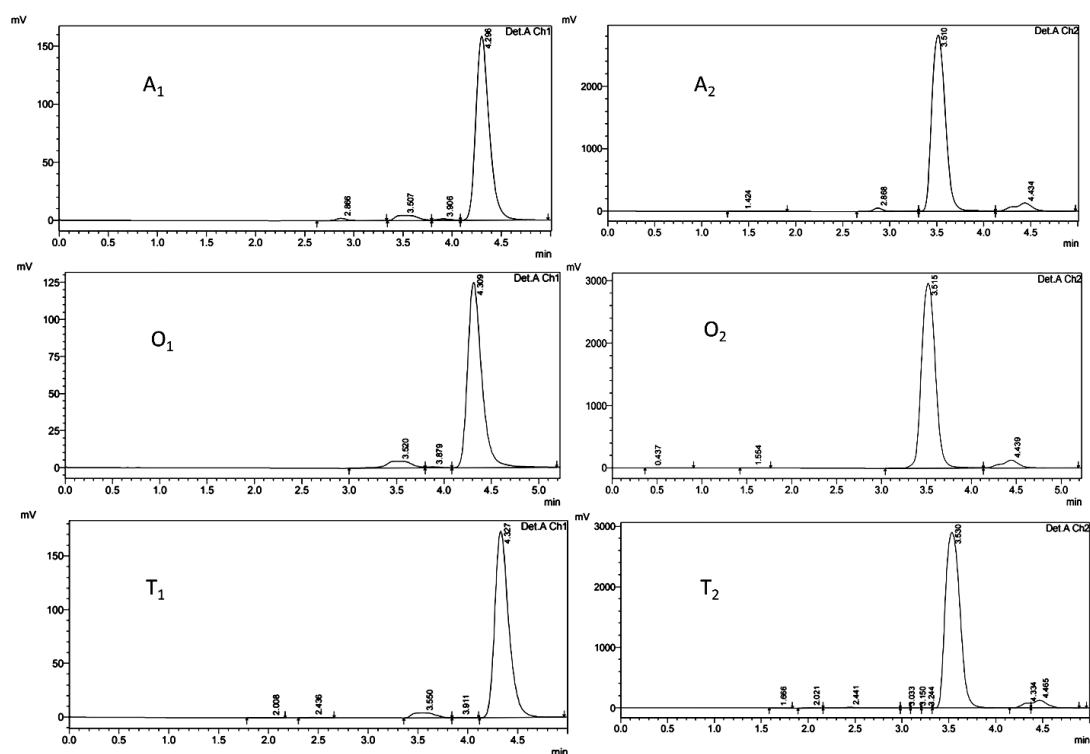
După cum se poate observa în figura 4.2, nu există vârfuri de interferență la timpii de retenție corespunzători analiților. După cum se indică în Tabelul A12.4, valorile RSD sunt între 0,00 – 1,07. Valorile de recuperare a substanței de cel puțin 98,55% și maxim 100,11% indică aplicabilitatea metodei de analiză cantitativă, limitele acceptate fiind de la 98,0% la 102,0%.

Rezultatele determinărilor au arătat că metoda este precisă în limite acceptabile. RSD a fost calculat pentru timpul de retenție, zona de vârf și concentrație, toate valorile fiind mai mici de 1% (Tabelul A12.5 și Tabelul A12.6) [124].

Rezultatele testului de robustețe au arătat, că la o modificare minoră a condițiilor metodei, cum ar fi compoziția și debitul fazei mobile, temperatura coloanei, metoda este robustă. S-a realizat o bună separare, iar valorile RSD sunt în limite și nu depășesc 2,0% (Tabelul A12.7).

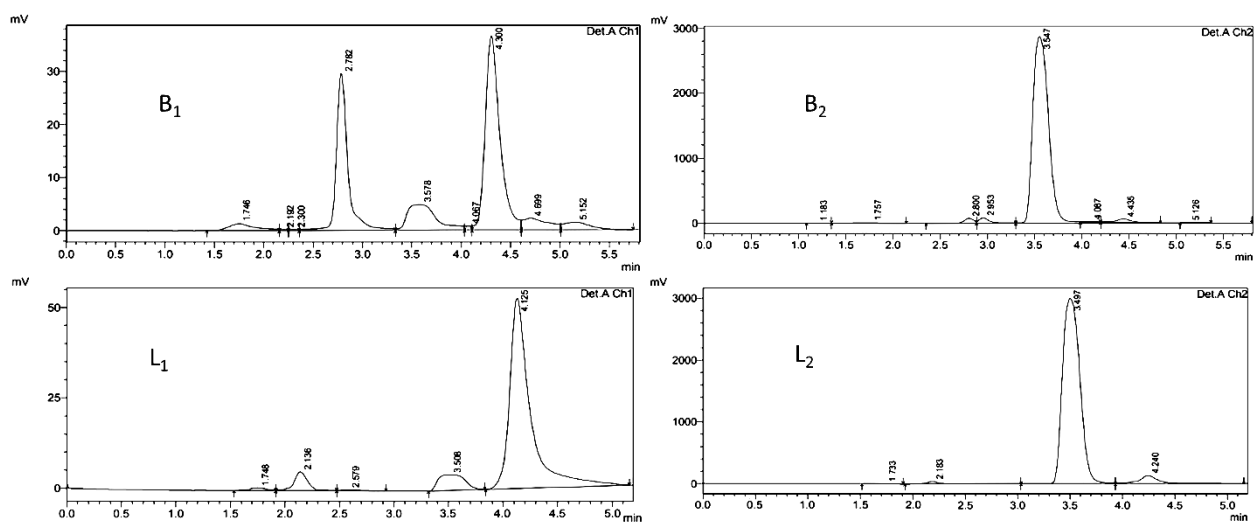
Studiile de degradare forțată au arătat că forma farmaceutică investigată este destul de rezistentă la căldură (păstrare la 60°C timp de 1 lună), la stres oxidativ (5% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, agitare timp de 6 ore la 25°C) și la hidroliză acidă (HCl 1M, 3 ore la 70°C) (Figura 4.4).

Cromatogramele au fost identice cu cromatograma probei care nu a fost supusă nici unei condiții de stres (Figura 4.2 C, D). Stresul hidrolitic alcalin (1M NaOH, 3 ore la 70°C) a declanșat degradarea IHF, în timp ce MU a fost stabil la hidroliză. De asemenea, IHF a arătat instabilitate la expunerea la lumină UV (25 nm, 7 zile). Pe cromatogramele soluțiilor probe, obținute la 360 nm (IHF) după expunerea la condițiile de stres menționate, apar vârfuri suplimentare bine definite; pe cromatogramele soluțiilor probe, obținute la 244 nm (MU), nu se observă produse de degradare (Figura 4.5). De asemenea, a fost evaluată omogenitatea vârfului IHF. Valorile maxime de puritate au fost peste 98,61% pentru IHF la lungimea de undă de 360 nm.



Note: \*<sub>1</sub>= 360 nm, IHF; \*<sub>2</sub>= 244

**Fig. 4.4. Cromatogramele probelor expuse la condiții de stres hidrolitic acid (A1 și A2), oxidare (O1 și O2), temperatură (T1 și T2)**



Note: \*<sub>1</sub>= 360 nm, IHF; \*<sub>2</sub>= 244 nm,

**Fig. 4.5. Cromatogramele probelor expuse la condiții de stres hidrolitic basic (B1 și B2), lumină (L1 și L2)**

Metoda HPLC dezvoltată și validată a fost aplicată pentru separarea, identificarea și cuantificarea ingredientelor active (IHF și MU) în picături auriculare combinate, serii experimentale de laborator. Identificarea principiilor active în forma farmaceutică a fost realizată prin compararea spectrelor UV-Vis și a timpilor de retenție pe cromatograme cu cei ai

standardelor. Curbele de calibrare au fost utilizate pentru a calcula conținutul de analit al probelor de picături examinate. Rezultatele acestei analize sunt prezentate în Tabelul 4.6, care a arătat o acuratețe și precizie satisfăcătoare.

**Tabelul 4.6. Determinarea IHF și MU picături auriculare (serii experimentale) prin metoda elaborată și validată**

Substanța testată	Conținut declarat, g	Conținut determinat ( $n=6, \alpha=0.05$ ) (g în 100 g picături)	Abaterea standard relativă (RSD, %)
IHF	0.05	0.0539±0.0003	0.578
MU	2.00	2.0079±0.0142	0.676

Evaluarea statistică a rezultatelor dozării este prezentată în tabelul A12.8.

Pentru prima dată a fost dezvoltată o metodă HPLC pentru cuantificarea simultană a două substanțe active (IHF și MU) într-o formă otică combinată pentru tratamentul otitei. În procesul de validare a metodei s-a constatat că toți parametrii s-au încadrat în limitele acceptate de ghidurile ICH, stabilindu-se o liniaritate foarte bună, o sensibilitate acceptabilă. Rezultatele obținute au confirmat specificitatea metodei, precizia, acuratețea și robustețea, valorile RSD sunt în limite și nu depășesc 2,0%. Rezultatele obținute din studiile de degradare forțată confirmă specificitatea metodei HPLC propuse, care poate fi utilizată pentru cuantificarea ingredientelor farmaceutice active în picături pentru urechi în prezența produselor de degradare. Metoda dezvoltată a fost inclusă în Monografia Farmacopeică pentru picăturile combinate cu conținut IHF și MU.

## 4.2. Analiza picăturilor auriculare cu conținut de EC, CIP și UVB

### 4.2.1. Identificarea principiilor active prin reacții chimice și metode fizico-chimice.

#### *Studii de puritate. Analiza uleiului de busuioc prin spectrometrie de masă*

#### *Identificarea nitratului de econazol și a clorhidratului de ciprofloxacina prin reacții chimice.*

Identificarea CIP și a EC prin reacții chimice de culoare s-a efectuat ținând cont de structurile chimice ale substanțelor, prezența grupelor funcționale specifice. Prezența în molecula EC a azotului terțiar s-a demonstrat cu ajutorul reactivilor de precipitare, iar anionul nitrat cu difenilamina. CIP formează compuși complecși cu metalele grele, datorită grupării carboxilice.

Determinările s-au efectuat pentru substanțe pure, amestec mecanic (1:1) și din forma farmaceutică picături auriculare combinate cu CIP, EC și UVB.

Reactivii Dragendorf (Sol. apoasă de tetraiodobismutat de potasiu), Mayer (Sol. apoasă de tetraiodomercurat bipotasic cu adaos de cloralhidrat), Lugol (soluție de iodură de potasiu și de iod în apă); soluție de acid picric, soluție de difenilamină; soluții de clorură de fer (III) și de sulfat

de cupru 10% au fost preparate în conformitate cu cerințele Ph. Eur 10.

Reacții calitative pentru CIP.

- I. Reacția cu clorură de fier (III) (sensibilitatea 20 μg/ml). Tehnică de lucru: 0,025 g de substanță pură; 0,05 g de amestec mecanic de CIP și EC (1:1) se dizolvă în 1 ml de apă; la soluțiile obținute, dar și la 3 ml picături auriculare se adaugă câte 3 ml soluție FeCl<sub>3</sub> 10%.
- II. Reacția cu sulfat de cupru (sensibilitatea 20 μg/ml). Tehnică de lucru: 0,01 g de substanță pură; 0,02 g de amestec mecanic de CIP și EC (1:1) se dizolvă în 1 ml de apă; la soluțiile obținute, dar și la 3 ml picături auriculare se adaugă câte 3 ml soluție CuSO<sub>4</sub> 10%.

Reacții calitative pentru EC.

- I. Reacțiile cu reactivii de precipitare (Dragendorf, Mayer, Lugol, acid picric) (sensibilitatea 10 μg/ml). Tehnică de lucru: 0,01 g de substanță pură; 0,02 g de amestec mecanic de CIP și EC (1:1) se dizolvă în 1 ml de apă; la soluțiile obținute, dar și la 3 ml picături auriculare se adaugă câte 2 ml soluții reactivi de precipitare.
- II. Reacția cu soluția de difenilamină (sensibilitatea 10 μg/ml). Tehnică de lucru: 0,01 g de substanță pură; 0,02 g de amestec mecanic de CIP și EC (1:1) se dizolvă în 1 ml de apă; la soluțiile obținute, dar și la 3 ml picături auriculare se adaugă câte 2-3 picături de difenilamină.

Evaluarea reacțiilor de culoare denotă efecte analitice similare pentru substanțele active individuale, din amestec mecanic și din forma farmaceutică (tabelul A13.1).

*Aplicarea metodei CSS pentru identificare și controlul purității.*

Pentru determinare au fost utilizate substanțele medicamentoase: CIP și EC. În cadrul analizei s-au folosit 7 sisteme de dezvoltare cu polaritate diferită, în funcție de lipofilia fiecărei substanțe.

*Reactivii și echipament utilizate:* plăci cromatografice *Silufol* (dimensiunile 20x20 cm, grosimea 0,5 mm); camera de cromatografiere; sistemele de dezvoltare în diferite proporții: hexan: CHCl<sub>3</sub>:MeOH:NH<sub>3</sub>-25%; CHCl<sub>3</sub>:MeOH:NH<sub>3</sub>-25%; Acetonitril:NH<sub>3</sub>-25%: MeOH:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; Metanol:Acetonitril; CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:Metanol:2Propanol:NH<sub>3</sub>-25%; CHCl<sub>2</sub>: Metanol:2-Propanol: NH<sub>3</sub>-25%; CHCl<sub>3</sub>:Metanol:2-Propanol:NH<sub>3</sub>-25%; pulverizator; balanța electronică OHAUS DV215 C, lampă ultravioletă CN 6.

Prepararea soluțiilor de substanțe medicamentoase:

- a) Soluția standard de CIP: 100 mg de substanța medicamentoasă se dizolvă în 1,0 ml de alcool etilic 70 %, se agită timp de 30 min.
- b) Soluția standard de EC: 100 mg de substanța medicamentoasă se dizolvă în 1,0 ml de alcool etilic 70 %, se agită timp de 30 min.
- c) Soluția de amestec mecanic de CIP și EC: Câte 100 mg de substanțe medicamentoase se dizolvă în 2,0 ml de alcool etilic 70 %, se agită timp de 30 min.



d) Soluția de formă farmaceutică: 2 ml de formă farmaceutică se diluează cu 2,0 ml de alcool etilic 70 % și se omogenizează.

*Tehnica de lucru:* Cu ajutorul capilarului pe linia de start a plăcii se aplică cu picătura soluția obținută, astfel încât diametrul spotului să fie de 0,5-1 cm. Placa se usucă atent timp de 10 min. și se introduce în camera de cromatografie cu fazele mobile selectate. Placa se scoate din camera după ce amestecul de solvenți ajunge la linia front (0,5-0,7 mm de la capătul plăcii). Spoturile de substanțe medicamentoase sunt detectate în funcție de faza mobilă. Pentru toate fazele mobile au fost calculate valorile Rf-ului (tabelul A13.2).

Inițial s-a efectuat determinarea calitativă a substanțelor medicamentoase individuale (soluții standard) pentru stabilirea fazei mobile și a condițiilor optime de cromatografie.

Rezultatele au demonstrat că numai sistemul de solvenți Metanol: Acetonitril (40:60) asigură posibilitatea detectării ambelor substanțe. Din aceste considerente pentru analiza compușilor în amestec mecanic și în forma farmaceutică a fost utilizată faza mobilă menționată.

**Tabelul 4.7. Rezultatele analizei prin CSS a substanțelor în amestec mecanic și formă farmaceutică**

Faza mobilă	Amestec mecanic (1:1)		Forma farmaceutică	
	CIP	EC	CIP	EC
<b>Metanol: Acetonitril 40:60</b>	Spoturi bine conturate, fluorescență în UV și colorație galben-oranj la revelare cu reactivul Dragendorf <b>Rf =0,32</b>	Spoturi bine conturate, separare bună; fluorescență în UV și colorație galben-oranj la revelare cu reactivul Dragendorf <b>Rf=0,87</b>	Spoturi bine conturate, fluorescență în UV și colorație galben-oranj la revelare cu reactivul Dragendorf <b>Rf =0,30</b>	Spoturi bine conturate, separare bună; fluorescență în UV și colorație galben-oranj la revelare cu reactivul Dragendorf <b>Rf=0,77</b>

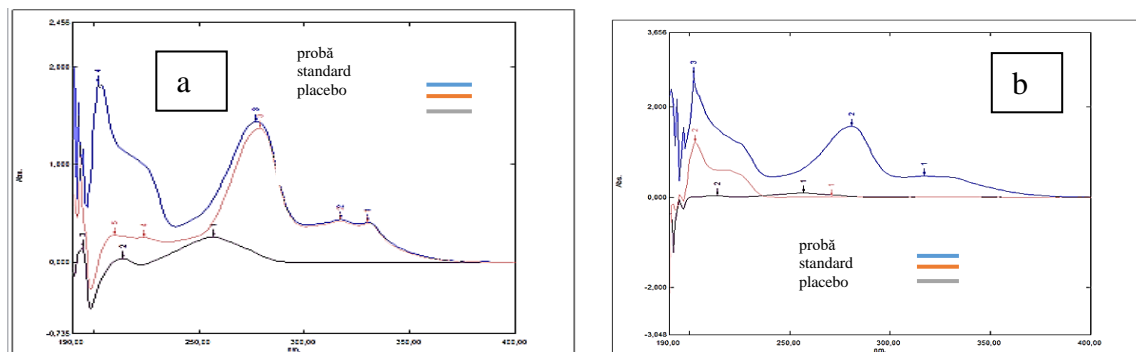
După cum se observă din tabelul 4.7, amestecul de solvenți selectat pentru faza mobilă metanol:acetonitril 40:60 este unul simplu, accesibil la preparare și permite separarea componentelor atât din amestec mecanic, cât și în forma farmaceutică. Ambele substanțe medicamentoase pot fi detectate la iradiere cu lampa UV și la pulverizare cu reactivul Dragendorf. Clorhidratul de ciprofloxacina și nitratul de econazol pot fi identificați în picăturile auriculare prin metoda CSS după valorile Rf-ului în raport cu soluțiile standard.

Aprecierea purității formei farmaceutice s-a efectuat prin excluderea apariției spoturilor suplimentare pe cromatogramele soluțiilor probă de picături auriculare.

*Identificarea și determinarea purității picăturilor auriculare prin spectrofotometrie UV-VIS.*

Determinarea purității picăturilor auriculare combinate poate fi efectuată prin metoda spectrală 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 [349].

Spectrele UV-VIS ale probelor (cu concentrația CIP 10 μg/ml și EC 40μg/ml în metanol), înregistrate în regiunea 210-350 nm au prezentat un maxim de absorbție specific CIP: la 280±1 nm și 1 maxim de absorbție caracteristic EC: la 228±1 nm, fiind înregistrate și pe spectrele UV-VIS al soluțiilor standard de substanțe medicamentoase (Figura 4.6)



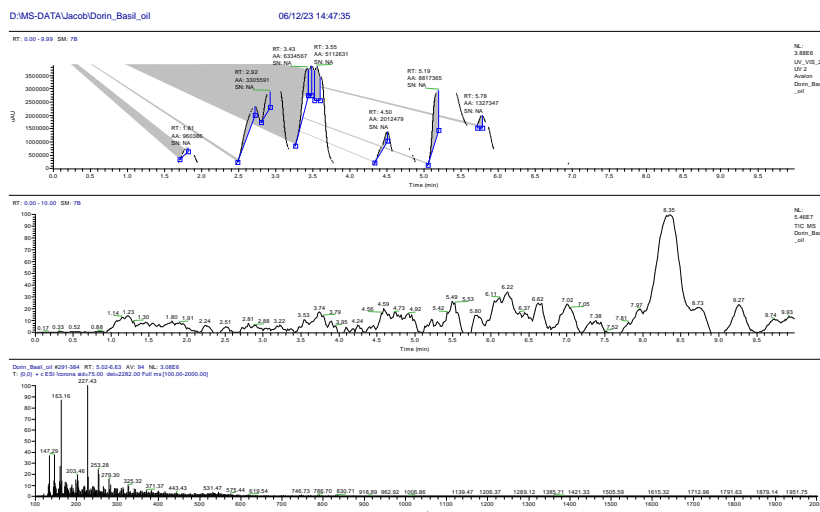
**Fig. 4.6. Spectrele de absorbție UV-VIS ale soluțiilor standard și probă de CIP 10μg/ml (a), ale soluțiilor standard și probă de EC 10μg/ml (b) și a soluției placebo din picături combinate cu CIP, EC și UVB (solvent: metanol)**

*Analiza UVB prin spectrometrie de masă.*

Analiza uleiului de busuioc prin spectrometrie de masă a fost utilizată pentru a identifica compușii chimici prezentați în acest ulei. Spectrometria de masă este o tehnică analitică puternică care poate fi utilizată pentru a determina masa moleculară a compușilor, compoziția lor structurală și concentrația lor într-o probă. Pentru a realiza această analiză, uleiul de busuioc a fost mai întâi supus unui proces de pregătire, apoi, proba pregătită a fost introdusă în spectrometrul de masă, unde a fost supusă ionizării, adică transformată în ioni, și apoi aceștia au fost accelerați în câmpul electric. Ionii au fost separați în funcție de raportul masic încărcat pe raportul sarcină-masă, astfel încât să poată fi detectați și identificați compușii individuali.

Spectrele de masă obținute prin metoda de ionizare *electrospray* cuplată cu HPLC au arătat, că această metodă produce ioni moleculari integri, ca rezultat al utilizării unor condiții blânde și nedistructive. Moleculele de analit au fost dispersionate în dimensiuni foarte mici, ulterior aceștia au suferit un proces de volatilizare și ionizare (camera de ionizare). Ionii ce s-au format au fost direcționați spre analizorul de masa, unde au fost separați în funcție de raportul  $m/z$ , (masa în funcție de sarcină). În urma analizării spectrelor de masă (Figura 4.7 și Tabelul A13.3) au fost detectate picuri de intensitate maximă: la RT 0,68-1,59 ( $m/z$  393,29), RI 59%, corespunzător cineolului; la RT 1,61-2,03 ( $m/z$  401,29), Intensitatea relativă (RI) 100%, corespunzător eucaliptolului; la RT 2,44-3,21 ( $m/z$  383,29), RI 100%, corespunzător linaloolului; la RT 3,19-3,85 ( $m/z$  383,29), RI 62%, corespunzător eucaliptolului; la RT 4,26-4,92 ( $m/z$  163,16), RI 98%,

corespunzător eucaliptolului; la RT 6,67-7,38 (m/z 163,17), RI 75%, corespunzător metilcarvicolului și m/z 255,40, RI 100%, corespunzător linaloolului. După cum se observă din tabelul A14.3, linaloolul și metilcavicolul sunt componente majoritare în uleiul volatile de busuioc utilizat în calitate de principii active pentru prepararea formei farmaceutice combinate, împreună cu clorhidratul de ciprofloxacina și nitratul de econazol.



**Fig. 4.7. Spectrul de masa și cromatogramele uleiului volatile de busuioc**

#### **4.2.2. Elaborarea și validarea metodei spectrofotometrice de dozare a nitratului de econazol și a clorhidratului de ciprofloxacina din picături auriculare**

Spectrofotometria continuă să fie foarte populară, datorită simplității, exactității, a costului relativ redus. Dezvoltarea și validarea unei tehnici spectrofotometrice UV pentru determinarea simultană a CIP și a EC în combinație fără separare prealabilă a fost una din etapele acestui studiu. Datorită prezenței pik-urilor la diferite lungimi de undă, CIP și EC pot fi determinați cantitativ în combinație. Au fost testați diferiți solvenți și diluții, în baza proprietăților particulare ale substanțelor. S-a constatat, că nitratul de econazol se dizolvă bine în solvenții organici (în deosebi metanol și etanol) și rău în apă, pe când CIP se dizolvă foarte bine în apă și mai puțin în solvenți organici. Iar determinarea lor concomitentă în același solvent reprezintă un impediment – suprapunerea pik-urilor. Studiile efectuate au soldat cu selectarea în calitate de solvent metanolul.

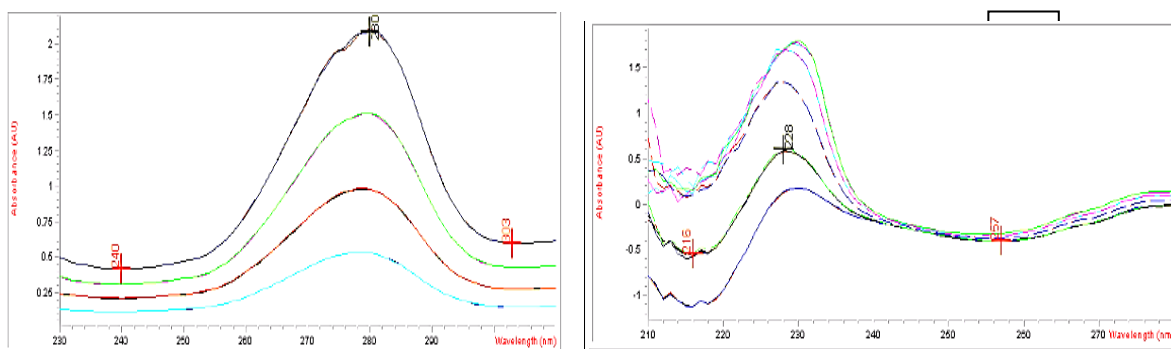
Validarea metodei spectrofotometrice de dozare a CIP clorhidrat și EC nitrat din picături combinate a avut loc conform prevederilor ghidului ICH „Q2R1: Pentru proceduri analitice și validare”, în urma căruia s-au urmărit parametrii de validare: precizie și robustețe, exactitate, limita de detecție, limita de cuantificare, linearitate.

Exactitatea a fost cercetată la următoarele concentrații: 80%, 100%, 120 %, utilizând metoda adaosului standard. Toate determinările au fost realizate în triplicat pentru trei serii de

produs, prelucrate din punct de vedere statistic, pe când calculul concentrațiilor componentelor formei farmaceutice a fost efectuată prin intermediul ecuațiilor regresiilor liniare stabilite la parametrul de liniaritate. În cercetarea gradului de precizie s-au supus analizei repetabilitatea și precizia intermediară, dintre care repetabilitatea a fost studiată în aceeași zi, pentru 6 probe cu concentrația de analiză 100 %, pe când precizia intermediară a fost studiată în 2 zile, pentru 6 probe, ambele cu respectarea tuturor normelor și condițiilor de analiză.

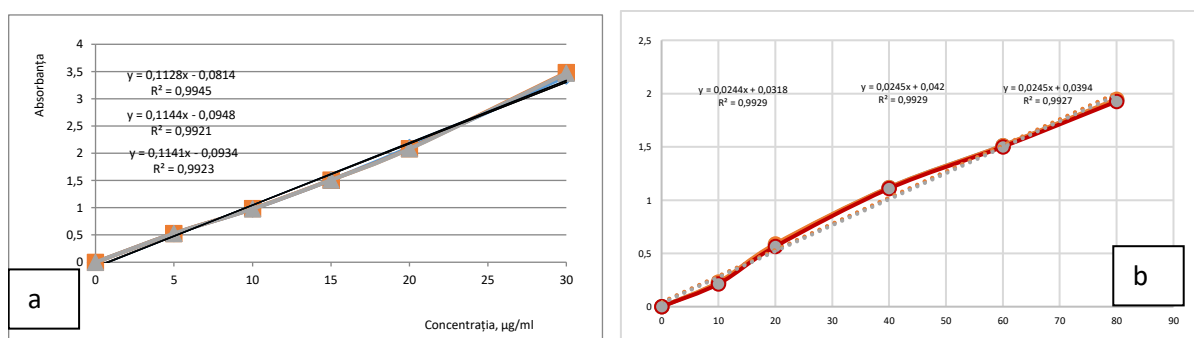
#### Determinarea liniarității.

S-a cercetat liniaritatea metodei spectrofotometrice de dozare a CIP și EC din picături combinate pe domeniile de concentrație 5-40 μg/ml. S-au preparat soluțiile metanolice standard stoc de substanțe: 5 probe cu concentrațiile 5, 10, 15, 20 și 30 μg/ml pentru ciprofloxacină și 10, 20, 40, 60 și 80 μg/ml pentru econazol. Acestea au fost analizate la spectrofotometru, fiind obținute spectrele și absorbanțele soluțiilor. Determinările au fost efectuate în triplicate, figura 4.8.



**Fig. 4.8. Spectrele de absorbție ale soluțiilor metanolice de CIP (a) și EC (b) în studiile de liniaritate**

Ecuațiile regresiei liniare au fost calculate prin metoda celor mai mici pătrate, tabelul A13.4 și A13.5. Acestea au fost confirmate și prin opțiunea Trendline Excel, fiind trasate câte 3 drepte de etalonare ale celor 3 determinări pentru fiecare serie de formă medicamentoasă (Figura 4.9).



**Fig. 4.9. Graficele de etalonare ale soluțiilor metanolice standard de CIP (a) și EC (b) (n=3 determinări)**

Limita de detecție (LOD) semnifică cantitatea minimă a unui component necesară care față de un martor cu o limită de încredere de 1%. Valoarea limitei de detecție pentru CIP este de 0,3844 μg/ml. Valoarea limitei de detecție pentru EC este de 1,2628 μg/ml. Valorile SD a intercepției și media pantei drepte de regresie pentru calcularea LOD și LOQ a CIP și EC sunt redată în tabelele A13.6 și A13.7.

Limita de cuantificare (LOQ) se definește ca o cantitatea cea mai mică din componentul identificat care se poate cuantifica cu siguranță și se estimează pe baza evaluării raportului semnal /zgomot, prin compararea semnalelor măsurate pentru probe cu o concentrație mică și cunoscută a analitului și probei martor pentru stabilirea concentrației minime la care analitul poate fi cuantificat cu încredere. Pentru estimarea limitei de cuantificare, în general se consideră acceptabil un raport semnal /zgomot de 10/1. Valoarea limitei de cuantificare calculate pentru ciprofloxacina este de 1,1648 μg/ml. Valoarea limitei de cuantificare calculate pentru econazol este de 3,8266 μg/ml.

Determinarea exactității dozării. Exactitatea metodei fizico-chimice de dozare a CIP și EC din picături auriculare prin spectrofotometrie UV-VIS a fost evaluată prin determinarea cât de bine se regăsesc aceste substanțe în probele analizate. Aceasta a implicat efectuarea analizei de trei ori a unei soluții standard și a substanțelor analizate, iar regăsirea cantității de substanță de referință cunoscută a fost calculată pentru a determina gradul maxim de oblicitate experimentală. Oblicitatea se determină prin comparația rezultatelor pentru concentrațiile găsite și cele teoretice într-un domeniu de concentrație cuprins între 80% și 120% față de cantitatea teoretică de substanțe. Metoda adausurilor standard a fost utilizată pentru calcularea oblicității experimentale. Rezultatele determinărilor sunt redată în tab. A13.8, A13.9. În urma determinărilor s-a stabilit că metoda este exactă, RSD pentru ambele substanțe nu depășește 1%.

Determinarea preciziei dozării. Modul de preparare a soluției stoc este expusă la parametrul Exactitate. Pregătirea soluției de analizat: Câte 1,25 ml soluții stoc A se plasează în baloane cotate cu capacitatea de 25 ml și se completează cu HCl 0,1 mol/l până la cotă. Câte 1,25 ml soluții stoc B se plasează în baloane cotate cu capacitatea de 25 ml și se completează cu MeOH până la cotă. Soluțiile se utilizează proaspăt preparate.

Tehnicile de pregătire a soluțiilor standard de ciprofloxacina și econazol sunt redată la fel la determinarea parametrului Exactitate.

Pentru a determina gradul de precizie, s-a cercetat repetabilitatea și precizia intermediară.

Repetabilitatea: rezultatele independente sunt obținute folosind aceeași procedură, pe probe identice, în același laborator, de către același operator, utilizând același echipament și într-un interval scurt de timp. Repetabilitatea analizei (precizia intra – probă) se studiază utilizând un minim de 9 determinări acoperind domeniul specific de concentrație (de exemplu 3 determinări la

3 valori ale concentrației), sau un minim de 6 determinări la o valoare de 100% din concentrația soluției ce urmează a fi testate [124]. Repetabilitatea a fost determinată pentru 6 probe, la nivelul de concentrație a substanței medicamentoase de 100%, în aceeași zi, respectându-se aceleași condiții.

Precizia intermediară: rezultatele independente sunt obținute folosind aceeași procedură, pe probe identice, în același laborator, de către diverși operatori, folosind echipamente diferite și într-un interval de timp dat. Precizia intermediară a fost cercetată în 2 zile diferite, în același condiții, efectuându-se câte 6 determinări [124].

Rezultatele determinării preciziei la dozarea CIP și EC din picături auriculare combinate prin metoda spectrofotometrică sunt redate în tab A13.10 și A13.11. Rezultatele obținute denotă că, metoda elaborată este precisă, valorile deviației standard relative fiind mai mici decât 1%.

Determinarea robusteții. Robustețea se exprimă prin procesul de măsurarea capacității metodei de a rămâne neafectată la mici modificări ale unor parametri. Robustețea s-a determinat prin variația lungimilor de undă  $\pm 2$  nm (Tabelul A13.11). Rezultatele obținute denotă că, metoda spectrofotometrică elaborată este robustă, deviația standard relativă fiind mai mică decât 1,0% (Tabelul A13.12).

Pentru prima dată a fost dezvoltată o metodă spectrofotometrică UV-Vis de dozare simultană a două substanțe active (CIP și EC) într-o formă otică combinată pentru tratamentul otomicozei. În procesul de validare a metodei s-a constatat că toți parametrii s-au încadrat în limitele acceptate de ghidurile ICH, stabilindu-se o liniaritate foarte bună, o sensibilitate acceptabilă. Rezultatele obținute au confirmat precizia, acuratețea și robustețea metodei, valorile RSD sunt în limite și nu depășesc 2,0%. Metoda dezvoltată a fost inclusă în Monografia Farmaceutică pentru picăturile combinate cu conținut CIP, EC și UVB.

#### **4.2.3. Determinarea CIP și EC din picături auriculare prin HPLC**

Tehnica de determinare HPLC pentru forma farmaceutică cercetată a fost elaborată în premieră și supusă validării, fiind studiați factorii de influență pentru selectarea condițiilor de separare cromatografică.

Condițiile separării cromatografice au fost: faza staționară – coloana cromatografică Teknokroma Tracer Extrasil SAX 5  $\mu\text{m}$  cu dimensiunile 150 mm x 4,0 mm; faza mobilă – amestec din metanol și acetonitril (40:60); debitul fazei mobile – 1,5 ml/min; detecția UV-VIS la lungimea de undă – 225 nm; temperatura coloanei – 35°C.

Pregătirea soluțiilor standard: câte 0,01 g de CIP și EC substanțe standard (masă exactă, Sigma Aldrich) se plasează în baloane cotate de 25 ml, se dizolvă în faza mobilă metanol-

acetonitril (40:60 V/V), se aduce cu același solvent la cotă; câte 1,0 ml de fiecare soluție se diluează până la 10 ml cu același solvent. Soluția obținută se agită bine și se filtrează prin filtru 0,45  $\mu$ m x 47 mm. Concentrația soluțiilor standard de ambele substanțe este de 50  $\mu$ g/ml.

Pregătirea soluției probă: 1,0 ml de formă farmaceutică se plasează în balon cotat de 10 ml, se dizolvă în faza mobilă metanol-acetonitril (40:60 V/V), se aduce cu același solvent la cotă; 2,0 ml de soluție se diluează până la 10 ml cu același solvent. Soluția obținută se agită bine și se filtrează prin filtru 0,45  $\mu$ m x 47 mm. Concentrația fiecărui component în soluția probă este de 50  $\mu$ g/ml.

Pregătirea soluției placebo: Într-o ceașcă de porțelan se introduc 2,0 g de PS, în care se adaugă cu picătura 0,1 g ulei de busuioc, se amestecă bine până la emulsionarea uleiului. La emulsia primară obținută se adaugă în porțiuni 25 ml de apă purificată și excipienții: 5,0 g de PEG și 0,02 g nipagină, prealabil dizolvați într-o cantitate minimă de apă purificată (2 ml). Se adaugă restul cantității de apă. Se amestecă minuțios și se omogenizează. Se măsoară pH-ul și, dacă este cazul, se ajustează cu soluție tampon fosfat cu pH=6,0 (ad 1 ml) până la pH-ul convenit 5,0-7,5. 1 ml soluție Placebo se dizolvă în soluția fazei mobile (CH<sub>3</sub>OH-ACN) într-un balon cotat de 10 ml, se aduce la cotă cu același solvent. Din soluția obținută se iau 2 ml și se trec într-un balon cotat de 10 ml, diluând cu același solvent. Soluția obținută se agită bine și se filtrează prin filtru 0,45  $\mu$ m x 47 mm și se înregistrează cromatogramele. Parametri HPLC sunt identici ca la determinările anterioare pentru econazol nitrat.

Au fost efectuate câte 6 determinări pentru toate soluțiile. Detecția CIP s-a efectuat la lungimea de undă 280 nm, detecția EC la 225, soluția placebo la ambele lungimi de undă (Figura A13.1). Rezultatele determinărilor cromatografice sunt prezentate în tabelul A13.13 și tabelul A13.14.

Evaluarea statistică a rezultatelor dozării CIP și EC în picături auriculare prin metoda HPLC denotă valori IQR<0,02, P>0,05 (Tab. A13.15). Metoda dezvoltată permite cuantificarea substanțelor active concomitent, este reproductivă și poate fi aplicată cu succes pentru analizele de rutină a formei farmaceutice.

#### ***4.2.4. Analiza gaz-cromatografică a UVB din picături auriculare***

Cromatografia pe gaze este o tehnică folosită în separarea unui amestec de compuși volatili, bazată pe mobilitatea lor printr-o fază staționară.

Pentru a aprecia dacă CIP și EC nu influențează asupra UVB și nu modifică conținutul cantitativ al acestuia, a fost utilizată cromatografia de gaze (GC). A fost studiat UVB pur în vederea stabilirii compoziției cantitative a principiilor activi în raport cu standardele celor mai frecvent întâlnite componente conform datelor bibliografice [55].

UVB poate cuprinde în general între 25 și 50 de substanțe chimice, care variază în

compoziția lor, incluzând terpeni, alcooli, aldehide, fenoli, cetoni, acizi și esteri. Diverse studii au identificat patru tipuri chimice principale de UVB, bazate pe principiile active predominante: metil chavicol, linalool, metil eugenol și metilcinamat. Printre compușii principali identificați în diversele uleiuri de busuioc se numără 1,8-cineol, linalool, pinen, eugenol, camfor, metil chavicol, ocimen, terpinen și limonen. În cazul speciei *O. basilicum*, care este cultivată și crește în mod natural în Republica Moldova, linaloolul reprezintă componenta majoritară, fiind întâlnită în proporție de 36-55% [311].

Substanța farmaceutică UVB a fost supusă evaluării proprietăților fizico-chimice. Analiza organoleptică a UVB a arătat, că acesta UVB prezintă o nuanță gălbuie până la verde pal, cu un miros specific ce amintește subtil de camfor și într-o mică măsură de dulceață, datorită prezenței metil chavicolului. A fost evaluată solubilitatea și s-a constatat, că UVB este solubil în alcool etilic 96% într-un raport de 1:4, în ulei de parafină într-un raport de 1:14 și în PG într-un raport de 1:20 (provocând o ușoară tulburare). În schimb, UVB este insolubil în apă și glicerol. A fost evaluată densitatea folosind picnometrul, rezultând valori cuprinse între 0,929 și 0,956 g/mL la 25 °C. Indicele de refracție, măsurat la aceeași temperatură, a fost de 1,516±2; iar valoarea puterii rotatorii specifice  $[\alpha]_{D}^{20}$  variază între -4 și -10°C. Au fost stabiliți, de asemenea, indicii chimici de calitate: indicele de aciditate este mai mic de 1,0, iar indicele de saponificare se situează între 4,0 și 10,0 [336].

Obiectivele determinării GC au vizat selectarea solventului optimal pentru extragerea componentelor uleiului volatil din forme farmaceutice, selectarea condițiilor pentru determinările cromatografice, înregistrarea gaz-cromatogramelor standardelor și a probelor analizate, evaluarea comparativă a timpilor de retenție și a picurilor cromatografice, calcularea conținutului de UVB din probe în recalcul la linalool.

În acest studiu s-a utilizat cromatograful Agilent Technologies 7890A, utilizat cu coloană capilară.

Condițiile cromatografice: coloană capilară 60,0 m, 0,25 mm/0,25 μm, gaz purtător – Helium (He), viteza 1,5 m/min, detector cu ionizare în flacără,  $t^0=270^{\circ}\text{C}$ .

Pentru studiul cromatografic s-au utilizat: UVB – substanță standard (Sigma Aldrich); UVB – substanță farmaceutică (Sigma Aldrich); Standarde de linalool, camfor, alfa terpineol (Sigma Aldrich); picături auriculare cu conținut de CIP, EC și UVB (3 serii experimentale).

Pentru selectarea solventului optimal de extragere a componentelor uleiului volatil din forme farmaceutice au fost evaluați hexanul și heptanul, cu capacitate de extracție optimă. Pentru obținerea uleiului de busuioc pur din probele analizate s-au efectuat extracții cu ambii solvenți. Câte 0,01g Proba s-au amestecat și agitat cu 20ml hexan/heptan, prin adăugare de clorură de sodiu



(5 ml NaCl saturat). Extracția a fost repetată de 3 ori pentru fiecare probă pentru a asigura extracția cantitativă maximă al uleiului de busuioc din probe. Sumarul al celor trei soluții extrase a fost filtrat ulterior prin hârtie de filtru în prezență de sulfat de sodiu.

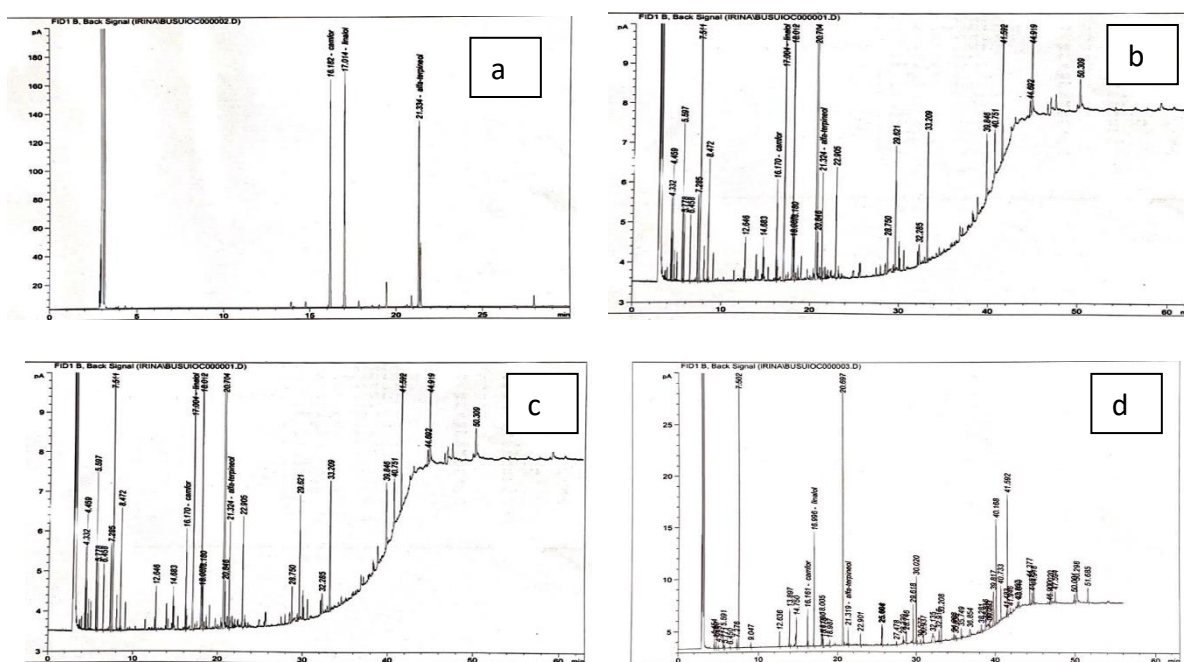
Prepararea soluțiilor standard: 0,0102g standard de linalool, 0,01g standard de camfor și 0,0102g standard de  $\alpha$ -terpineol au fost dizolvate în 20ml heptan.

Prepararea soluției de standard de UVB și a soluției de substanță farmaceutică s-a efectuat analogic, prin dizolvarea a câte 0,1052 ulei în 20ml heptan.

Au fost testate 3 viteze a gazului vector: 1,0; 1,5 și 2 m/min. Totodată, au fost testate și trei temperaturi a coloanei: 255, 270 și 300 °C.

În urma determinărilor au fost stabilite condițiile optime de cromatografiere, care au fost specificate mai sus.

S-au înregistrat cromatogramele standardelor de linalool, camfor și  $\alpha$ -terpineol. Pe cromatograma se poate urmări aria picurilor și timpul de retenție ale acestora (Figura 4.10).



**Fig. 4.10. Gaz- Cromatogramele standardelor de linalool, camfor și  $\alpha$ -terpineol (a); standardului de UVB (b); UVB substanță farmaceutică (c) și a soluției probă de picături auriculare cu conținut de CIP, EC și UVB (c)**

Pe cromatograma standardului de UVB au fost detectate picurile de linalool, camfor și  $\alpha$ -terpineol, cu valori foarte apropiate ale timpilor de retenție cu cele ale standardelor de referință.

Cromatograma UVB substanță farmaceutică, utilizat în prepararea formelor farmaceutice denotă picuri similare cu cele ale standardului. S-a calculat procentul de linalool în UVB substanță

farmaceutică, care s-a dovedit a fi apropiat cu datele din literatură despre cota parte a acestui component în uleiul volatil.

S-a înregistrat cromatograma soluției probă, preparată în condițiile indicate mai sus. Pe cromatograma probei se identifică picuri similar de pe cromatograma standardelor, cu timpi de retenție foarte apropiați, de exemplu, cu cel al linaloolului de la 16.996 min. La evaluarea comparativă a timpilor de retenție și a picurilor cromatografice de referință ale linaloolului se observă, ca pentru toate cele 3 soluții analizate: UVB standard, UVB substanță farmaceutică și proba de formă farmaceutică, timpul de retenție are valori aproape identice. Astfel, se poate concluziona, că UVB din componența formei farmaceutice nu a suferit schimbări, și că procesul tehnologic nu a diminuat concentrația componentelor active din UVB. Rezultatele totalizatoare ale determinărilor cromatografice sunt redate în tabelul 4.8.

**Tabelul 4.8. Ariile picurilor și timpii de retenție ale principalelor componente din UVB standard, substanță farmaceutică și picături auriculare, determinate prin metoda GC**

Standarde	Parametrii	Valori standarde	Valori UVB Standard	Valori UVB subst. farm.	Valori UVB din probă
<b>Linalool</b>	S, mV/sec	385.802	8.593	8.698	28.246
	t <sub>R</sub> , min	17.014	17.001	17.012	16.996
<b>Camfor</b>	S, mV/sec	416.578	1.296	1.301	9.131
	t <sub>R</sub> , min	16.182	16.167	16.171	16.161
<b><math>\alpha</math>-terpineol</b>	S, mV/sec	321.813	1.307	1.299	4.106
	t <sub>R</sub> , min	21.334	21.322	21.324	21.319

S-a determinat conținutul de UVB în recalcul la linalool. Rezultatele obținute denotă o regăsire de 98,7% de UVB în picăturile auriculare combinate. Evaluarea statistică a rezultatelor dozării UVB în picăturile auriculare este redată în tabelul A13.16 ( $\bar{X} = 7,3480 \pm 0,0247$ ; IQR=0,0360; p=0,065).

Tehnica de lucru elaborată pentru determinarea prin GC a UVB a servit drept bază pentru standardizarea picăturilor auriculare combinate [295].

### 4.3. Analiza capsulelor combinate cu PIR, NIC și extract uscat de păducel

#### 4.3.1. Identificarea principiilor active prin reacții chimice și metode fizico-chimice

##### *Identificarea NIC și a PIR prin reacții chimice.*

Identificarea NIC și PIR prin reacții chimice de culoare s-a efectuat ținând cont de structura chimică a fiecărei substanțe, prezența grupelor funcționale specifice. Prezența în molecula NIC a azotului terțiar s-a demonstrat cu ajutorul reactivilor de precipitare. Acidul sulfuric concentrate pune în evidență nicergolina prin reacție de culoare. Grupa aminică alifatică din structura PIR poate fi ușor eliminată la încălzire cu hidroxid de sodiu. Determinările s-au efectuat pentru substanțe pure,

amestec mecanic (1:1) și din forma farmaceutică capsule combinate cu NIC, PIR și EP.

*Reactivi și echipament:* reactivii Dragendorf (sol. apoasă de tetraiodobismutat de potasiu), Mayer (sol. apoasă de tetraiodomercurat bipotasic cu adaos de cloralhidrat), Lugol (sol. de iodură de potasiu și de iod în apă); soluție de acid picric, acid sulfuric concentrate, hidroxid de sodiu 10%; hârtie de turnesol, eprubete de 5,10 și 15 ml; pipete de 1 și 2 ml, balanța electronică OHAUS DV215 C.

#### Reacții calitative pentru NIC.

Reacția cu acid sulfuric concentrat: câte 0,02 g de NIC substanță individuală și amestec mecanic 1:1 NIC cu PIR, precum și 0,05 g conținut din capsule se dizolvă în 2 ml de acid sulfuric concentrat. Apare o culoare albastră.

Reacții la alcaolizi: câte 0,02 g de NIC substanță individuală și amestec mecanic 1:1 NIC cu PIR, precum și 0,05 g conținut din capsule se dizolvă în 5 ml de alcool etilic 96%. La câte 1 ml de soluții alcoolice se adaugă câte 1 ml soluții de reactivi de precipitare: acid picric R, reactivi Dragendorf, Mayer, Lugol). Efectele analitice ale reacțiilor sunt redate în tabelul A14.1.

#### Reacții calitative pentru PIR.

Reacția cu hidroxid de sodiu 10%: câte 0,02 g de NIC substanță individuală și amestec mecanic 1:1 NIC cu PIR, precum și masa conținutului capsulelor, corespunzătoare pentru 2,0 g de PIR, se plasează în baloane conice de 250,0 ml, se agită cu câte circa 80,0 ml de apă și se filtrează. Câte 2 ml din soluțiile obținute se plasează în eprubete, se adaugă câte 1,0 ml sol. hidroxid de sodiu 10% și se încălzește pe baia de apă. Din eprubete se elimină amoniac, care se identifică după miros și colorarea în albastru a hârtiei de turnesol.

Evaluarea reacțiilor de culoare denotă efecte analitice similare pentru substanțele active individuale, din amestec mecanic și din forma farmaceutică.

#### *Identificarea principiilor active din capsule prin spectrofotometrie UV-VIS.*

Prin metoda spectrală concomitent cu procesul de identificare prin compararea spectrelor UV-VIS ale probelor cu cele ale soluțiilor standard, se poate face concluzia și despre eventualele impurități absorbante: spectrele UV-VIS ale soluțiilor probă trebuie să conțină aceleași maxime de absorbție precum în cazul soluțiilor standard ale substanțelor medicamentoase.

Spectrele UV-VIS atât a substanțelor individuale cât și a amestecurilor metanie au fost analizate în solvenții: C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH 96%, fază mobilă ACN- CH<sub>3</sub>OH - Tampon fosfat (40:35:25), caracteristică nicergolinei (Ph. Eur), soluție HCl 0.1M, soluție metanolică de HCl 0.1M . Determinările s-au realizat la Spectrofotometrul UV-VIS Agilent 8453, Germania.

Conform datelor tabelului A14.2 amestecul format din piracetam- nicergolină poate fi studiat spectrofotometric UV-VIS folosind solventul soluție metanolică de HCl 0.1 M, dat fiind faptul că anume pe acest solvent ambele substanțe au prezentat un conținut cantitativ corespunzător

prevederilor Ph Eur.

Din cercetările efectuate, s-a constatat, că extractul de păducel împiedică determinărilor spectrofotometrice ale nicergolinei și piracetamului, deoarece componentele fenolice ale acestuia manifestă absorbanta la lungimi de undă foarte apropiate cu maximele celor două substanțe.

Rezultatele cele mai bune pentru amestecul mecanic de principii activi au fost obținute la utilizarea soluției metanolice de HCl 0.1M. A fost selectat solventul dat pentru determinările spectrofotometrice ale capsulelor și pe motiv că extractul de păducel nu se dizolvă în soluție metanolică de HCl.

*Analiza spectrofotometrică UV-VIS a nicergolinei și PIR în soluție metanolică de HCl 0.1 M.*

Prepararea soluției standard de piracetam: 0,05 g de piracetam standard se dizolvă în soluție metanolică de HCl 0.1 M într-un balon cotat de 25 ml și se aduce la cotă cu același solvent. Apoi 1,2 ml din soluția obținută se trec într-un balon cotat de 25 ml și se aduce la cotă cu același solvent. Din soluția obținută se ia 2,5 ml și se diluează cu același solvent până la 10 ml.

Prepararea soluției standard de nicergolină: 0,00509 g de nicergolină standard se dizolvă în soluție metanolică de HCl 0.1 M într-un balon cotat de 25 ml și se aduce la cotă cu același solvent. Apoi 5 ml din soluția obținută se trec într-un balon cotat de 25 ml și se aduce la cotă cu același solvent. Din soluția obținută se ia 2,5 ml și se diluează cu același solvent până la 10 ml.

Prepararea soluției probă: Conținutul unei capsule se dizolvă în soluție metanolică HCl 0,1 M într-un balon cotat de 50 ml în circa 40 ml de solvent, se filtrează, apoi se aduce la cotă cu același solvent (*soluția stoc*).

Prepararea soluției probă 1 pentru analiza PIR în capsule: 0,6 ml din soluția stoc se trec într-un balon cotat de 50 ml și se aduce la cotă cu același solvent. Se măsoară absorbanta soluției preparate la spectrofotometru în cuva cu grosimea 1 cm. În calitate de soluție de referință a servit soluția A.

Prepararea soluției probă 2 pentru analiza NIC în capsule: 10 ml din soluția stoc se trec într-un balon cotat de 25 ml și se aduce la cotă cu același solvent. Apoi din soluția obținută se iau 5 ml și se diluează cu același solvent până la 10 ml. Se măsoară absorbanta la spectrofotometru în cuva cu grosimea 1 cm. În calitate de soluție de referință a servit soluția B.

Prepararea soluției de referință: soluția placebo: excipienții: stearat de magneziu 2,5 mg, amidonglicolat de sodiu 2,5 mg și lactoza monohidrat 240,5 mg, se dizolvă în soluție metanolică HCl 0,1 M într-un balon cotat de 50 ml în circa 40 ml de solvent, se filtrează, apoi se aduce la cotă cu același solvent (*soluția placebo*).\_Diluțiile soluției de referință pentru PIR: 0,6 ml din soluția placebo se trec într-un balon cotat de 50 ml și se aduce până la cotă cu același solvent. Apoi din soluția obținută se iau 5 ml și se diluează cu același solvent până la 10 ml (soluția A).\_Diluțiile

soluției de referință pentru NIC: 10 ml din soluția placebo se trec într-un balon cotat de 25 ml și se aduce până la cotă cu același solvent. Apoi din soluția obținută se iau 5 ml și se diluează cu același solvent până la 10 ml (*soluția B*).

Se măsoară absorbantele soluțiilor standard, a soluțiilor probă și a soluțiilor placebo la spectrofotometru în cuva cu grosimea 1 cm. În calitate de soluție de referință a servit soluția metanolică de HCl 0,1 M. Spectrul UV-VIS a fost studiat în diapazonul 190-300 nm.

Din figura A14.1. se observă că soluția standard de nicergolină înregistrează un maxim bine pronunțat la lungimea de undă de 289 nm, iar soluția standard de PIR – la 205 nm. Pe spectrul soluției probă se conturează maxime de absorbție la aceleași lungimi de undă ca și la soluțiile standard. Pe spectrul soluției EP se observă un maxim în regiunea de absorbție a NIC, care nu este detectat pe spectrul soluției probă din cauza suprapunerii complete. Pe spectrul soluției placebo se înregistrează un maxim la 272 nm, care la fel este suprapus cu cele ale NIC și EP de pe spectrul soluției probă.

*Identificarea NIC și PIR prin metoda HPLC* din capsule combinate se efectuează prin compararea timpilor de retenție de pe cromatogramele soluțiilor probă cu timpii de retenție de pe cromatogramele standardelor de referință. Tehnica de lucru și rezultatele analizei cromatografice sunt prezentate în subcapitolul 4.3.3.

#### ***4.3.2. Elaborarea și validarea metodei spectrofotometrice de dozare a PIR și NIC din capsule operculate***

Analiza spectrală prezentată în subcapitolul anterior denotă, că cuantificarea NIC din capsule se poate efectua doar prin metoda de diferență, din cauza interferențelor de pe spectrul soluției probă: extractul de păducel și placebo manifestă absorbantă în imediata vecinătate a maximului de absorbție a NIC.

Astfel, pentru calcularea conținutului cantitativ al NIC s-a utilizat formula de calcul:

$$X = \frac{(A_{pr} - A_{pl} - A_e) \cdot m_{st} \cdot D_{pr} \cdot P}{A_{st} \cdot m_{pr} \cdot D_{st}}, \text{ unde} \quad (4.1)$$

*X* – cantitatea de substanță în proba de analizat (g);

*A<sub>pr</sub>* – absorbanta soluției cercetate;

*A<sub>pl</sub>* – absorbanta soluției standard;

*A<sub>e</sub>* – absorbanta soluției EP;

*D<sub>pr</sub>* – diluția soluției probă (ml)

*D<sub>st</sub>* – diluția soluției standard (ml)

*m<sub>st</sub>* – masa probei standard, g;

$m_p$  – masa probei cercetate, g.

Conținutul cantitativ al piracetamului din capsule se determină conform formulei (4.2) :

$$X = \frac{A_{pr} * m_{st} * D_{pr} * P}{A_{st} * m_{pr} * D_{st}}, \text{ unde} \quad (4.2)$$

$X$  – cantitatea de substanță în proba de analizat (g);

$A_{pr}$  – absorbanta soluției cercetate;

$D_{pr}$  – diluția soluției probă (ml)

$D_{st}$  – diluția soluției standard (ml)

$m_{st}$  – masa probei standard, g;

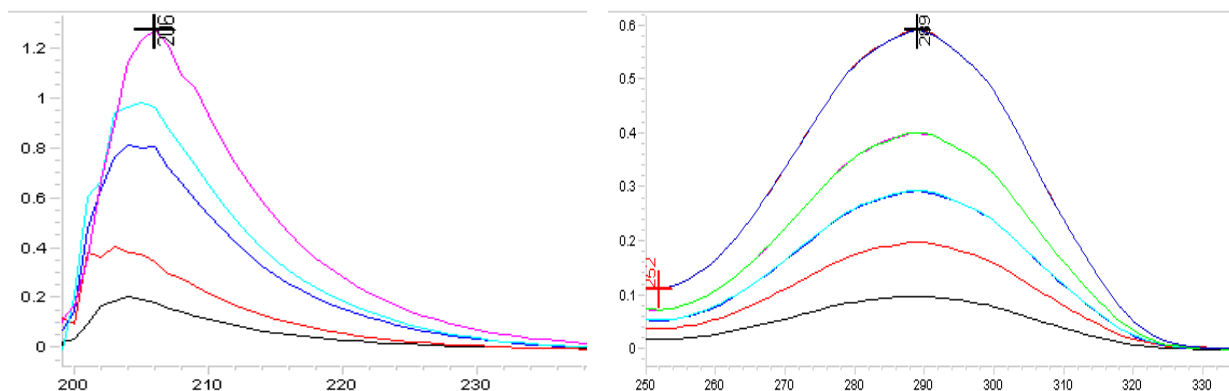
$m_p$  – masa probei cercetate, g.

Toate determinările s-au realizat pe 3 serii de capsule operculate combinate, fiind efectuate câte 6 analize distincte repetate. Rezultatele dozării NIC și PIR din capsule combinate sunt redată în tabelul A14.3.

Evaluarea statistică a rezultatelor dozării a arătat valori  $IQR < 0,001$ ,  $P > 0,05$  (Tabelul A14.4) Metoda spectrofotometrică UV-Vis elaborată a fost validată în conformitate cu ghidurile ICH“Q2R1: Pentru proceduri analitice și validare”.

*Determinarea linearității.*

S-a cercetat linearitatea metodei spectrofotometrice de dozare a PIR și NIC pe domeniile de concentrație 5-40  $\mu\text{g/ml}$ . Astfel, s-au preparat soluțiile standard stoc de substanțe: 5 probe cu concentrațiile 5, 10, 24, 30 și 40  $\mu\text{g/ml}$  pentru PIR și 5, 10, 15, 20 și 30  $\mu\text{g/ml}$  pentru NIC. Acestea au fost analizate la spectrofotometru, fiind obținute spectrele (Figura 4.11) și absorbanțele soluțiilor standard de NIC și PIR. Determinările au fost efectuate în triplicat

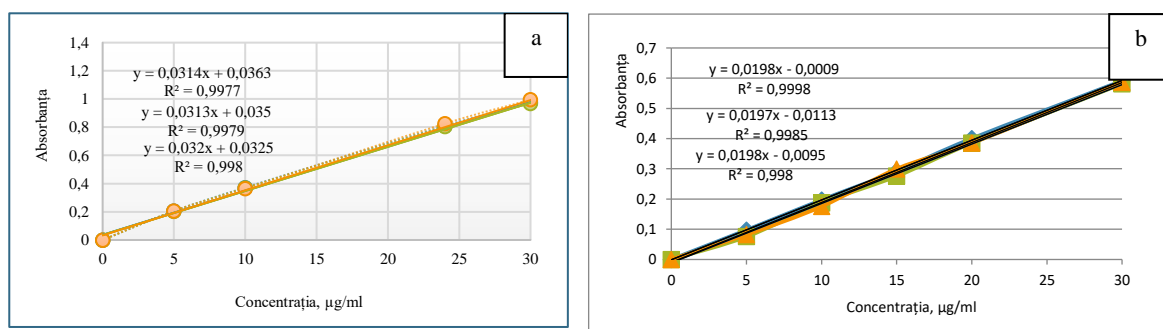


**Fig. 4.11. Spectrele de absorbție ale soluțiilor standard de PIR (a) și NIC (b) în soluție metanolică de HCl 0,1 M la determinarea linearității**

Ecuțiile regresiei liniare pentru cele două substanțe au fost calculate prin metoda celor

mai mici pătrate (tabelele A 14.5 și A14.6).

Rezultatele au fost confirmate și prin opțiunea Trendline Excel, fiind trasate câte 3 drepte de etalonare ale celor 3 determinări pentru fiecare serie de formă medicamentoasă (Figura 4.12).



**Fig. 4.12. Dreptele de etalonare ale soluțiilor standard de PIR (a) și NIC (b) (n=3 determinări).**

*Determinarea limitei de detecție și de cuantificare.*

*Limita de detecție* a fost calculată în baza deviației standard. Valorile SD a interceptiilor și mediile pantelor dreptelor de regresie pentru calcularea LOD și LOQ sunt redată în tabelele A14.7 și A14.8. Valoarea limitei de detecție pentru PIR este de 0,369 µg/ml, iar valoarea limitei de detecție pentru NIC este de 1,737 µg/ml.

*Limita de cuantificare* la fel au fost calculate în baza deviațiilor standard, și au constituit pentru PIR 1,118 µg/ml și pentru NIC 5,265 µg/ml.

*Determinarea exactității dozării.* Exactitatea metodei spectrofotometrice de dozare a PIR și NIC din capsule s-a studiat prin calcularea regăsirii acestora în proba luată în analiză. Pentru aceasta s-a utilizat metoda de analiză de 3 ori a unei soluții standard și a substanței analizate și s-a calculat regăsirea cantității de substanță de referință cunoscută, în domeniul de concentrație stabilit prin testul de liniaritate cuprins între 80-120%, în raport cu cantitatea teoretică de substanțe.

Prepararea soluțiilor – standard: Soluțiile standard au fost preparate conform procedurii descrise în capitolul 4.1.2.

Prepararea probelor. Prepararea soluției stoc: Soluțiile stoc A (PIR) și B (NIC): câte 0,05g PIR și 0,005 g de NIC (masa exactă) substanță se plasează într-un balon cotat cu capacitatea 25,0 ml, se dizolvă în 5 ml soluție metanolică HCl 0,1M, se agită până la dizolvare și se omogenizează, apoi se completează cu același solvent până la cotă și se amestecă. Se repetă procedura de 3 ori pentru a obține 3 soluții stoc (soluție stoc 1A; 2A; 3A și 1B; 2B; 3B).

Prepararea soluțiilor exactitate 1: Câte 1 ml soluție stoc 1A; 2A; 3A și 1B; 2B; 3B se plasează în baloane cotate cu capacitatea de 25 ml și se completează cu același solvent (soluție metanolică HCl 0,1M) până la cotă. Soluțiile se utilizează proaspăt preparate.

Prepararea soluției exactitate 2: Câte 1,25 ml soluție stoc 1A; 2A; 3A și 1B; 2B; 3B se

plasează în baloane cotate cu capacitatea de 25 ml și se completează cu același solvent (soluție metanolică HCl 0,1M) până la cotă. Soluțiile se utilizează proaspăt preparate.

Prepararea soluției exactitate 3: Câte 1,5 ml soluție stoc 1A; 2A; 3A și 1B; 2B; 3B se plasează în baloane cotate cu capacitatea de 25 ml și se completează cu același solvent (soluție metanolică HCl 0,1M) până la cotă. Soluțiile se utilizează proaspăt preparate.

Se înregistrează spectrele pentru toate soluțiile preparate după tehnicile descrise mai sus. Se calculează concentrație soluțiilor exactitate 1, 2 și 3. Se calculează % de regăsire pentru fiecare soluție analizată a celor trei domenii de concentrații.

Rezultatele obținute sunt redate în tabelele (A14.9) și (A14.10). În urma determinărilor s-a stabilit că metoda este exactă, RSD pentru ambele substanțe nu depășește 1%.

#### *Determinarea preciziei dozării.*

Pentru a prezice domeniul în care se găsește valoarea adevărată este necesară o estimare a acestei erori, acest lucru făcându-se prin repetarea măsurătorii de mai multe ori. Din acest proces se obțin doi parametri importanți și anume: valoarea medie și variabilitatea măsurătorilor. Modul de preparare a soluției stoc este expusă la parametrul *Exactitate*.

Pregătirea soluției de analizat: câte 1,25 ml soluție stoc 1A; 2A; 3A și 1B; 2B; 3B se plasează în baloane cotate cu capacitatea de 25 ml și se completează cu același solvent (soluție metanolică HCl 0,1M) până la cotă. Soluțiile se utilizează proaspăt preparate.

Tehnicile de pregătire a soluțiilor standard de PIR și NIC sunt redate la fel la determinarea parametrului *Exactitate*. Pentru a determina gradul de precizie, s-a cercetat repetabilitatea și precizia intermediară pentru PIR (tabelul A14.11) și NIC (Tabelul A14.12).

Repetabilitatea: rezultatele independente sunt obținute folosind aceeași procedură, pe probe identice, în același laborator, de către același operator, utilizând același echipament și într-un interval scurt de timp. Repetabilitatea analizei (precizia intra – probă) se studiază utilizând un minim de 9 determinări acoperind domeniul specific de concentrație (de exemplu 3 determinări la 3 valori ale concentrației), sau un minim de 6 determinări la o valoare de 100% din concentrația soluției ce urmează a fi testate [373]. Repetabilitatea a fost determinată pentru 6 probe, la nivelul de concentrație a substanței medicamentoase de 100%, în aceeași zi, respectându-se aceleași condiții.

Precizia intermediară: rezultatele independente sunt obținute folosind aceeași procedură, pe probe identice, în același laborator, de către diverși operatori, folosind echipamente diferite și într-un interval de timp dat. Precizia intermediară a fost cercetată în 2 zile diferite, în același condiții, efectuându-se câte 6 determinări [124].

Rezultatele obținute denotă că, metoda elaborată este precisă, valorile deviației standard relative fiind mai mici decât 1%.



*Determinarea robusteții.* Robuștețea s-a determinat prin variația lungimilor de undă a maximelor de absorbție  $\pm 2$  nm (Tabelul A14.13). Rezultatele obținute denotă că, metoda spectrofotometrică elaborată este robustă, deviația standard relativă fiind mai mică decât 1,0%.

#### **4.3.3. Determinarea PIR și NIC din capsule operculate prin HPLC**

NIC și PIR (standarde secundare farmaceutic, trasabile la USP și PhEur), au fost achiziționate de la Sigma-Aldrich (standarde HPLC GmbH, Germania). Trei serii experimentale (01, 02, 03) de capsule operculate cu conținut de NIC, PIR și EP au fost preparate în Laboratorul de Elaborare, Analiză, Standardizare și Control al Medicamentului al CȘM, cu concentrație de NIC 4,50 mg/ capsulă, PIR – 200,00 mg/capsulă și EP – 50,00 mg/capsulă.

S-au utilizat reagenții și solvenți cu grad de puritate HPLC, în corespundere cu Ph. Eur. Aparatură: Metoda analitică a fost dezvoltată folosind un sistem de cromatografie lichidă de înaltă performanță (Shimadzu-20A cu detector UV-VIS (Japonia). Ingredientele active (NIC și MU) au fost separate pe o coloană EC/Nucleosil C18 5 $\mu$ m (100\* 4,6mm), detector UV-Vis.

Condiții de cromatografie: Faza mobilă a fost preparată prin amestecarea acetonitrilului metanol și cu tampon fosfat pH 7,0 în raport de 40:35:25 la volum, filtrarea soluției s-a efectuat sub vid printr-un filtru de capron Millipore XF 5423050 (0,45  $\mu$ m) și degazare în DONAU-LAB SONIC DLS 660 T/H. Temperatura coloanei cromatografice a fost de 30°C; volum de injectare 20  $\mu$ l; debit fază mobilă – 1,5 ml/min; eluare izocratică. Lungimile de undă ale detectorului au fost setate la 288 nm pentru NIC și 220 nm pentru PIR. Timpul de retenție a fost de 1,91 min pentru PIR și 5,61 min pentru NIC.

##### Dezvoltarea și validarea metodei.

Prepararea soluției standard NIC: Cantitatea adecvată de NIC (2 mg) a fost cântărită cu precizie și transferată într-un balon cotate de 10 ml, apoi dizolvată și diluată la marcaj cu fază mobilă ACN:MeOH:Tampon fosfat pH=7=40:35:25 (nu se centrifughează). 1,0 ml din soluția obținută se diluează cu același solvent la 10 ml pentru a obține o soluție cu concentrație cunoscută de aproximativ 20  $\mu$ g/ml (nu se filtrează).

Prepararea soluției standard de PIR: cantitatea adecvată de PIR (20 mg) a fost cântărită cu precizie și transferată într-un balon cotate de 10 ml, apoi dizolvată și diluată până la semn cu fază mobilă ACN:MeOH:Tampon fosfat pH=7=40:35:25 (nu se centrifughează). 5,0 ml din soluția obținută se diluează cu același solvent la 10 ml pentru a obține o soluție cu o concentrație cunoscută de aproximativ 1000  $\mu$ g/ml (nu se filtrează).

Prepararea soluției probă: circa 0,100 g din conținutul capsulelor se transferă într-un balon cotate de 25 ml și se diluează cu fază mobilă ACN:MeOH:Tampon fosfat pH=7=40:35:25, se

centrifughează (5mii rot/min-5min). 5,0 ml din soluția obținută se diluează cu fază mobilă în balon cotate până la 10 ml.

Prepararea soluției placebo: Toți excipienții fără substanțele active au fost amestecați în cantitățile prevăzute pentru prepararea formei farmaceutice finite. 0,10 g din amestecul placebo se transferă într-un balon cotate de 25 ml și se diluează cu fază mobilă ACN:MeOH:Tampon fosfat pH=7=40:35:25, se centrifughează (5mii rot/min-5min). 5,0 ml din soluția obținută se diluează cu fază mobilă în balon cotate până la 10 ml.

Controlul utilității sistemului cromatografic: Înainte de efectuarea analizei, coloana cromatografică se stabilizează cu fază mobilă timp de 10 min, apoi se cromatografiază 20 μl de soluție standard până se obțin timpii de retenție stabiliți (1,91 min PIR și 5,61 min NIC) după două injecții consecutive; se obțin cel puțin 3 cromatograme pentru fiecare soluție standard. Sistemul cromatografic este considerat util atunci când: performanța coloanei, calculată prin vârful NIC și PIR, este de cel puțin 2000 de plăci teoretice; coeficientul de asimetrie a vârfului, calculat la ½ din înălțimea vârfului, nu depășește 1,5; abaterea standard relativă a zonei vârfului nu depășește 2,0%.

Determinarea cantitativă. Fiecare 20 μl de soluție probă și soluții standard au fost cromatografiate, obținându-se cel puțin 5 cromatograme din fiecare soluție în aceleași condiții indicate mai sus. Au fost apoi determinate valorile medii ale zonelor de vârf NIC și PIR în cromatogramele soluției de probă ( $S_{an}$ ) și soluțiilor standard ( $S_{st}$ ). Cromatogramele soluțiilor standard cu concentrații de 20 μg/ml NIC și 1000 μg/ml PIR, soluția probă și soluția placebo sunt prezentate în figura A14.2 și figura A14.3. Conținutul de NIC și PIR în formă farmaceutică ( $X_g$ ) a fost calculat conform standardelor.

Metoda a fost validată conform ghidului ICH [124].

Liniaritate. Linearitatea metodei cromatografice a fost evaluată în intervalul 5,0–30,0 μg/ml pentru NIC și 600,0 – 1200,0 μg/ml pentru PIR, utilizând soluții de cinci niveluri de concentrație. Linearitatea a fost evaluată prin analiza de regresie liniară. Ecuația de regresie a fost calculată pentru fiecare curbă. Au fost preparate trei serii independente de soluții standard de lucru (la cinci niveluri de concentrație diferite) de NIC și PIR. Determinările au fost efectuate în triplicat, fiind construită curba de calibrare.

Sensibilitate (LOQ și LOD). Limita de detecție (LOD) și limita de cuantificare (LOQ) a NIC și PIR au fost determinate prin analiza soluțiilor de substanță și măsurarea raportului semnal-zgomot cu valori RSD ( $n = 3$ ) mai mici de 10%.

Acuratețe. Pentru a determina acuratețea metodei de testare HPLC pentru NIC și PIR, metoda de adausului standard (îmbogățirea probei) a fost utilizată prin analizarea soluțiilor în triplicat cu concentrații de 80%, 100% și 120% și a fost calculată recuperarea procentuală a

cantității de substanță, valoarea RSD fiind evaluată pentru fiecare nivel de concentrație (Tabelul 4.14 ) [124].

**Precizie.** Determinarea preciziei metodei s-a realizat prin evaluarea repetabilității pentru 6 probe, la nivelul de concentrație al substanței medicamentoase de 100%, în aceeași zi, cu respectarea aceluiași condiții (Tabelul A14.15) și preciziei intermediare, care s-a determinat efectuând 6 determinări în 2 zile diferite, în aceleași condiții: același laborator, de către diferiți operatori, folosind diferite echipamente și într-un anumit interval de timp (Tabelul A14.16).

**Robustețe.** Robustețea a fost determinată prin varierea următoarelor condiții cromatografice: 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] (Tabelul A14.17).

**Specificitate.** Specificitatea metodei a fost evaluată prin analiza cromatogramelor picăturilor și a soluției placebo (Figura 4.3). Această analiză a fost efectuată pentru a verifica absența oricărui semnal de la excipienți la timpii de retenție ai compușilor activi.

**Analize statistice.** Analiza statistică a fost efectuată utilizând software-ul Statistical Package for the Social Sciences (IBM SPSS Statistics 26).

#### *Dezvoltarea și optimizarea metodei.*

O bună separare a vârfurilor NIC și PIR a fost observată când se utilizează ACN:MeOH:Tampon fosfat pH=7=40:35:25 și debit de 1,5 ml/min. Timpul total de rulare a fost de 10 minute. Temperatura optimă a coloanei cromatografice a fost de  $30^{\circ}\text{C}$ . În condiții optimizate, timpii de retenție au fost  $1,91\pm 0,011$  min pentru PIR și, respectiv,  $5,61\pm 0,004$  min pentru NIC. Metoda dezvoltată a permis analiza a două ingrediente active în picături într-un singur test (Figura 4.3).

Rezultatele studiului de liniaritate au arătat o relație liniară în intervalul de concentrație de 8-12  $\mu\text{g/ml}$  pentru NIC și 600-1200  $\mu\text{g/ml}$  pentru PIR. Pentru a evalua acuratețea rezultatelor obținute în analiza de regresie, a fost efectuată analiza reziduală. Distribuția reziduurilor poate fi considerată normală deoarece valoarea probabilității pentru testul Shapiro-Wilk este mai mare decât valoarea de 0,05. Rezultatele analizei de regresie sunt prezentate în tabelul 4.9.

**Tabelul 4.9. Analiza de regresie în studiile de liniaritate**

<b>Parametrii statistici</b>	<b>NIC</b>	<b>PIR</b>
Nivel de semnificație, $\alpha$	0,05	0,05
Număr de determinări	30	30
$R^2$	0.99400	0.99520
R	0.99699	0.99759
Deviația standard, s	18055,66	69770,96
Panta, a	62349,0	4552,80
Intercepția, b	-70291,00	+1E+06

Parametrii de calibrare indică o liniaritate bună: coeficienții de corelație (R) și coeficientul

de determinare ( $R^2$ ) sunt mai mari de 0,9900 pentru ambele substanțe. A fost testată semnificația statistică a coeficienților de regresie. Atât în curba de calibrare pentru NIC, cât și pentru PIR, interceptia nu este semnificativ diferită de zero ( $p > 0,05$ ).

Limita de detectare și limita de cuantificare (LOD și LOQ). Rezultatele determinărilor au arătat un LOD de 0,9556  $\mu\text{g/ml}$  pentru NIC; 50,5719  $\mu\text{g/ml}$  pentru PIR; LOQ de 2,8895  $\mu\text{g/ml}$  pentru NIC și, respectiv, 153,2732  $\mu\text{g/ml}$  pentru PIR [98].

După cum se poate observa în figura A14.1, nu există vârfuri de interferență la timpii de retenție corespunzători analiților. După cum se indică în Tabelul A14.14, valorile RSD sunt între 0,00 – 0,69. Valorile de recuperare a substanței de cel puțin 99,95% și maxim 100,02% indică aplicabilitatea metodei de analiză cantitativă, limitele acceptate fiind de la 98,0% la 102,0%.

Rezultatele determinărilor au arătat că metoda este precisă în limite acceptabile. RSD a fost calculat pentru timpul de retenție, zona de vârf și concentrație, toate valorile fiind mai mici de 1% (Tabelul A14.15 și Tabelul A14.16) [124].

Rezultatele testului de robustețe au arătat, că la o modificare minoră a condițiilor metodei, cum ar fi compoziția și debitul fazei mobile, temperatura coloanei, metoda este robustă. S-a realizat o bună separare, iar valorile RSD sunt în limite și nu depășesc 2,0% (Tabelul A14.17).

Metoda HPLC dezvoltată și validată a fost aplicată pentru separarea, identificarea și cuantificarea ingredientelor active (NIC și PIR) în picături auriculare combinate, serii experimentale de laborator. Identificarea principiilor active în forma farmaceutică a fost realizată prin compararea spectrelor UV-Vis și a timpilor de retenție pe cromatograme cu cei ai standardelor. Curbele de calibrare au fost utilizate pentru a calcula conținutul de analit al probelor de picături examinate. Rezultatele acestei analize sunt prezentate în Tabelul 4.10, care a arătat o acuratețe și precizie satisfăcătoare.

**Tabelul 4.10. Determinarea NIC și PIR în capsule (serii experimentale) prin metoda elaborată și validată**

Substanța testată	Conținut declarat, mg	Conținut determinat ( $n=6, \alpha=0.05$ ) (mg/capsulă)	Abaterea standard relativă (RSD, %)
NIC	4,5	4,5012±0.0001	0,27
PIR	200	200,19±0.0003	0,39

Pentru prima dată a fost dezvoltată o metodă HPLC pentru cuantificarea simultană a două substanțe active (NIC și PIR) în capsule combinate pentru tratamentul surdității. În procesul de validare a metodei s-a constatat că toți parametrii s-au încadrat în limitele acceptate de ghidurile ICH, stabilindu-se o liniaritate foarte bună, o sensibilitate acceptabilă. Rezultatele obținute au confirmat specificitatea metodei, precizia, acuratețea și robustețea, valorile RSD sunt în limite și nu depășesc 2,0% (tabelul A14.18):  $\bar{X}=0,0045450$ ,  $SD=0,00003886$ ;  $IQR=0,00008$ ;  $P>0,05$ .

Metoda dezvoltată a fost inclusă în Monografia Farmacopeică pentru capsule combinate cu conținut NIC și PIR.

#### **4.3.4. Analiza EP prin metoda HPLC**

Determinarea cromatografică a EP din capsule a inclus aceleași etape de elaborare a metodei, descrise la determinarea conținutului de NIC și PIR.

*Condiții de analiză cromatografică:* Coloană cromatografică: EC/4,6 NUCLEOSIL 100-5 C18 cu dimensiunile 150 x 4,6 mm, mărimea particulelor 5 μm); detecția în UV – 325 nm; temperatura coloanei – 30°C; Volumul injecției – 20 μl;

*Faza mobilă:* Se amestecă acetonitril: tampon fosfat pH=3,0 într-un raport de 18:82 (v/v), amestecul se filtrează printr-un filtru de capron Millipore XF 5423050 (0,45 μm) și se degazează. Acest sistem de solvenți a fost selectat în urma determinărilor repetate pe mai multe faze mobile cu diverse corapoarte de solvenți. Sistemul utilizat pentru determinarea NIC și PIR (ACN:MeOH:Tampon fosfat pH=7=40:35:25) nu a permis separarea optimală a componentelor EP din capsulele combinate.

*Soluția Tampon fosfat pH=3:* 6,8 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> kaliu dihidrofosfat se dizolvă în 1000 ml apă, iar pH-ul soluției se ajustează potențiomtric cu acid fosforic concentrat până la pH=3.

*Soluția standard:* Circa 5 mg (masa exactă) substanțe de referință (rutozidă) se dizolvă în etanol de 40% (40 ml etanol 96% se dizolvă în 100 ml apă) până la 10 ml, iar apoi se centrifughează (5mii rot/min-5min) (Soluție A). Din soluția A se prelevează câte 5 ml și se diluează cu faza mobilă (acetonitril: tampon=18:82) până la 10 ml (concentrația St=250 μg/ml) (Soluția B).

*Soluția probă:* 0,1 g conținut din capsulă se dizolvă în etanol de 40% (40 ml etanol 96% se dizolvă în 100 ml apă) până la 25 ml, iar apoi se centrifughează (5mii rot/min-5min) (Soluția A). Din soluția A se prelevează câte 5 ml și se diluează cu faza mobilă (acetonitril: tampon=18:82) până la 10 ml (concentrația EP=200mcg/ml).

*Testul pentru utilitatea sistemului cromatografic:* Se injectează 20 μl de soluții standard până când se obțin timp de retenție pentru rutozidă – 5,4 min după două injecții consecutive; înregistrând cel puțin 3 cromatograme în condițiile descrise mai sus.

*Efectuarea analizei.* În coloana cromatografică se injectează pe rând câte 20 μl soluție standard și soluție probă înregistrând cel puțin 5 cromatograme. Se determină valorile medii pentru aria picului de rutozidă în cromatogramele probei și soluțiile standard (Figura 14.13).

Conținutul de flavonozide în recalcul la rutozidă în capsule (X, %) se calculează în baza rezultatelor standardelor, utilizând formula:

$$X = \frac{S_x \cdot m_{st} \cdot 25 \cdot 10^5}{S_{st} \cdot m_{cap} \cdot 10 \cdot 10^5} \cdot 100 \quad (4.3)$$

unde:

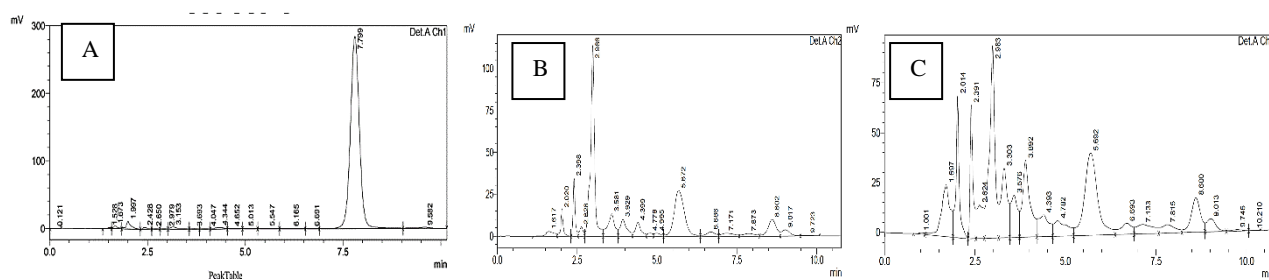
X – conținutul cantitativ de substanță activă în capsule, %;

S<sub>x</sub> – aria picului soluției probă;

S<sub>st</sub> – aria picului soluției standard;

m<sub>cap</sub> – masa probei luată pentru analiză, g;

m<sub>st</sub> – masa substanței standard, g;



**Fig. 4.13. Cromatogramele soluției standard de rutozidă (A), a soluției standard de EP (B) și a soluției probă din capsule combinate (C)**

Cantitatea de flavonoizide în extractul de păducel din capsule trebuie să fie de la 0,400%/500mg până la 0,600%/500 mg.

Rezultatele determinărilor arată (Tabelele A14.19 și A14.20), că conținutul flavonozidelor (recalcul la rutozidă) în capsule și în extractul de păducel substanță farmaceutică sunt practic identice, ceea ce demonstrează că acțiunea farmacologică antioxidantă a capsulelor este identică cu cea a EP individual, și că substanțele auxiliare, procesul tehnologic de preparare a capsulelor nu influențează conținutul de principii active din extractul vegetal [45].

Evaluarea statistică a rezultatelor dozării flavonozidelor în recalcul la rutozidă din capsule combinate este redată în tabelul A14.21:  $\bar{X}=0,5204117$ ,  $SD=0,00825760$ ;  $IQR=0,01648$ ;  $P>0,05$ .

#### 4.4. Standardizarea picăturilor auriculare combinate

##### 4.4.1. Stabilitatea picăturilor auriculare cu IHF și MU în condiții de stres și determinarea termenului de valabilitate în condiții obișnuite

Stabilitatea unui produs farmaceutic prezintă un criteriu important, datorită căruia pot fi determinate puritatea și siguranța acestuia. Schimbările care pot fi sunt identificate pe parcursul studiului, denotă apariția eventuală unor produși de degradare, care pot provoca consecințe grave asupra sănătății pacientului sau scăderea dozei de principii active, ulterior, efectul farmacologic v-

a lipsi. De aceea, este indispensabil să se cunoască puritatea și cum se comportă substanțele active în diferite condiții de mediu, iar studiile de stabilitate efectuate la faza elaborării produsului sunt menite să rezolve aceste probleme. Conform ghidurilor ICH, în momentul elaborării produsului trebuie să se petreacă studiile de stabilitate atât în condiții normale, pentru a urmări calea de degradare a substanței medicamentoase în timp real, cât și în condiții de stres, pentru a identifica produșii de degradare cu elucidarea, în continuare a structurii lor [248].

*Studiul profilurilor de degradare ale substanțelor active.*

#### Profilul de degradare al MU.

MU prezintă una din cele mai utilizate baze azotate în practica medicală, datorită spectrului larg al efectelor farmacologice. S-a stabilit ca MU normalizează metabolismul nucleic, accelerează regenerarea celulară și inhibă activitatea enzimei proteolitice, deoarece are efect antiinflamator [205]. În baza unor studii, s-a determinat că în soluții apoase sub acțiunea oxidanților puternici se produc transformări în structura inelului pirimidinic, modificând proprietățile lui. În soluțiile puternic alcaline substanța se oxidează, formându-se o sare de sodiu și are loc degradarea ulterioară a inelului pirimidinic cu formarea oxalatului de sodiu [233].

#### Profilul de degradare a IHF.

IHF este un derivat al aldehydei 5-nitrofuranice, cu un spectru larg de activitate antibacteriană, atât față de microorganismele gram pozitive, cât și față de microorganismele gram negative [244]. Compușii furanului manifestă instabilitate hidrolitică, și IHF nu este o excepție. Degradarea hidrolitică se pare să fie mult mai lentă la soluție acidă (pH=4,0) comparativ cu soluțiile neutre (pH=7,0) și alcaline (pH=9,0), procesul de degradare fiind favorizat de temperatură. Studiul structurilor produselor de degradare hidrolitică a sugerat, că în funcție de valorile pH-ului, degradare se petrece prin protonarea compusului, urmată de scindarea legăturii simple N-N, scindarea inelului și reducerea inelului heterociclic [30]. Hidroliza IHF în mediu alcalin este urmată de eliberarea produselor de degradare: aldehydă 5-nitrofuranică și izoniazidă.

*Influența factorilor de stres asupra stabilității picăturilor auriculare: variații ale pH-ului, oxidare, temperatură, umiditate, lumină.*

În evaluarea degradării în condiții de stres, cele mai esențiale condiții sunt hidroliza acidă și bazică, oxidarea, fotoliza și degradarea termică. Au fost efectuate studii privind influența acestor factori asupra stabilității IHF și MU din picăturile auriculare combinate. Dozarea principiilor activi în urma degradărilor forțate s-a efectuat prin metoda HPLC.

#### Studii de degradare forțată.

Prepararea probei pentru hidroliza acidă: se amestecă 3,0 ml de formă farmaceutică cu 3,0 ml de soluție de acid clorhidric 1 M, se agită bine timp de 3 ore pe o baie de apă la 70°C.

Pregătirea probei pentru hidroliza bazică: 3,0 ml de formă farmaceutică se amestecă cu 3,0 ml de soluție de hidroxid de sodiu 1 M, se agită bine timp de 3 ore pe o baie de apă la 70°C.

Pregătirea probei pentru stres oxidativ: 3,0 ml de formă farmaceutică se amestecă cu 3,0 ml de soluție de peroxid de hidrogen 5%, se agită bine timp de 6 ore la 25°C.

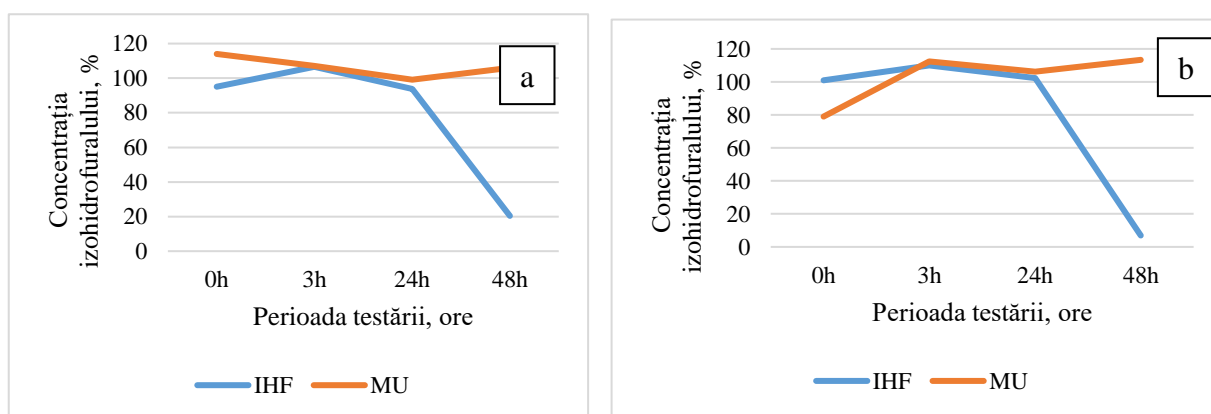
Pregătirea probei pentru stres termic: forma farmaceutică a fost plasată într-un termostat la 60°C timp de 1 lună.

Pregătirea probei pentru expunerea la lumină: 5,0 ml de formă farmaceutică au fost expuse la lumină UV (254 nm) timp de 7 zile.

După expunerea la diverși factori nocivi, probele de 0,5 ml au fost diluate cu fază mobilă la un volum de 25 ml (s-au obținut concentrații de 10 µg/ml IHF și 400 µg/ml MU), filtrate prin filtre cu membrană de 0,22 µm și supuse cromatografiei prin metoda HPLC.

În figurile A15.1 și A15.2 sunt redată cromatogramele IHF și MU din soluția probă din forma farmaceutică supusa stresului hidrolitic acid.

A fost evaluat conținutul cantitativ de IHF și MU în intervalul orar 0-48 ore. Rezultatul determinărilor este redat în figura 4.14a.



**Fig. 4.14. Modificările concentrației IHF și MU în urma hidrolizei acide (a) și bazice (b).**

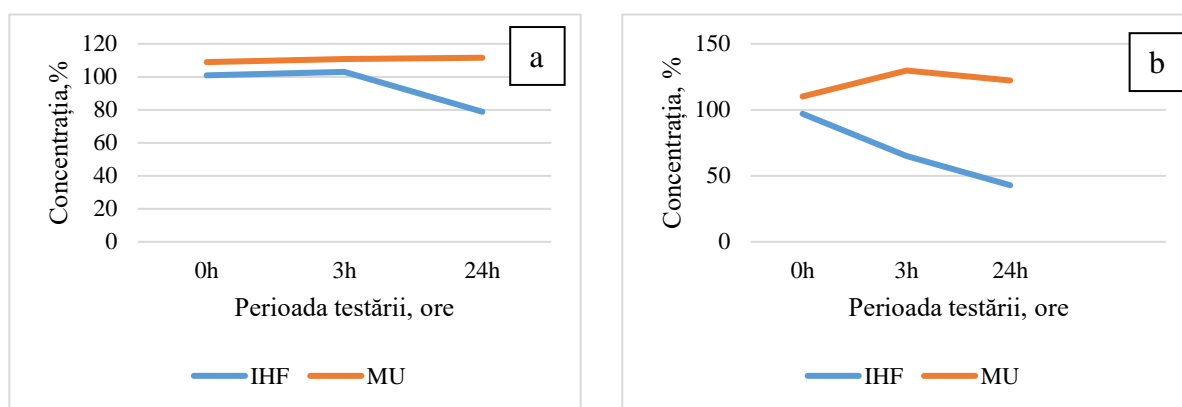
În urma testului efectuat, datele obținute prezentate în figura A15.2, se constată, ca MU este stabil la hidroliza acidă. Iar IHF este instabil, observându-se o degradare practic completă după 48 de ore (aproximativ 70%).

La hidroliza bazică (Figurile A15.3 și A15.4) se constată, că IHF prezintă variații de concentrație, degradează practic complet, fapt explicat prin hidroliza la nivel de grupare hidrazinică, dar și descompunerea ciclului furanic, produșii de degradare în mediul bazic fiind de natură alifatică (Figura A15.3 (4)). MU își menține constant valorile concentrației pe parcursul studiului. A fost evaluat conținutul cantitativ de IHF și MU în intervalul orar 0-48 ore. Rezultatul determinărilor este redat în figura 4.14b.



### Stres oxidativ.

În studiile de stabilitate, cercetarea profilului de degradare oxidativă este de o importanță majoră, în special, pentru stabilirea impactului oxigenului din aer în procesul de depozitare a produsului. În figurile A15.5 și A15.6 sunt reprezentate cromatogramele IHF și MU din forma farmaceutică supusă stresului oxidativ, iar evaluarea conținutului cantitativ de principii active este redată în figura 4.15a.



**Fig. 4.15. Modificările concentrației IHF și a MU în urma stresului oxidativ (a) și fotolitic (b)**

Se constată, că după 24 de ore de stres oxidativ cu peroxid de hidrogen de 5 %, MU este stabil. Dar în cazul IHF se observă o scădere majoră a concentrației pe parcursul studiului cu 22,16 %, fapt ce denotă instabilitatea lui la oxidare, prin începerea unor procese de degradare.

### Stres fotolitic.

Analizarea fotostabilității substanțelor medicamentoase se realizează pentru a stabili cu adevărat dacă expunerea lor la fluxul de lumină poate afecta caracteristicile preparatului. S-au înregistrat cromatogramele soluțiilor obținute după 0, 3 și 24 ore de expunere la lumină (Figurile A15.7, A15.8). A fost evaluat conținutul cantitativ de IHF și MU în intervalul orar 0-24 ore. Rezultatul determinărilor este redat în figura 4.15b.

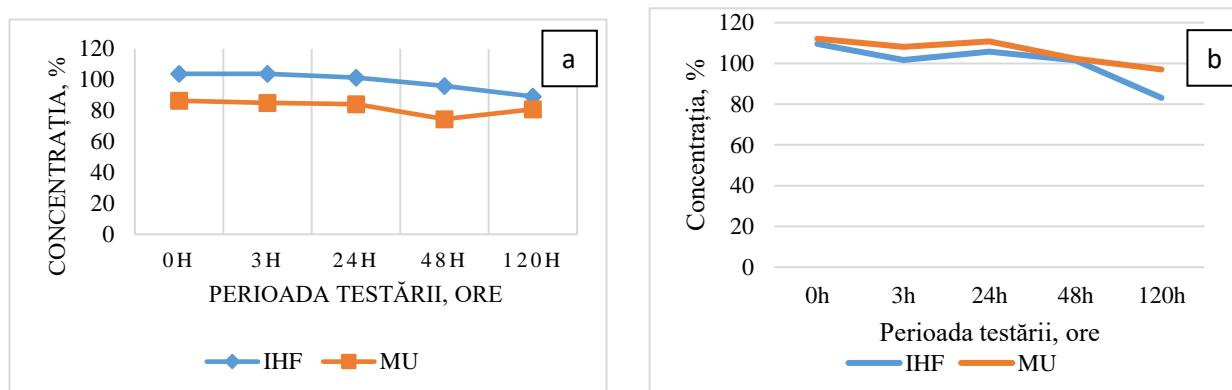
În baza datelor obținute se constată, că lumina are un impact negativ asupra IHF, care degradează accelerat după 24 de ore de stres fotolitic cu 54,14%. În cazul MU se observă o creștere a concentrației cu 19,65% în primele 3 ore, apoi aceasta începe să scadă, ceea ce la fel denotă un proces de degradare.

### Stres termic.

Un alt factor destul de important care poate să afecteze calitatea medicamentelor este temperatura. S-a studiat ce modificări poate să survină în forma medicamentoasă supusă stresului termic. S-au înregistrat cromatogramele soluțiilor obținute după 0, 3 și 24 ore (Figurile A15.9,

A15.10 – la 40°C și figurile A15.11, A15.12 – la 60°C).

A fost evaluat conținutul cantitativ de IHF și MU în intervalul orar 0-48 ore. Rezultatul determinărilor este redat în figura 4.16a și 4.16b.



**Fig. 4.16. Modificările concentrației IHF și MU în urma stresului termic 40°C și 60°C**

Datele obținute denotă, că ambele substanțe nu sunt stabile la temperatură, observându-se o micșorare a concentrațiilor pe parcursul testului, fapt ce denotă apariția unor produși de degradare la stresul termic.

*Evaluarea vâscozității picăturilor auriculare combinate în procesul studiilor de stabilitate.*

Este demonstrat faptul, că absorbția substanțelor medicamentoase din picăturile auriculare depinde atât de concentrația de medicament dizolvată cât și de durata de contact a țesutului extern cu fluidul care conține medicamentul. Deoarece medicamentul este îndepărtat prin eliminarea fluidului și/sau absorbția în țesutul urechii, substanța activă se furnizează în lichidul alimentat din vehiculul polimeric. În consecință, utilizarea unui vehicul polimeric facilitează mai ușor încărcarea țesutului otic având în vedere rata de penetrare tipică lentă și scăzută a antibioticelor insolubile în apă.

La etapa de cercetare a stabilității picăturilor auriculare policomponente, este extrem de important ca forma farmaceutică să-și păstreze valorile vâscozității în limitele normale – de la 10 până la 30 P·10<sup>2</sup>. Determinările inițiale s-au efectuat la data de 16.10.2021 pentru picăturile auriculare din 3 serii cercetate. Ulterior determinările au fost repetate cu periodicitatea de 3-6 luni (Tabelul A15.1 și Figura A.15.13). Din datele obținute se atestă o stabilitate a consistenței și a proprietăților reologice a picăturilor auriculare la depozitare în condiții normale, la temperatura de 25°C.

*Monitorizarea variațiilor de pH pe perioada studiilor de stabilitate.*

pH-ul soluției a fost monitorizat pe tot parcursul perioadei de depozitare, deoarece, după cum s-a relatat anterior, păstrarea și menținerea unui interval de pH favorabil, duce la mărirea perioadei de depozitare și stabilitate mai îndelungată. Măsurarea pH-ului s-a efectuat la intervalele stabilite de 3,6,12, 18, 24 luni (Tabelul A15.2). Din aceste date, putem observa că pe parcursul

depozitării, toate seriile pilot luate în studiu, au avut o fluctuație de pH, în mare parte având tendință de micșorare a acestuia. Totodată putem menționa, că valorile pH-ului se încadrează în limitele permise (4.5 - 7.0).

*Studiul stabilității în timp real și stabilirea termenului de valabilitate a picăturilor auriculare.*

Un aspect prioritar al studiilor de stabilitate este de a stabili perioada de valabilitate a preparatului. Ghidul internațional armonizat ICH Q1E, recomandă ca să fie stabilită o perioadă de retestare a duratei de viață a medicamentului. În acest scop, se utilizează analiza de regresie a datelor de stabilitate, degradarea fiind factorul primordial în analiza de durată pe termen lung [158].

Forma farmaceutică a fost depozitată pentru 24 de luni, în condiții obișnuite, la temperatura de  $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ ; umiditatea relativă  $60\% \pm 5\%$ . Periodicitatea testului în timp real s-a efectuat la interval egale de timp: 0, 1, 3, 6, 18, 24 luni. În această perioadă s-au monitorizat principalii parametri de calitate: identificare, pH, aspect, vâscozitate și conținutul substanțelor active (determinat prin metoda HPLC). Rezultatele determinărilor sunt prezentate în tabelul A15.3. După cum se observă din tabel, după păstrarea timp de 6 luni, parametrii de calitate selectați au fost în limitele stabilite de specificația de calitate [178].

Aceste studii au permis stabilirea perioadei de valabilitate pentru picăturile auriculare combinate cu IHF și MU de 2 ani (24 de luni), cu selectarea ambalajului care ar proteja produsul de lumină, depozitare la temperaturi sub  $25^{\circ}\text{C}$ .

***4.4.2. Stabilitatea picăturilor auriculare cu conținut de EC, CIP și ulei volatile de busuioc în condiții de stres și determinarea termenului de valabilitate în condiții obișnuite***

Profilul de degradare al CIP. Studiile privind cercetările de stabilitate efectuate pentru evidențierea profilului de degradare în condiții accelerate a CIP s-au efectuat cu scop de a demonstra selectivitatea metodei analitice de dozare a CIP în prezența produselor de degradare, unde s-a constatat, că ciprofloxacina are o tendință majoră spre degradare fotochimică la expunerea UV, cantitatea căreia se mărește la trecerea CIP în soluție. Totodată, s-a constatat că creșterea conținutului de impurități cu până la 15%, se datorează fenomenului de degradare fotolitică și în consecință scade conținutul de ciprofloxacina din forma farmaceutică studiată [204, 200]. Unele date din literatură, Torniainen K, et.al., 1996 prezintă informații despre influența pH-ului asupra cineticii soluțiilor cu conținut de CIP, prin modificarea timpului de înjumătățire ( $t_{1/2}$ ), dacă se va acționa fotochimic cu lampă de mercur la lungimea de undă 313 nm (Tabelul A15.4), astfel s-a demonstrat că pH-ul este unul dintre factorii decisivi și importanți în procesul de degradare fotolitică [287].

În acest context, a fost evaluat profilul pH-ului la degradarea fotolitică a CIP (Tabelul A15.4). Studiile de degradare accelerate, la temperatura de 60°C timp de 3 zile și lumina UV timp de 24 ore, au demonstrat că CIP este stabilă termic la o scădere ușoară a pH-ului. La fel s-a constatat că lumina este factorul de stres care provoacă degradarea mai accentuată a CIP, cu obținerea etilendiaminoderivatului CIP (produs de degradare a CIP) [337].

Conform datelor acestor studii, s-a constatat, că CIP își păstrează stabilitatea în mediu acid și bazic; nu prezintă labilitate termică; prezintă degradare moderată la acțiunea oxidanților puternici; factorul principal care poate duce la degradarea semnificativă a moleculei de interes este lumina. Acest lucru este mai pronunțat în soluții, și duce ireversibil la distrugerea inelului piperazinic și apariția impurității C- etilendiaminoderivat.

Profilul de degradare a EC. Dyas M și colaboratorii săi, 1994 descriu un lucrare în care indică stabilitatea nitratului de econazol în formulări de cremă și soluție și stabilesc că principalii produși de degradare sunt alcoolul 4-clorobenzilic și 1-(2,4-diclor-hidroxifenetil)imidazolul. Ambii degrandați sunt produși prin hidroliza eterului, la fel s-a demonstrat stabilitatea nitratului de econazol la temperatura camerei timp de 5 ani. Oxidanții reacționează cu aminele terțiare din structura EC, pentru a forma produși de degradare sub formă de derivați de N-oxid al EC. Produse de degradare se atestă și la expunerea la lumină. La expunerea factorilor de stres econazolul își pierde din proprietățile antifungice, studiile de incubare pe diverse medii de cultură raportează o majorare a concentrației minime fungicide de circa 2,6 ori. [75]. Din aceste date din literatură, putem puncta următoarele proprietăți ale EC: molecula este labilă termic; se poate degrada în urma acțiunii oxidanților puternici; este instabilă la acțiunea luminii; prezintă stabilitate în mediu acid și bazic.

Profilul de degradare a uleiului volatil de busuioc. Uleiul volatil de busuioc, ca parte componentă a formulării studiate, după datele din literatură, are etape de degradare, cu formarea unor compuși destul de toxici. În timpul prelucrării, transportului, depozitării, o parte din grupele funcționale termolabile și/sau labile la oxidare, pot fi degradate până la punctul de ineficiență sau chiar pot fi formați derivați toxici, care duc la cancerogenitate, teratogenitate și/sau forme de intoxicare, alergii etc. Formarea acestor oxi-derivați nocivi este susținută de accesul oxigenului/aerului la locul de reacție al moleculei de terpenă. De exemplu, diepoxidarea limonenului, duce la formarea unui compus numit diepoxilimonen, fiind un produs extrem de toxic pentru organismul uman.

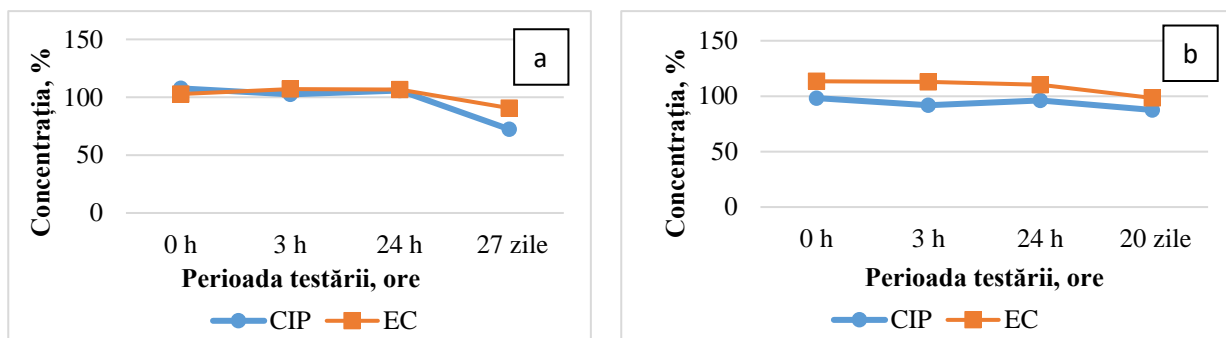
*Evaluarea procesului de degradare în condiții de stres a picăturilor auriculare combinate cu CIP, EC și UVB.*

În studiul degradării forțate sau degradării în condiții de stres, au fost evaluați cei mai importanți factori: hidroliza acidă și bazică, oxidarea, fotoliza și degradarea termică. Procedurile

de preparare a probelor și aplicarea condițiilor de stres au fost analogice celor descrise pentru picăturile cu IHF și MU. Evaluarea conținutului de principii active EC și CIP s-a efectuat prin metoda spectrofotometrică.

#### Stres hidrolitic acid și bazic.

Determinările spectrofotometrice s-au determinat imediat după adăugarea acidului și a bazei, 3 ore și la 24 ore, 27 zile. Rezultatele evaluării cantitative a conținutului de CIP și EC este redat în figura 4.17.

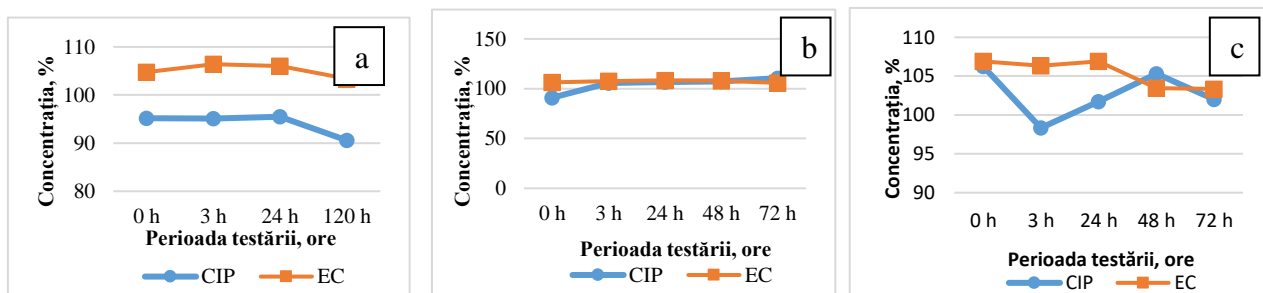


**Fig. 4.17. Modificarea concentrației CIP și EC în urma hidrolizei acide (a) și bazice (b)**

Rezultatele determinărilor denotă, că după 24 de ore ambele substanțe sunt stabile la hidroliză acidă. După 27 de zile se observă o degradare mai pronunțată a CIP în mediu acid: scăderea concentrației cu 32,74%. EC pierde din concentrație 11,16% după 20 de zile de stres acid. La acțiunea bazelor, după 24 de ore CIP oferă fluctuații de concentrație, explicate prin inițierea unor procese de degradare în mediu bazic. Păstrarea timp de 20 de zile confirmă acest fapt, se observă scăderea concentrației CIP cu 10,89%. EC este destul de stabil în mediu bazic, pierde din concentrație 13,26% după 20 de zile de stres.

#### Stres oxidativ.

Rezultatele evaluării cantitative a conținutului de CIP și EC în urma stresului oxidativ cu peroxid de hidrogen de diferite concentrații este redat în figura 4.18.



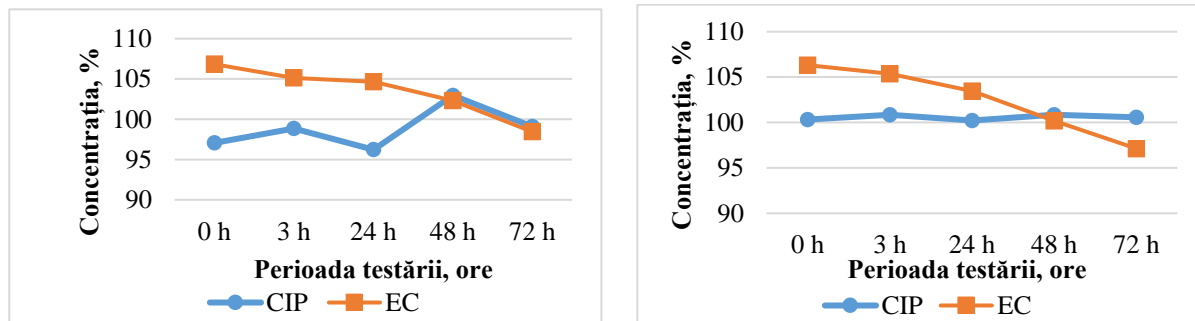
**Fig. 4.18. Modificarea concentrației CIP și EC în urma stresului oxidativ și fotolitic (oxidant sol. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3% (a) și sol. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 35% (b); stres fotolitic (c))**

După oxidarea cu H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 35% timp de 72 de ore absorbanța CIP crește, aceasta însă nu se explică prin mărirea concentrației, dar prin faptul, că apar produse de degradare, care manifestă absorbanță mai puternică în același diapazon a spectrului. EC este destul de stabil la oxidare, concentrația fiind fluctuantă cu revenire la cea inițială după 72 de ore de stres oxidativ.

Rezultatele determinărilor denotă, că după 24 de ore de stres oxidativ cu H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3% ambele substanțe sunt stabile. De aceea s-a luat decizia de a mări concentrația și cantitatea de oxidant.

Stres fotolitic. Testarea fotostabilității a substanțelor medicamentoase se efectuează pentru a demonstra dacă expunerea la lumină poate afecta în mod negativ soluția medicamentoasă. Rezultatele evaluării cantitative a conținutului de CIP și EC este după acțiunea luminii redat în figura 4.18 (c). Rezultatele determinărilor denotă, că lumina este un factor distructiv pentru ambele substanțe. CIP degradează substanțial după primele 3 ore, apoi, produsele de degradare măresc absorbanța, provocând fluctuații de concentrație. EC degradează la lumină după 48 de ore, pierde din concentrație 3,33%.

Stres termic. Temperatura este un factor care poate afecta în mod considerabil soluția medicamentoasă. De aceea am analizat degradarea soluției medicamentoase preparate la stresul termic. Forma farmaceutică a fost ținută în termostat la 40<sup>0</sup>C și 60<sup>0</sup>C, timp de 0 h, 3 h, 24 h. 48 h și 72 h. Rezultatele evaluării cantitative a conținutului de CIP și EC este redat în figura 4.19



**Fig. 4.19. Modificările concentrației CIP și EC în urma stresului termic la 40<sup>0</sup>C(a) și 60<sup>0</sup>C (b)**

Rezultatele evaluării stabilității termice denotă, că CIP este stabilă la temperatură, concentrația ei fluctuează în diapazon de 0,6%. EC are tendința de micșorare a concentrației, deși nu foarte brusc și proporțional.

Testarea stabilității în condiții de stres a picăturilor auriculare combinate cu conținut de CIP, EC și UVB, atestă că principalii factori de acțiune asupra declanșării procesului de degradare a principiilor active din forma farmaceutică sunt temperatura pentru EC, lumina pentru ambele, oxidanții pentru CIP și hidroliza în mediul bazic pentru CIP.

#### *Studiul stabilității în timp real și stabilitatea termenului de valabilitate.*

Forma farmaceutică a fost depozitată pentru o perioadă de 24 de luni, în condiții obișnuite, la temperatura de  $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ ; umiditatea relativă  $60\% \pm 5\%$ . Periodicitatea testului în timp real s-a efectuat la interval egale de timp: 0, 1, 2, 3, 6, 12, 18, 24 luni. În această perioadă s-au monitorizat principalii parametri de calitate: identificare, pH, aspect, vâscozitate și conținutul substanțelor active.

Principalul parametru de calitate, care denotă prezența sau absența proceselor de degradare a formei farmaceutice multicomponente este conținutul cantitativ de substanțe active. Astfel, pe întreaga perioadă de depozitare s-a efectuat, de rând cu ceilalți parametri, dozarea principiilor activi prin metoda spectrofotometrică. Rezultatele dozării spectrofotometrice a CIP și EC în urma depozitării în condiții obișnuite sunt redată în tab. A15.5 și A15.6.

Aceste studii au permis stabilirea perioadei de valabilitate pentru picăturile auriculare combinate cu CIP, EC și UVB de 2 ani (24 de luni), cu selectarea ambalajului care ar proteja produsul de lumină, depozitare la temperaturi sub  $25^{\circ}\text{C}$ .

Cercetările efectuate au stat la baza elaborării Protocolului studiilor de stabilitate a picăturilor auriculare combinate luate în studiu, și a specificației de calitate pentru produs, care au servit la elaborarea Monografiei farmaceutice.

#### **4.4.3. Standardizarea picăturilor auriculare combinate și elaborarea DAN**

Cercetările au fost efectuate în cadrul Laboratorului de Elaborare, analiză și standardizare a medicamentelor din cadrul CȘM al USMF „Nicolae Testemițanu” (Valica Vladimir, dr. hab. șt. farm., profesor universitar). Pentru standardizarea picăturilor auriculare combinate au fost selectați parametrii de standardizare, care sunt prevăzuți în Farmacopeea Română ed. X și Farmacopeea Europeană ed. 11.0. Toate cercetările de analiză au servit drept bază pentru procesul de standardizare.

*Standardizarea picăturilor auriculare cu conținut de IHF și MU „Izofural M”.*

**Descriere.** Suspensie transparentă, galbenă, vâscoasă, fără miros. Trebuie să corespundă cerințelor indicate în *Ph. Eur.*, 04/2011:0652 corrected 10.0 și *FR*, ed. X, p. 716, *OTOGUTTAE*.

#### **Identificare.**

1. HPLC: Pe cromatogramele soluțiilor probă, înregistrate la efectuarea indicelui “Dozare”, valorile timpului de retenție ale IHF și MU trebuie să corespundă valorilor timpului de retenție ale soluțiilor standard pentru verificarea selectivității sistemului cromatografic.

2. Reacții chimice: pentru IHF cu soluție  $\text{NaOH}$  0,1 mol/l: și cu soluție de *N,N*-dimetilformamidă: pentru MU cu soluție alcoolică nitrat de cobalt  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$ .

pH-ul. Trebuie să fie cuprins între 5,0 și 7,0. Determinarea se efectuează prin metoda potențiometrică conform *Ph. Eur.* 2.2.3.

**Impurități înrudite chimic.** CSS.

Pe cromatograma soluției probă, cu excepția spoturilor principale situate la nivelul spoturilor soluțiilor standard de IHF și MU, nu se admit prezența altor spoturi suplimentare. IHF: spot roșu la pulverizare cu sol. piridină și vizualizarea în UV la  $\lambda=366$  și  $254$  nm,  $R_f = 0,35$ . MU: spot roz la pulverizare cu sol. piridină și vizualizarea în UV la  $\lambda=254$  nm,  $R_f = 0,7$ .

**Dozare.** HPLC. (Metoda este expusă în capitolul 4.1.3.)

Conținutul de IHF trebuie să fie de cel puțin  $0,04085$  g și cel mult  $0,0515$  g ( $\pm 3\%$ ), iar cel de MU de cel puțin  $1,94$  g și cel mult  $2,06$  g ( $\pm 3\%$ ).

**Conservare.** Se depozitează la temperatura camerei, sub  $25^{\circ}\text{C}$ , în ambalaj original.

**Marcare.** Pe eticheta de flacon și pe cutia pliantă se inscripționează seria de fabricație, data de fabricație și data expirării.

**Ambalare.** *Ambalaj primar:* Flacoane de culoare albă din polietilenă cu capacitatea de  $5,0$  ml, prevăzut cu dop picurător; capac alb cu inel de siguranță.

*Ambalaj secundar:* Fiecare flacon, însoțit de prospect, se introduce în cutie individuală de carton inscripționat.

**Termenul de valabilitate.** 24 de luni (2 ani).

**Cod ATC și grupa farmacoterapeutică.** S03A A07 Preparate oftalmologice și auriculare - antiinfecțioase

**Adnotare.** Reactivii utilizați în MF recentă sunt descriși în *Ph.Eur.4.1.1*.

În urma aplicării procedurii de standardizare a fost alcătuită Specificația de calitate pentru produsul farmaceutic „Izofural M”, picături auriculare pentru tratamentul otitelor (tab. A15.7), Monografia Farmacopeică și Regulamentul Tehnologic de producere.

*Standardizarea picăturilor auriculare cu conținut de clorhidrat de ciprofoxacină, EC și UVB „Otocibex”*

Pentru standardizarea picăturilor auriculare combinate au fost selectați parametrii de standardizare, care sunt prevăzuți în Farmacopeea Română ed. X și Farmacopeea Europeană ed.11.0. [82, 88]. Toate cercetările de analiză au servit drept bază pentru procesul de standardizare.

**Descriere.** Suspensie transparentă, cu nuanță gălbuie, vâscoasă, cu miros specific de ulei de busuioc. Trebuie să corespundă cerințelor indicate în *Ph. Eur., 04/2011:0652 corrected 10.0* și *FR, ed. X, p. 716, OTOGUTTAE*.

**Identificare.** CSS. Metoda este descrisă în capitolul 4.2.1. CIP și EC sunt identificate în picăturile auriculare prin metoda CSS după valorile  $R_f$ -ului în raport cu soluțiile standard. *CIP:* fluorescență în UV și spot galben-oranj la revelare cu reactivul Dragendorf,  $R_f = 0,30$ . *EC:* fluorescență în UV și spot galben-oranj la revelare cu reactivul Dragendorf,  $R_f = 0,77$ .



**2. Reacții chimice:** pentru CIP - cu clorură de fier (III) și cu sulfat de cupru; pentru EC - cu reactivii de precipitare și cu soluția de difenilamină.

pH-ul. Trebuie să fie cuprins între 5,0 și 7,0. Determinarea se efectuează prin metoda potențiometrică conform Ph. Eur. 2.2.3.

Impurități înrudite chimic. CSS

Pe cromatograma soluției probă, înregistrate la efectuarea indicelui "Identificare", cu excepția spoturilor principale situate la nivelul spoturilor soluțiilor standard de CIP și EC, nu se admit prezența altor spoturi suplimentare. CIP: fluorescență în UV și spot galben-oranj la revelare cu reactivul Dragendorf,  $R_f = 0,30$ . EC: fluorescență în UV și spot galben-oranj la revelare cu reactivul Dragendorf,  $R_f = 0,77$ .

**Dozare.** 1. **Spectrometrie UV-VIS (CIP și EC).** Metoda este descrisă în capitolul 4.2.2.

**Cromatografia de gaze (UVB).** Metoda este descrisă în capitolul 4.2.4. Conținutul de UVB (recalcul la conținut de linalool): cel puțin 2,425% și cel mult 2,575 % ( $\pm 3$  %).

**Conservare.** Se depozitează la temperatura camerei, sub 25°C, în ambalaj original.

**Marcare.** Pe eticheta de flacon și pe cutia pliantă se inscripționează seria de fabricație, data de fabricație și data expirării.

**Ambalare.** *Ambalaj primar:* Flacoane de culoare albă din polietilenă cu capacitatea de 5,0 ml, prevăzut cu dop picurător; capac alb cu inel de siguranță.

*Ambalaj secundar:* Fiecare flacon, însoțit de prospect, se introduce în cutie individuală de carton inscripționat.

**Termenul de valabilitate.** 24 de luni (2 ani).

**Cod ATC și grupa farmacoterapeutică.** S03A A07 Preparate oftalmologice și auriculare - antiinfecțioase

**Adnotare.** Reactivii utilizați în MF recentă sunt descriși în *Ph.Eur.4.1.1*.

În urma aplicării procedurii de standardizare a fost alcătuită Specificația de calitate pentru produsul farmaceutic „Otocibex”, picături auriculare pentru tratamentul otitelor (tab. A15.8), Monografia Farmaceutică și Regulamentul Tehnologic de producere.

## 4.5. Standardizarea capsulelor combinate

### 4.5.1. Stabilitatea capsulelor cu conținut de PIR, NIC și extract uscat de păducel în condiții de stres și determinarea termenului de valabilitate

Stabilitatea formelor farmaceutice solide este un aspect critic în dezvoltarea acestora, având un impact direct asupra eficacității, siguranței și calității. Stabilitatea formelor farmaceutice solide

este influențată de mai mulți factori, printre care umiditatea, temperatura, lumina, oxigenul, interacțiunile cu ambalajul și cu alte substanțe chimice. În studiile de stabilitate a capsulelor combinate cu NIC, PIR și EP au fost studiate profilurile de degradare ale principiilor activi, ca bază pentru evaluarea factorilor de stres.

*Evaluarea profilului de degradare a PIR.* Printre factorii care pot contribui la degradarea PIR se numără expunerea la lumină, căldură excesivă, umezeală și oxidare, care pot provoca schimbări în structura moleculară a PIR. Principalele produse de degradare sunt acidul pirrolidon-2-carboxilic (PCA), format prin hidroliza legăturii amidei; acidul pirrolidin-2-onă (2-oxopirrolidină), care se formează prin eliminarea grupării amide; aminele primare și secundare, care se pot forma în rezultatul degradării oxidative. Este important să se mențină condițiile adecvate de depozitare a PIR pentru a minimiza riscul de degradare: recipient etanș, ferit de lumină și umiditate, și la o temperatură controlată. [75, 95].

*Evaluarea profilului de degradare a NIC.* Nicergolina este sensibilă la lumină, degradează cu formarea impurități înrudite chimic: acid nicotinic, 6-metoxi-1,4-dihidropiridină, piperidină. La hidroliză, în special în mediu acid, se formează produse de degradare: acetil-, diacetil-, dihidronicergolină, nicotil-6-metoxi-lisuridă. La oxidarea NIC se formează nicotinamida, din cauza oxidării grupului piperazinic din moleculă. Alte produse de degradare sunt N-metilnicotinamida și N-acetilnicotinamida. La temperaturi ridicate nicergolina se descompune în: N-metil-dihidronicotinamidă, N-metil-pirrolidinonă, 6-metoxi-1,2,3,4-tetrahidronicotinamidă, 1,6-dimetoxi-3,4-dihidro-1,2,3-benzotiadiazină. Este cunoscut faptul, că produsele de degradare ale NIC pot avea efecte farmacologice diferite față de NIC însăși [261, 175, 97].

*Evaluarea profilului de degradare a EP.* Cu referire la EP, se constată că factorii externi, precum temperatura, lumina și umiditatea pot influența stabilitatea acestuia în combinații cu substanțele medicamentoase. Cele mai importante modificări fizice pot fi schimbările de culoare și aspect fizic (decolorare, formarea depozitelor solide), care indică o modificare a compușilor activi. Oxidarea flavonozidelor din extract, precum și degradarea polifenolilor diminuează substanțial activitatea antioxidantă, până la pierderea completă a acesteia. Alți compuși organici activi din păducel, cum ar fi acizii organici și triterpenoidele, pot fi afectați în urma expunerii la condiții inadecvate. Păducelul conține vitamine și minerale importante, iar expunerea la lumină și căldură excesivă poate duce la pierderea sau degradarea acestor substanțe nutritive. În condiții de modificare a pH-ului, EP poate suferi modificări hidrolitice, iar substanțele medicamentoase din combinație intensifică acest proces. La asocierea EP cu alte substanțe în aceeași formulare este important să se efectueze studii de compatibilitate [194, 96].

*Influența factorilor de stres asupra stabilității capsulelor: hidroliză acidă și bazică, oxidare, temperatură, umiditate, lumină.*

În evaluarea degradării în condiții de stres, cele mai esențiale condiții sunt hidroliza acidă și bazică, oxidarea, fotoliza și degradarea termică. Au fost efectuate studii privind influența acestor factori asupra stabilității NIC, PIR și EP din capsule combinate. Dozarea principiilor activi în urma degradărilor forțate s-a efectuat prin metoda HPLC.

#### Studii de degradare forțată.

Prepararea probei pentru hidroliza acidă: conținutul unei capsule (masă exactă) se dizolvă în 5,0 ml de soluție metanolică de HCl 0,1 M și se omogenizează. Soluția obținută se amestecă cu 3,0 ml de soluție de acid clorhidric 1 M, se agită bine timp de 3 ore pe o baie de apă la 70°C.

Pregătirea probei pentru hidroliza bazică: conținutul unei capsule (masă exactă) se dizolvă în 5,0 ml de soluție metanolică de HCl 0,1 M și se omogenizează. Soluția obținută se amestecă cu 3,0 ml de soluție de hidroxid de sodiu 1 M, se agită bine timp de 3 ore pe o baie de apă la 70°C.

Pregătirea probei pentru stres oxidativ: conținutul unei capsule (masă exactă) se dizolvă în 5,0 ml de soluție metanolică de HCl 0,1 M și se omogenizează. Soluția obținută se amestecă cu 3,0 ml de soluție de peroxid de hidrogen 5%, se agită bine timp de 6 ore la 25°C.

Pregătirea probei pentru stres termic: forma farmaceutică a fost plasată într-un termostat la 60°C timp de 1 lună.

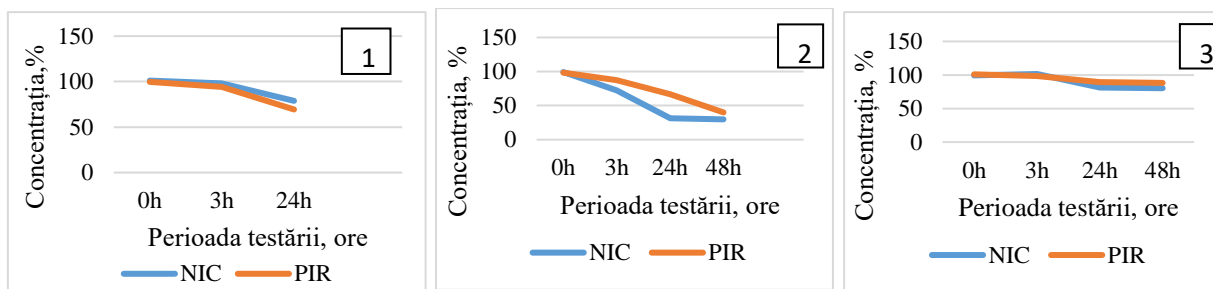
Pregătirea probei pentru expunerea la lumină: 30 de capsule au fost expuse la lumină UV (254 nm) timp de 7 zile.

După expunerea la diverși factori nocivi, din probe s-au prelevat câte 0,5 ml au fost diluate cu fază mobilă la un volum de 25 ml, filtrate prin filtre cu membrană de 0,22 μm și supuse cromatografiei prin metoda HPLC.

Cele mai importante modificări pe cromatogramele probelor supuse degradării forțate s-au petrecut sub acțiunea luminii (Figura A.15.14). și oxidanților (Figura A15.15). Toate substanțele au degradat, pe cromatograme au apărut minimum câte un pic suplimentar: NIC – un pic la 2,98 min, PIR – trei picuri 6,21 min; 7,11 min și 8,41min; EP – două picuri la 8,01 min și la 10,21 min

Și la acțiunea oxidanților toate trei substanțe au manifestat diferite grade de degradare, cu modificarea profilului cromatografic: NIC – picul de bază s-a deplasat la 3,09 min și a apărut un pic suplimentar la 4,01 min, PIR – un pic suplimentar la 4,68 min; EP – două picuri la 7,91 min și la 4,99 min.

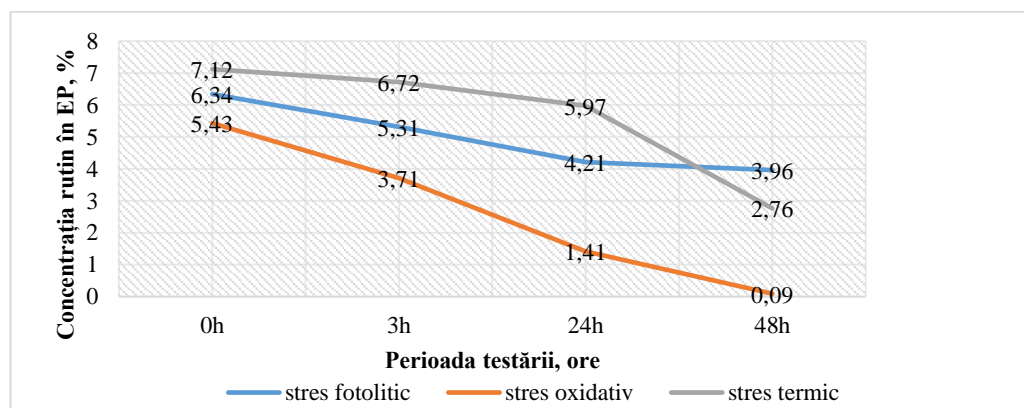
A fost evaluat conținutul cantitativ de NIC și PIR în intervalul orar 0-48 ore de stres fotolitic și 24 de ore stres oxidativ și termic. Rezultatul determinărilor este redat în figura 4.20.



**Fig. 4.20. Modificările concentrației în urma stresului oxidativ (oxidant sol. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 5%) (1), stresului fotolitic (2) și stresului termic**

Se constată, că după 24 de ore de stres oxidativ cu peroxid de hidrogen de 5 %, NIC degradează cu circa 12%, iar PIR tocmai cu 30%. În baza datelor obținute se constată, că lumina are un impact negativ asupra substanțelor, NIC degradează accelerat după 24 de ore de stres fotolitic cu aproape 68%. În cazul PIR se observă o scădere a concentrației cu 58% în în timp de 48 de ore. Stresul hidrolitic acid și bazic au provocat degradarea NIC în proporție de 18,9% și respectiv 12,9% în 24 de ore, și a PIR în proporție de 8,08% și 11,94% în 24 de ore. Temperatura este un factor provocator de degradarea ambelor substanțe, acestea își pierd din concentrație: NIC – 19,07% și PIR – 12,75%.

A fost determinat conținutul de flavonozide exprimat în % de rutozidă în urma expunerii la condițiile de stres oxidativ, termic și fotolitic a capsulelor combinate. După cum se observă din figura 4.21, toți trei factori de stres au un impact negativ asupra conținutului de flavonozide, provocând micșorarea acestuia. În cazul procesului oxidativ, flavonozidele practic sunt complet degradate.



**Fig. 4.21. Modificările concentrației rutozidei în EP din componența capsulelor supuse stresului fotolitic, oxidativ și termic**

*Studiul stabilității în timp real și stabilirea termenului de valabilitate a capsulelor combinate cu NIC, PIR și EP.*

Studiul stabilității în timp real implică monitorizarea proprietăților fizice, chimice și

microbiologice ale capsulelor combinate pe parcursul unui anumit interval de timp, care poate fi de obicei mai multe luni sau chiar ani. Capsulele sunt depozitate în condiții de mediu controlate, iar mostrele sunt luate la intervale regulate pentru a fi testate. Aceste teste includ evaluarea aspectului fizic al capsulelor, conținutului activ, uniformitatea dozajului și alte proprietăți specifice. Determinarea duratei de timp pentru care capsulele combinate își păstrează eficacitatea, siguranța și calitatea în condiții de depozitare specificate, este foarte important.

Forma farmaceutică a fost depozitată pentru 24 de luni, în condiții obișnuite, la temperatura de  $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ ; umiditatea relativă  $60\% \pm 5\%$ . Periodicitatea testului în timp real s-a efectuat la interval egale de timp: 0, 1, 3, 6, 18, 24 luni. În această perioadă s-au monitorizat principalii parametri de calitate: identificare, aspect, vâscozitate și conținutul substanțelor active (determinat prin metoda HPLC). Rezultatele determinărilor sunt prezentate în tabelul A15.9. După cum se observă din tabel, după păstrarea timp de 6 luni, parametrii de calitate selectați au fost în limitele stabilite de specificația de calitate.

Aceste studii au permis stabilirea perioadei de valabilitate pentru capsulele combinate cu NIC, PIR și EP de 2 ani (24 de luni), cu selectarea ambalajului care ar proteja produsul de lumină, depozitare la temperaturi sub  $25^{\circ}\text{C}$ .

#### ***4.5.2. Standardizarea capsulelor combinate și elaborarea DAN***

Pentru standardizarea picăturilor auriculare combinate au fost selectați parametrii de standardizare, care sunt prevăzuți în Farmacopeea Română ed. X și Farmacopeea Europeană ed.11.0. pentru capsule [82, 88]. Toate cercetările analitice au servit drept bază pentru procesul de standardizare.

Descriere. Capsule de forma cilindrică cu capete emisferice, suprafața uniformă, lucioasă. Mărimea capsulei Nr. 0. Culoarea capsulelor: corp – culoare roșie, capac – culoare roșie. Conținutul capsulelor prezintă pulbere de culoare brună pal, fără miros. Trebuie să corespundă cerințelor indicate în Ph. Eur. 0016 „Capsule”.

#### Identificare.

1. Nicergolină. *Reacțiile cu acid sulfuric concentrat și la alcaloizi.*

*HPLC (Ph. Eur., 2.2.29).* Timpul de retenție al picului major din cromatograma probei de analizat la “Dozare” trebuie să corespundă cu timpul de retenție al picului de NIC din soluția standard.

*Spectrofotometrie UV-VIS.* Soluția conținutului capsulelor corespunzătoare concentrației de  $20\text{ }\mu\text{g/ml}$  NIC în soluție metanolică de HCl 0.1 M posedă maxim de absorbție la  $288\pm 2\text{ nm}$ . În calitate de soluție de compensare se utilizează soluție metanolică de HCl 0,1M.

2. Piracetam. *Reacția cu hidroxid de sodiu 10%.*

*Spectrofotometrie UV-VIS.* Soluția conținutului capsulelor corespunzătoare concentrației de 20 µg/ml PIR în soluție metanolică de HCl 0.1 M posedă maxim de absorbție la 205±2 nm. În calitate de soluție de compensare se utilizează soluție metanolică de HCl 0,1M.

3. Extract uscat de păducel. După timpul de retenție a rutozidei, prin compararea cromatogramelor soluției probă și a soluției standard de rutozidă: t=5.4 min (cap. Dozare).

Masa medie și uniformitatea masei. Analiza se efectuează conform prevederilor *Ph. Eur.* 2.09.05. Conținutul din 20 capsule testate se utilizează la determinare indicelui „Dozare” și a altor parametri incluși în MF.

Dezagregare. Analiza se efectuează conform prevederilor *Ph. Eur.*, 2.9.1.

Cel mult 15 min.

Dizolvare. Cel puțin 75% timp de 30 min.

Analiza se efectuează conform prevederilor *Ph. Eur.*, 2.9.3., utilizând aparatul II de dizolvare (cu palete). Mediul de dizolvare – apă R; volumul mediului de dizolvare - 500 ml; temperatura - 37±2°C; viteza de rotație a paletelor – 100 rotații/min; durata dizolvării – 30 min. Se plasează câte 1 capsulă în fiecare din cele 6 vase cu mediu de dizolvare. În vasul nr. 7 se plasează o capsulă eliberată de conținut. După 30 min se prelevează 20-30 ml soluție din centrul vasului pentru dizolvare, se filtrează prin filtru de hârtie “bandă albastră”, aruncând primii 5-10 ml de filtrat.

*Soluția probă:* 5 ml probă filtrată se introduce într-un balon cotat cu capacitatea 10 ml, se completează cu soluție metanolică de HCl 0,1 M până la cotă și se omogenizează. Paralel în același mod se prepară *soluția blanc* din conținutul vasului nr. 7.

*Soluția standard de PIR:* Circa 0,05 g (masă exactă) substanță de referință PIR se introduce într-un balon cotat de 25 ml, se dizolvă în soluție metanolică de HCl 0,1 M și se completează până la cotă cu același diluant. 1,2 ml din soluția obținută se transferă în alt balon cotat de 25 ml și se completează până la cotă cu același diluant (dil.1). Apoi, 2,5 ml de soluție obținută se diluează la 10 ml cu același diluant (dil.2).

*Soluția standard de NIC:* Circa 0,005 g (masă exactă) substanță de referință NIC se introduce într-un balon cotat de 25 ml, se dizolvă în soluție metanolică de HCl 0,1 M și se completează până la cotă cu același diluant. Apoi, 5,0 ml din soluția obținută se transferă în alt balon cotat de 25 ml și se completează până la cotă cu același diluant (dil.1). Apoi, 2,5 ml de soluție obținută se diluează la 10 ml cu același diluant (dil.2).

Se măsoară absorbanta soluției probă, soluției blanc și a soluțiilor standard la lungimea de undă 204 nm și 288 nm în cuvă cu grosimea 10 mm. În calitate de soluție de compensare se utilizează soluție metanolică de HCl 0,1M.

Cantitatea de PIR (X, g), care a trecut în mediul de dizolvare, se calculează conform formulei:

$$X = \frac{(A_{pr}-A_b)*m_{st}*10*1.2*2.5*500*P}{A_{st}0.5*5*25*25*10} = \frac{(A_{pr}-A_b)*m_{st}*0.96*P}{A_{st}}, \quad (4.4)$$

Cantitatea de NIC (X, g), care a trecut în mediul de dizolvare, se calculează conform formulei:

$$X = \frac{(A_{pr}-A_b)*m_{st}*10*5*2.5*500*P}{A_{st}0.5*5*25*25*10} = \frac{(A_{pr}-A_b)*m_{st}*4*P}{A_{st}}, \quad (4.5)$$

unde  $A_{pr}$ ,  $A_b$  și  $A_{st}$  – absorbanta soluției probă, soluției blanc și soluției standard corespunzător;  
 $m_{st}$  – masa substanței de referință (PIR, NIC), corespunzătoare luată în lucru, g; P – masa medie a unei capsule.

Uniformitatea unităților dozate. Analiza se efectuează conform prevederilor *Ph. Eur.*, 2.9.40., aplicând metoda “Uniformitatea conținutului”.

*Soluția probă:* Din seria analizată se prelevează 10 capsule. Conținutul fiecărei capsule aparte se trec cantitativ în balon cotat cu capacitatea 50 ml, se adaugă 30 ml soluție metanolică de HCl 0,1M și se tine pe baie de ultrasunet timp de 5 min, apoi se completează cu același solvent și se omogenizează. Alicota se centrifughează. 1 ml centrifugat se trece în alt balon cotat cu capacitatea 25 ml, se completează volumul la cotă cu soluție metanolică de HCl 0,1M și se omogenizează.

*Soluțiile standard:* Se folosesc soluțiile standard preparate pentru testul de dizolvare.

Se măsoară absorbanta a probelor preparate și a soluțiilor standard la lungimea de undă 202 nm și 288 nm în cuvă cu grosimea 10 mm. În calitate de soluție de compensare se utilizează soluție metanolică de HCl 0,1M.

Conținutul de PIR în fiecare capsulă (X), exprimat în g per capsulă, se calculează conform formulei:

$$X = \frac{A_{pr}*m_{st}*50*25*1.2*2.5*P}{A_{st}*0.5*1*25*25*10} = \frac{A_{pr}*m_{st}*1.2}{A_{st}}, \quad (4.6)$$

Conținutul de NIC în fiecare capsulă (X), exprimat în g per capsulă, se calculează conform formulei:

$$X = \frac{A_{pr}*m_{st}*50*25*5*2.5*P}{A_{st}*0.5*1*25*25*10} = \frac{A_{pr}*m_{st}*5}{A_{st}}, \quad (4.7)$$

unde  $A_{pr}$ ,  $A_b$  și  $A_{st}$  – absorbanta soluției probă, soluției blanc și soluției standard corespunzător;  
 $m_{st}$  – masa substanței de referință (PIR, NIC), corespunzătoare luată în lucru, g; P – masa medie a unei capsule.

Conform *Ph. Eur.*, 2.9.40., tabelul 2.9.40.-2 se calculează valoarea de acceptare (AV), care nu trebuie să depășească valoarea LI. În caz contrar studiul se repetă pe alte 20 capsule. AV finală pentru toate 30 capsule nu trebuie să depășească valoarea LI, iar conținutul individual de PIR și NIC în fiecare capsulă trebuie să fie cel puțin  $(1-L2 \cdot 0,01) \cdot M$  și cel mult  $(1+L2 \cdot 0,01) \cdot M$ , unde  $L1=15$  și  $L2=25$ .

Contaminare microbiană. Controlul contaminării microbiene se efectuează conform *Ph. Eur.*, 5.1.4., prevederile pentru preparate neapoase pentru administrare orală. În 1,0 g produs farmaceutic se

admite prezența a cel mult 1000 număr total de microorganisme aerobe (*NTMA*), și cel mult 100 număr total de levuri și fungi filamentoși (*NRLF*), iar *Escherichia coli* în absență.

#### 1. Dozare NIC și PIR.

1.1. *HPLC (Ph. Eur., 2.2.29)*. Metoda a fost descrisă în capitolul 4.3.3.

Conținutul de NIC trebuie să fie de cel puțin 0,004365 g și cel mult 0,004635 g ( $\pm 3\%$ ), iar cel de PIR de cel puțin 0,194 g și cel mult 0,206 g ( $\pm 3\%$ ).

1.2. *Spectrofotometrie (metoda alternativă)*. Metoda a fost descrisă în capitolul 4.3.2.

Cantitatea PIR într-o capsulă trebuie să fie de la 185 mg/500 mg până la 215mg/500 mg, iar cantitatea de NIC trebuie să fie de la 4,05 mg/500mg până la 4,95 mg/500 mg.

1.3. Dozare EP. HPLC. Metoda a fost descrisă în capitolul 4.3.4.

Cantitatea de flavonozide în extractul de păducel din capsule trebuie să fie de la 0,400%/500mg până la 0,600%/500 mg.

#### Ambalare

*Ambalaj primar*: câte 50 sau 100 capsule în flacon de sticlă, polietilenă sau polipropilenă cu capac din masă plastică sau câte 10 capsule în blistere din peliculă de PVC și folia de aluminiu.

*Ambalaj secundar*: câte un flacon sau câte 5 sau 10 blistere împreună cu instrucțiunea pentru administrare se plasează în cutia individuală din carton pentru ambalaj de consum model crom sau crom-erzaț conform GOST 7933-89.

Ambalajul comun și de transport conform GOST 17768-90.

#### Marcare.

Pe eticheta cutiei colective se indică suplimentar numărul de ambalaje individuale. Marcarea ambalajului de transport în conformitate cu cerințele prevăzute de GOST 14192-96.

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 ATC: N06B X: alte produse stimulante SNC; C04AE02: vasodilatatoare periferice, alcaloizi din ergot.

În urma aplicării procedurii de standardizare a fost alcătuită Specificația de calitate pentru produsul farmaceutic „Otoneurex” picături auriculare pentru tratamentul otitelor (Tabelul A15.10), Monografia Farmacopeică și Regulamentul Tehnologic de producere.

#### **Sinteza capitolului 4**

Identificarea substanțelor active IHF și MU s-a realizat prin reacții chimice de culoare, sensibilitatea reacțiilor nu depășește 20  $\mu\text{g/ml}$ . Metoda CSS a fost aplicată pentru identificarea



substanțelor medicamentoase IHF și MU în forma farmaceutică) prin măsurarea factorului de retenție  $R_f$  cu utilizarea fazei mobile etilacetat-hexan (2:1) și compararea lui cu substanțele individuale. Aprecierea purității formei farmaceutice s-a efectuat prin excluderea apariției spoturilor suplimentare pe cromatogramele soluțiilor probă de picături auriculare. Substanțele active au fost identificate și prin spectrofotometrie UV-Vis: spectrele UV-VIS ale probelor de picături auriculare, emise în regiunea 230-450 nm, au prezentat un maxim de absorbție specific IHF: la  $373 \pm 1$  nm și 1 maxim de absorbție caracteristic MU: la  $267 \pm 1$  nm, fiind identice cu maximele de pe spectrele UV-VIS ale soluțiilor standard de substanțe medicamentoase. A fost dezvoltată și validată o metodă HPLC simplă în fază inversă cu eluție izocratică și detecție UV-Vis pentru identificarea și determinarea simultană a IHF și MU în picături auriculare. Metoda a fost validată și s-a dovedit a fi specifică, sensibilă, exactă, robustă, precisă și reproductibilă. Studiile de degradare forțată au indicat că produsele de degradare au fost bine separate de ingredientul activ pur, cu diferențe în valorile timpului de retenție. Prin urmare, metoda cromatografică dezvoltată poate fi aplicată cu succes pentru analiza de rutozidă a picăturilor elaborate.

Reacțiile de culoare pentru CIP (cu  $\text{FeCl}_3$ ,  $\text{CuSO}_4$ ) și EC (cu reactivi de precipitare, difenilamină) s-au dovedit a fi sensibile ( $20 \mu\text{g/ml}$ ). Substanțele active CIP și EC din picăturile auriculare au fost separate prin CSS în sistemul de solvenți Metanol: Acetonitril (40:60), care a fost aplicat și pentru controlul purității. Soluțiile probă de picături auriculare cu CIP, EC și UVB au înregistrat maxime pe spectrele UV-Vis: la  $280 \pm 1$  nm (CIP) și la  $228 \pm 1$  nm (EC), fiind identice cu cele de pe spectrele UV-VIS ale soluțiilor standard de substanțe medicamentoase. UVB din probă a fost analizat prin spectrometrie de masă, fiind identificați cei mai importanți constituenți responsabili de activitate farmacologică: cineol, eucaliptol, metilcarvicol, linalool, ultimii doi fiind majoritari. Metoda spectrofotometrică UV-Vis elaborată a fost validată după parametrii de linearitate, exactitate, limită de detecție și cuantificare, precizie și robustețe și aplicată pentru dozarea CIP și EC în picături auriculare. Pentru dozarea CIP și EC a mai fost dezvoltată și metoda HPLC (cu fază inversă, eluție izocratică, detecție UV), care la fel a fost validată în conformitate cu rigorile ICH, metoda dezvoltată permite cuantificarea substanțelor active concomitent, este reproductivă și poate fi aplicată cu succes pentru analizele de rutozidă a formei farmaceutice. UVB din componența picăturilor auriculare a fost analizat prin cromatografie de gaze. GC s-a aplicat pentru dozarea UVB din componența picăturilor auriculare în recalcul la linalool, și în comparație cu conținutul linaloolului în UVB pur: rezultatele obținute denotă o regăsire de 98,7% de UVB în picăturile auriculare combinate.

Identificarea componentelor din capsule combinate cu NIC, PIR și EP prin metode chimice s-a efectuat prin reacții de culoare pentru NIC (cu  $\text{H}_2\text{SO}_4$  și pentru alcaloizi) și PIR,

spectrofotometric UV-Vis după maximele de absorbție la 205 nm (PIR) și 289 nm (NIC) și prin HPLC după timpii de retenție (1,91 min PIR și 5,61 min NIC). Determinarea cantitativă a NIC și PIR din capsule s-a realizat prin metodele spectrofotometrică în UV-Vis și HPLC, ambele metode au fost validate, fiind demonstrată aplicabilitatea acestora în analiza capsulelor prin introducerea în Specificația de calitate pentru produsul finit. Extractul de păducel din componența capsulelor combinate a fost analizat prin metoda HPLC, fiind elaborată tehnica de dozare a flavonozidelor din extract în recalcul la rutozidă. A fost demonstrată corelarea conținutului de rutozidă în capsule cu conținutul de rutozidă din extract.

S-a cercetat stabilitatea formelor farmaceutice elaborate prin expunerea în condiții de stres hidrolitic (acid și alcalin), oxidativ, termic, fotolitic. Totodată, produsele au fost depozitate în condiții obișnuite. S-au stabilit condițiile de depozitare și termenii de valabilitate pentru fiecare produs: câte 2 ani (24 de luni).

Picăturile auriculare și capsulele elaborate au fost standardizate după parametrii prevăzuți de Farmacopeea Română și Ph. Eur. ed. 11.

Ca rezultat al cercetărilor analitice efectuate au fost elaborate Specificațiile de calitate și Monografiile farmaceutice pentru produsele: picături auriculare combinate „Izofural M” cu conținut de UHF și MU; picături auriculare combinate „Otocibex” cu conținut de CIP, EC și UVB; capsule combinate „Otoneurex” cu conținut de NIC, PIR și EP.

## 5. STUDII DE INOFENSIVITATE ȘI EFICACITATE A PICĂTURILOR AURICULARE COMBinate ȘI A CAPSULELOR ELABORATE

### 5.1. Determinarea toxicității acute a picăturilor auriculare și capsulelor combinate

Valoarea LD50 reprezintă doza care provoacă letalitate la 50% din numărul animalelor supuse experimentului și sugerează informații pentru a clasifica în mod adecvat din punctul de vedere al inofensivității un compus farmaceutic [109, 230].

*Determinarea toxicității acute a picăturilor auriculare cu conținut de CIP, EC și UVB.*

Studiul preclinic a avut ca obiectiv determinarea toxicității acute a produsului medicamentos combinat cu denumirea de lucru: CBE (ciprofloxacina + ulei de busuioc+econazol) [64]. Concentrațiile farmaceutice cu corespunderea dozelor respective de 100 mg/kg, 500 mg/kg, 1000 mg/kg și 2000 mg/kg au fost pregătite în cadrul Laboratorului de analiză, standardizare și control al medicamentelor al CȘM. Preparatul a fost diluat în volume constante de soluție fiziologică de 0,9%, în funcție de doza substanțelor și cantitatea de lichid maxim admisibilă pentru administrarea enterală.

Investigațiile preclinice au fost aprobate de Comitetul de Etică a Cercetării al IP USMF „Nicolae Testemițanu”, proces-verbal nr. 27 din 14.11.2016 și nr. 45 din 26.02.2020.

Studiul toxico-farmacologic a fost efectuat în Laboratorul de evaluare preclinică și clinică a medicamentelor al CȘM pe 204 șoricei albi de laborator (102 masculi, 102 femele), cu vârsta de 12 săptămâni, masa de 18-26 g la inițierea studiului (194 șoricei – în loturile experimentale, 12 șoricei – în lotul-martor/control) și pe 72 șobolani (30 masculi 42 femele) cu masa corporală între 210 și 240 g, repartizați în loturi a câte 6, fiecare în celulă separată (12 animale - în loturi de control și 60 în loturi de baza). Pe parcursul experimentului a fost menținut ciclul lumină/întuneric de 12 ore. Temperatura 25°C și umiditatea relativă a aerului 60% au fost menținute cu ajutorul climatizorului electric „Panasonic” CS/CU-YE9MKE. Alimentele standard pentru șoarecii de laborator, echilibrate în proteine, glucide, lipide, minerale și vitamine, au fost administrate sub formă de granule și apă *ad libitum*. Condițiile experimentului au corespuns cerințelor internaționale și naționale pentru studii farmacologice cu implicarea animalelor de laborator [370].

Animalele au fost obținute din aceeași sursă și menținute în mediul laboratorului (în cutii standard de masă plastică) pentru aclimatizare. Condițiile de trai și alimentare au corespuns cerințelor sanitare și normelor de alimentare [370]. Pentru utilizarea apei au fost stabilite auto-apeducte. Animalele nu au primit hrană cu 12 ore înainte de inițierea experienței și 4 ore după administrarea preparatului studiat. În dimineața zilei destinate experimentării, șoriceii au fost

cântăriți și repartizați în loturi omogene câte 6 masculi și 6 femele conform masei corporale.

Toxicitatea acută (TA) a fost determinată prin metoda dozelor fixe cu stabilirea clasei toxice acute conform TG 423: *Acute Toxic Class Method*, recomandată de Organizația Economică pentru Cooperare și Dezvoltare (OECD), și după metoda *Kerber* [377, 210].

Compoziția studiată și cea de referință au fost administrate șoricilor enteral prin gavaj și intraperitoneal. Cantitatea de lichid administrată a fost calculată în funcție de masa individuală a animalelor de laborator cântărite înainte de experiment (0,3 ml/g).

Pentru stabilirea TA, produsul a fost inițial administrat șoricilor enteral prin gavaj și intraperitoneal în doze-teste de 100, 500, 1000, 2000 mg/kg. Doze mai mari de 2000 mg/kg nu au fost folosite din cauza necesității unui volum mai mare de soluție fiziologică, fapt ce nu corespundea recomandărilor metodice. Intraperitoneal la șobolani au fost administrată în doze-teste de 100, 300, 1000, 2000 mg/kg.

Animalele au fost supravegheate timp de 14 zile. În timpul observațiilor a fost înregistrat comportamentul animalelor, consumul alimentelor și apei, activitatea motorie, coordonarea mișcărilor, reacția la excitanții fizici (lumină, zgomot), funcția respiratorie, starea pielii și a mucoaselor. De asemenea, a fost înregistrat timpul apariției fenomenelor de intoxicație și decesul animalelor. Vizual, s-a determinat tabloul clinic al intoxicației. Animalele decedate și cele muribunde din fiecare lot (după eutanasiere) au fost disecate pentru studierea organelor interne și confirmarea modificărilor obținute în experiență.

#### *Rezultatele administrării enterale.*

Pe parcursul studiului nu s-au constatat modificări în comportamentul și activitatea motorie spontană a animalelor din lotul de control. Animalele erau în mișcare activă, întrebunțau hrană și apă. Starea mucoaselor și a învelișului cutanat era în normă, fără schimbări patologice. Culoarea urinei era galben-deschis. Blana animalelor avea un aspect îngrijit, lucios, fără focare de alopecie. Dinții păstrați. Mucoasele vizibile erau palide, lucioase, netede. La palpare, glandele mamare ale femelelor – fără indurații și fără eliminări. Organele genitale la masculi – normal exprimate. Deformări sau edeme ale extremităților nu s-au remarcat.

Monitorizarea procesului de alimentare și adăpare nu a evidențiat modificări statistic semnificative între loturile cercetate și cel de control. În a doua zi a studiului s-a remarcat o oarecare pierdere a greutatei corporale la animalele din toate loturile.

La administrarea substanței de referință în doză de 100 mg/kg cu supraveghere timp de 7 zile nu s-au constatat modificări în comportamentul animalelor și nici decesul lor.

Administrarea produselor în doze de 300, 1000, 2000 mg/kg s-a caracterizat printr-o perioadă de hipodinamie și reducere a reacției la stimulii exogeni. Majoritatea animalelor au revenit la starea

inițială pe parcursul primelor 4 ore (300 mg/kg) și 24 ore (pentru 1000, 2000 mg). LD<sub>50</sub> conform metodei TG 423: *Acute Toxic Class Method* a fost estimată la  $\geq 5000$  mg/kg inofensivă, clasa de toxicitate 5 (tabelul 5.1).

**Tabelul 5.1. Mortalitatea și toxicitatea acută la șoricei CIP+EC+UVB**

Dozele	Masculi (intraperitoneal)		Femele (intra-gastral)		Decesul animalelor (%)
	Numărul animalelor	Numărul deceselor	Numărul animalelor	Numărul deceselor	
Lotul-martor	6	-	6	-	0
100 mg/kg	6	-	6	0	0
500 mg/kg	6	-	6	3	0
1000 mg/kg	6	-	6	6	0
2000 mg/kg	6	-	6	6	0

LD<sub>50</sub> la produsul **CIP+EC+UVB** după metoda *Kerber*.

Rezultatele obținute ne-au permis să stabilim că LD<sub>0</sub> (lipsa letalității) pentru administrarea enterală este de 300 mg/kg și pentru administrarea parenterală – 100 mg/kg.

LD<sub>17</sub> (letalitatea a 17% din animale) pentru administrarea enterală a fost stabilită la dozele 1000, 2000 mg/kg. Astfel, matematic, s-a calculat posibilă LD<sub>25</sub> = 1471 mg/kg. Dozele LD<sub>50</sub>, LD<sub>84</sub>, LD<sub>100</sub> nu au fost stabilite pe parcursul experimentului. LD<sub>50</sub> a fost estimată după metoda TG 423 la doza de 2500 mg/kg. LD<sub>100</sub> pentru administrarea parenterală a fost stabilită la doza de 1000 mg/kg. După metoda *Kurber*, LD<sub>50</sub> a fost stabilită la doza de 525 mg/kg (tabelul 5.2). Astfel, matematic, s-a calculat posibilă LD<sub>25</sub> = 263 mg/kg și LD<sub>84</sub> la doza de 840 mg/kg.

Rezultatele studiului denotă toxicitate acută redusă atât la administrarea enterală, cât și parenterală. Aceasta poate servi drept premisă pentru continuarea studiilor preclinice de determinare a toxicității cronice și eficacității, cu planificarea ulterioară a studiilor clinice pentru produsele elaborate.

**Tabelul 5.2. Toxicitatea acută a CIP+EC+UVB la administrarea perorală la șoricei după metoda *Kurber***

Doza	100 mg/kg	500 mg/ kg	1000 mg/kg	2000 mg/kg
Nr. animalelor din loturi	6	6	6	6
Nr. animalelor decedate	0	3	6	6
A (diferența dintre două doze succesive)	200	300	400	-
B (media numărului de animale decedate dintre două doze succesive)	1,5	4,5	-	-
A×B	600	2250	-	-

Suma A×B = 2850

LD<sub>50</sub> (doza letală la 50% din animale) = LD<sub>100</sub> – suma AxB/n LD<sub>50</sub> = 1000 mg/kg – 475 mg/kg = 525 mg/kg (LD<sub>50</sub> după metoda *Kerber*).

### *Rezultatele investigațiilor pe șobolani.*

La administrarea enterală a dozei de 50 mg/kg cu supraveghere timp de 7 zile nu s-au constatat modificări în comportamentul animalelor și nici decesul lor. Administrarea în doze de 300, 2000 mg/kg s-a caracterizat printr-o perioadă de hipodinamie și reducere a reacției la stimulii exogeni. Toate animalele au revenit la starea inițială pe parcursul primelor 24 ore (300 mg/kg) și 24-48 ore (pentru 2000 mg). La 2 animale s-a constatat diaree, care au revenit la normal pe parcursul a 24 ore. În primele 1-3 zile după administrarea preparatelor studiate în doze de 300 și 2000 mg/kg, ocazional, la animale au fost constatate somnolență, adinamie, inapetență, diaree. Aceste simptome au dispărut după 1-2 zile. În baza rezultatelor preclinice, la șobolani a fost estimat LD50 (tabelul 5.3).

**Tabelul 5.3. Toxicitatea acută la șobolani CIP+EC+UVB**

<b>Dozele, mg/kg</b>	<b>Numărul animalelor</b>	<b>Numărul deceselor</b>
Lotul-martor	6	-
<b>CIP+EC+UVB 300</b>	6	0
<b>CIP+EC+UVB 2000</b>	6	4

De asemenea, nu s-au constatat deosebiri semnificative între dinamica creșterii masei corporale și consumul alimentelor la animalele din loturile cercetare și lotul-martor. La necropsie, modificări patologice vizibile la examinarea organelor interne – limba, mucoasele cavității bucale, dinții, traheea, esofagul, plămânii, inima, ficatul, rinichii, splina, aorta, vezica urinară, ovarele – în loturile experimentale și cel de control, la ambele metode de administrare, nu au fost constatate.

**Tabelul 5.4. Determinarea clasei de toxicitate a produsului CIP+EC+UVB**

<b>Denumirea</b>	<b>Clasa de toxicitate</b>	<b>DL50/LD50 estimat mg/kg</b>
CIP+EC+UVB	3	50 - 300 = 200

Rezultatele experimentale au arătat că produsele administrate unimomentan animalelor de laborator (șoareci, șobolani) practic nu manifestă efecte toxice. La șoareci, administrarea intragastrală și intraperitoneală nu a provocat decesul animalelor și nici modificări macroscopice ale organelor interne. La șobolani, în urma investigațiilor efectuate conform recomandărilor *TG 423 Acute Toxic Class Method (OECD)*, posedă toxicitate redusă: clasa de toxicitate 3 și LD<sub>50</sub> estimat > 200 mg/kg (Tabelul 5.4).

Rezultatele cercetării pot servi ca premisă pentru evaluarea toxicității subacute și cronice a produsele medicamentoase combinate elaborate în cadrul CSM.

### ***Determinarea toxicității acute a produselor combinate NIC+PIR+EP și IHF+MU.***

Valoarea LD50 reprezintă doza care provoacă letalitate la 50% din numărul animalelor

supuse experimentului și sugerează informații pentru a clasifica în mod adecvat din punctul de vedere al inofensivității un compus farmaceutic [109].

Studiul preclinic a avut ca obiectiv determinarea toxicității acute a 4 compuși medicamentoși combinați cu denumiri de lucru NIC+PIR+EP și IHF+MU.

Metodologia de evaluare a toxicității acute este analogică celei prezentate anterior. Tehnologia de preparare a formelor farmaceutice este descrisă în capitolul 3. Investigațiile preclinice au fost aprobate de Comitetul de Etică a Cercetării al IP USMF „Nicolae Testemițanu”, proces-verbal nr. 27 din 14.11.2016.

Studiul toxico-farmacologic a fost efectuat în Laboratorul de evaluare preclinică și clinică a medicamentelor al CȘM pe 204 șoricei albi de laborator (102 masculi, 102 femele), cu vârsta de 12 săptămâni, masa de 18-26 g la inițierea studiului (194 șoricei – în loturile experimentale, 12 șoricei – în lotul-martor/control) și pe 72 șobolani (30 masculi 42 femele) cu masa corporală între 210 și 240 g, repartizați în loturi a câte 6, fiecare în celulă separată (12 animale - în loturi de control și 60 în loturi de baza). Compozițiile studiate și cea de referință au fost administrate șoriceilor enteral prin gavaj și intraperitoneal. Cantitatea de lichid administrată a fost calculată în funcție de masa individuală a animalelor de laborator cântărite înainte de experiment (0,3 ml/g). Pentru stabilirea TA, produsul a fost inițial administrat șoriceilor enteral prin gavaj și intraperitoneal în doze-teste de 100, 500, 1000, 2000 mg/kg. Doze mai mari de 2000 mg/kg nu au fost folosite din cauza necesității unui volum mai mare de soluție fiziologică, fapt ce nu corespundea recomandărilor metodice. Intraperitoneal la șobolani au fost administrată în doze-teste de 100, 300, 1000, 2000 mg/kg.

#### *Rezultatele administrării enterale.*

Pe parcursul studiului nu s-au constatat modificări în comportamentul și activitatea motorie spontană a animalelor din lotul de control. Animalele erau în mișcare activă, întrebunțau hrană și apă. Starea mucoaselor și a învelișului cutanat era în normă, fără schimbări patologice. Culoarea urinei era galben-deschis. Blana animalelor avea un aspect îngrijit, lucios, fără focare de alopecie. Dinții păstrați. Mucoasele vizibile erau palide, lucioase, netede. La palpare, glandele mamare ale femelelor – fără îndurații și fără eliminări. Organele genitale la masculi – normal exprimate. Deformări sau edeme ale extremităților nu s-au remarcat. Monitorizarea procesului de alimentare și adăpare nu a evidențiat modificări statistic semnificative între loturile cercetate și cel de control. În a doua zi a studiului s-a remarcat o oarecare pierdere a greutateii corporale la animalele din toate loturile.

La administrarea substanței de referință în doză de 100 mg/kg cu supraveghere timp de 7 zile nu s-au constatat modificări în comportamentul animalelor și nici decesul lor. Administrarea produselor în doze de 300, 1000, 2000 mg/kg s-a caracterizat printr-o perioadă de hipodinamie și reducere a reacției

la stimulii exogeni. Majoritatea animalelor au revenit la starea inițială pe parcursul primelor 4 ore (300 mg/kg) și 24 ore (pentru 1000, 2000 mg). LD<sub>50</sub> conform metodei TG 423: *Acute Toxic Class Method* a fost estimată la  $\geq 5000$  mg/kg inofensivă, clasa de toxicitate 5 (tabelele 5.5 și 5.6.).

**Tabelul 5.5. Mortalitatea și toxicitatea acută la șoriciei IHF+MU**

Dozele mg/kg	Masculi (intraperitoneal)		Femele (intragastral)		Decesul animalelor (%)
	Numărul animalelor	Numărul deceselor	Numărul animalelor	Numărul deceselor	
Lotul-martor	6	-	6	-	0
100	6	-	6	0	0
300	6		6	2	0
1000 mg/kg	6		6	4	0
2000 mg/kg	6		6	4	0

Din cauza imposibilității determinării LD<sub>100</sub>, nu a fost posibilă determinarea LD<sub>50</sub> după metoda *Kerber*.

**Tabelul 5.6. Mortalitatea și toxicitatea acută la șoriciei NIC+PIR+EP**

Dozele, mg/kg	Masculi (intraperitoneal)		Femele (intragastral)		Decesul animalelor (%)
	Numărul animalelor	Numărul deceselor	Numărul animalelor	Numărul deceselor	
Lotul martor	6	-	6	-	0
NIC+PIR+EP 100	6	-	6	0	0
NIC+PIR+EP 500	6	-	6	0	0
NIC+PIR+EP 1000	6	-	6	0	0
NIC+PIR+EP 2000	6	-	6	0	0

Din cauza imposibilității determinării LD<sub>100</sub>, nu a fost posibilă determinarea LD<sub>50</sub> după metoda *Kerber*.

Rezultatele investigațiilor pe șobolani (Tabelul 5.7).

La administrarea enterală a dozei de 50 mg/kg cu supraveghere timp de 7 zile nu s-au constatat modificări în comportamentul animalelor și nici decesul lor. Administrarea în doze de 300, 2000 mg/kg s-a caracterizat printr-o perioadă de hipodinamie și reducere a reacției la stimulii exogeni. Toate animalele au revenit la starea inițială pe parcursul primelor 24 ore (300 mg/kg) și 24-48 ore (pentru 2000 mg). La 2 animale s-a constatat diaree, care au revenit la normal pe parcursul a 24 ore. În primele 1-3 zile după administrarea preparatelor studiate în doze de 300 și 2000 mg/kg, ocazional, la animale au fost constatate somnolență, adinamie, inapetență, diaree. Aceste simptome au dispărut după 1-2 zile.

În baza rezultatelor preclinice, la șobolani a fost estimat LD<sub>50</sub> (Tabelul 5.8).

De asemenea, nu s-au constatat deosebiri semnificative între dinamica creșterii masei corporale și consumul alimentelor la animalele din loturile cercetare și lotul-martor.



**Tabelul 5.7. Toxicitatea acută la șobolani IHF+MU și NIC+PIR+EP**

Dozele, mg/kg	Numărul animalelor	Numărul deceselor
<i>Lotul-martor</i>	6	-
IHF+MU 300 mg/kg	6	0
IHF+MU 2000 mg/kg	6	3
<i>Lotul-martor</i>	6	-
N+P+P 300 mg/kg	6	0
N+P+P 2000 mg/kg	6	0

La necropsie, modificări patologice vizibile la examinarea organelor interne – limba, mucoasele cavității bucale, dinții, traheea, esofagul, plămâni, inima, ficatul, rinichii, splina, aorta, vezica urinară, ovarele – în loturile experimentale și cel de control, la ambele metode de administrare, nu au fost constatate.

**Tabelul 5.8. Determinarea clasei de toxicitate a produsului IHF+MU și NIC+PIR+EP**

Denumirea	Clasa de toxicitate	DL50/LD50 estimat, mg/kg
<b>IHF+MU</b>	4	300 - 2000 = 1000
<b>NIC+PIR+EP</b>	5 (practic netoxică)	2000 - 5000 > 2500

Rezultatele experimentale au arătat că produsele administrate uni momentan animalelor de laborator (șoareci, șobolani) practic nu manifestă efecte toxice. La șoareci, administrarea intragastrală și intra peritoneală nu a provocat decesul animalelor și nici modificări macroscopice ale organelor interne. La șobolani, în urma investigațiilor efectuate conform recomandărilor *TG 423 Acute Toxic Class Method (OECD)*, posedă toxicitate redusă: clasa de toxicitate 5 și LD<sub>50</sub> estimat > 2500 mg/kg pentru produsul NIC+PIR+EP și clasa de toxicitate 4 pentru produsul IHF+MU (LD<sub>50</sub> estimat > 1000 mg/kg). Rezultatele cercetării pot servi ca premisă pentru evaluarea toxicității subacute și cronice a produsele medicamentoase combinate elaborate în cadrul CSM.

## 5.2. Studii de ototoxicitate pentru produsele farmaceutice combinate elaborate

Numeroase surse indică utilizarea audiometriei reflectorii și audiometriei computerizate în scopul studierii funcției analizatorului auditiv [231]. În literatura de specialitate sunt descrise mai multe metode de inducere a surdității senzorieurale medicamentoase la animale de laborator pentru efectuarea studiilor preclinice (antibacteriene ototoxice – neomicina, kanamicina, gentamicina, streptomycină; antineoplazice – cisplastina, etc). Produsele respective pot fi administrate intravenos, intramuscular, în bula otică [86, 91, 92, 369, 378].

*Determinarea ototoxicității picăturilor auriculare cu IHF și MU și a capsulelor cu NIC, PIR și EP.*

Concentrațiile farmaceutice cu corespunderea dozelor respective de 100 mg/kg și 1000 mg/kg al compușilor studiați au fost pregătite în cadrul Laboratorului Analiza, standardizarea și

controlul medicamentelor al CSM. Preparatele au fost diluate în volume constante de soluție fiziologică de 0,9% în funcție de doza substanțelor și cantitatea de lichid maximal admisibilă pentru administrare. Studiul farmacologic a fost efectuat în Laboratorul Evaluare preclinica și clinica a medicamentelor al CSM pe: 16 șobolani (masculi) linia *Wistar* vârsta 3-4 luni, masa 180-250 gr, 4 grupuri a câte 4 animale în grup. Grupul 1- control (au primit sol Na Cl 0,9%), grupul 2 -ototoxicitate medicamentoasa sol Gentamicin, grupul 3 – NaCl 0,9% +compusul 001, grupul 4 – NaCl 0,9% +compusul 002. Animalele au fost obținute din aceeași sursă și menținute în condițiile de viață a laboratorului (cutii standarde de masă plastică) pentru aclimatizare. Condițiile de trai și alimentare au corespuns cerințelor sanitare și normelor de alimentare. Pentru utilizarea apei au fost stabilite auto apeducte. Animalele au fost supravegheate timp de 14 zile. În timpul observațiilor a fost înregistrat comportamentul animalelor, consumul alimentelor și apei, activitatea motorie, coordonarea mișcărilor, reacția la excitanți fizici (lumină, zgomot), funcția respiratorie, starea pielii și a mucoaselor. Vizual sa determinat tabloul clinic al intoxicației. Animalele au fost cântărite la 1, 7, 14 zi (înainte de eutanasiere). Cercetarea sa efectuat conform cerințelor naționale și internaționale privitor efectuarea experimentelor cu implicarea animalelor de laborator [370, 369]

Protocol de evaluare a ototoxicității pe animale de laborator:

- Analgezie – somn medicamentos, doza: a) sol. Diazepam 2,0 mg/kg i.p [86];
- **Ototoxicitate:** Gentamicin în ureche 40 mg/ml câte 0,1 ml i/m– 3 administrări [369, 378];
- Preparatele studiate IHF+MU; NIC+PIR+EP au fost administrate intern prin gavaj – 3 administrări;
- Evaluarea auzului> înainte de experiment, după tratament;
- Otoscopie – AD (urechea dreapta), AS (urechea stânga);
- Reflexul Preyer la zgomot de 80 dB (*deciBell*);
- Impedansmetrie (determinarea funcției urechii medii) : AD - tip A, B, C; AS - tip A, B, C
- Înregistrarea otoemisiilor acustice tranzitorii (TOEA) și otoemisiilor acustice pe produs de distorsiune (PDOEA) - (determinarea funcției urechii interne) [86, 92, 369].

În rezultatul studiului nu au fost constatate în nici un grup modificări în comportamentul animalelor, consumul alimentelor și apei, activitatea motorie, coordonarea mișcărilor, reacția la excitanți fizici (lumină, zgomot), funcția respiratorie, starea pielii și a mucoaselor. La efectuarea otoscopiei la toate grupurile am constatat bilateral membrana timpanică de culoare surie și lipsa eliminărilor auriculare ce denota lipsa procesului inflamator în urechi. În grupul 1 reflexul Preyer pozitiv (reacționarea animalului de laborator la stimul sonor de intensitate mare), tip A de timpanogramma (mobilitate normala a membranei timpanice), și Otoemisiile acustice prezente la ambele urechi sunt caracteristice pentru auz normal. La animalele din grupul 2 se constata

ototoxicitate medicamentoasa indusa prin Gentamicina (lipsa reflexului Preyer și TOEA, PDOEA). în același timp timpanograma de tip A ne indica la funcția normala a timpanului și urechii medii în toate grupurile. Schimbările sunt caracteristice pentru afectarea organului Corti al urechii interne – surditate senzorieurală (grupul 2).

Rezultatele studiului indica ca la toate animalele din grupul de control, grup 3 și 4 au indici asemănători caracteristici pentru auz normal și funcționarea adecvata a analizatorului auditiv, fapt ce denota despre lipsa efectelor ototoxice a preparatelor studiate (Tabelul 5.9.).

**Tabelul 5.9. Inofensivitatea ototoxica a picăturilor auriculare cu IHF și MU și a capsulelor cu NIC, PIR și EP**

Grup	Reflex Preyer	Otoscopie	Timpanometrie AD, AS	Otoemisie acustica (TOEA, PDOEA) AD,AS
1 -control	prezent	Norma	Tip A	Prezente *
2 -Gentamicina	absent	Norma	Tip A	Absente **
3 -Compus IHF+MU	prezent	Norma	Tip A	Prezente *
4 -Compus NIC+PIR+EP	prezent	Norma	Tip A	Prezente *

\* amplitudinea otoemisiilor acustice > 0 dB și raportul semnal/zgomot > 3 dB

\*\* amplitudinea otoemisiilor acustice ≤ 0 dB și raportul semnal/zgomot < 3 dB

În cadrul studiului preclinic pe animale de laborator (șobolani) s-a constatat ca compuşii medicamentoși IHF+MU; NIC+PIR+EP nu poseda efect ototoxic.

*Determinarea ototoxicității picăturilor auriculare cu CIP+EC+UVB.*

Compus combinat: CIP+ EC+UVB 1:1:1, doze de 100 și 1000 mg/kg, suspensii în apă. Modelarea experimentală (șobolani). Inducerea SSN am efectuat prin administrarea sol. gentamicină 100 mg/kg câte 1 ml i/m 1 dată/zi 5 zile. Evaluarea auzului la animalele de laborator (șobolani) – în interval de până la 10 zile după administrare. Reflexul *Preyer* – determinarea reacției șobolanilor la stimulii sonori de intensitate 70-80 dB în câmp liber auditiv de la distanța de 1 m s-a efectuat cu ajutorul aparatului PA5 Interacoustics. Otoscopie – AD, AS. După inducerea animalului de laborator în somn medicamentos, cu otoscopul Visual Ear Pick F180 înzestrat cu sursă de lumină, s-a efectuat otoscopia pentru evaluarea conductului extern și a membranei timpanice. Perioada de realizare a studiului: iulie 2021.

Otoemisiuni acustice (OEA). După efectuarea otoscopiei, animalelor cu lipsa modificărilor patologice din partea CAE și membrana timpanică s-a efectuat înregistrarea otoemisiunilor acustice tranzitorii și otoemisiilor pe produs de distorsiune (DPOEA) cu ajutorul aparatului Neurosoft-Neiro-audio. Pentru înregistrarea OEA a fost folosită o sondă acustică, calibrată, care cuprinde două megafoane pentru transmiterea frecvențelor primare și un microfon, care captează otoemisiile acustice reflectate în CAE. La capătul sondei se îmbrăca o olivă din silicon aleasă individual, corespunzător dimensiunilor CAE al animalului de laborator.

Reflexul Preyer (după Hilov) la zgomot de 70-80 decibeli. Animalul în stare de veghe, peste 1 oră după administrarea alimentelor, se plasa singur în cușcă și se expunea la sunete cu ajutorul testerului sonor Interacustics PA-5. Concentrațiile farmaceutice, cu corespunderea dozelor de 100 și, respectiv, 1000 mg/kg, a compușilor studiați au fost diluate în volume constante de soluție fiziologică de 0,9%, în funcție de doza substanțelor și cantitatea de lichid maximal admisibilă pentru administrare.

Studiul farmacologic a fost efectuat pe: 30 șobolani albi cu masa corporală 150-250 g obținuți de la Vivariul USMF „Nicolae Testemițanu”. Au fost 6 loturi a câte 5 animale în fiecare lot. Lotul 1- martor /ototoxicitate medicamentoasă cu soluție de gentamicină, lotul 2 – SV-01; lotul 3 – SV02, lotul 4 – SC01, lotul 5 – SC-02, lotul 6 – CE-01. Pentru utilizarea apei, au fost stabilite auto apeducte. Animalele au fost supravegheate timp de 14 zile. În timpul observațiilor au fost înregistrate: comportamentul animalelor, consumul alimentelor și al apei, activitatea motorie, coordonarea mișcărilor, reacția la excitanți fizici (lumină, zgomot), funcția respiratorie, starea pielii și a mucoaselor.

Cercetarea s-a efectuat conform cerințelor naționale și internaționale privind efectuarea experimentelor cu implicarea animalelor de laborator cu avizul pozitiv al Comitetului de Etică a Cercetării. Rezultatele obținute denotă, că în nici un lot de studiu nu au fost constatate modificări în comportamentul animalelor, consumul alimentelor și al apei, activitatea motorie, coordonarea mișcărilor, reacția la excitanți fizici (lumină, zgomot), funcția respiratorie, starea pielii și a mucoaselor. La efectuarea otoscopiei, la toate loturile am observat bilateral membrana timpanică de culoare gri și lipsa eliminărilor auriculare, ceea ce denotă lipsa procesului inflamator în urechi. În lotul 2-5, reflexul Preyer pozitiv (reacționarea animalului de laborator la stimul sonor de intensitate mare). La animalele din lotul 1 se constată ototoxicitate medicamentoasă indusă prin Gentamicină (lipsa reflexului Preyer și TOEA, PDOEA). În același timp, timpanograma de tip A ne indica funcția normală a timpanului și urechii medii în toate loturile. Schimbările sunt caracteristice pentru afectarea organului Corti al urechii interne – surditate senzorieală.

**Tabelul 5.10. Inofensivitatea ototoxică a picăturilor auriculare cu CIP+EC+UVB**

Lot	Reflex Preyer (numărul de animale în lot)	Otoscopie (numărul de animale)	Otoemisie acustică (numărul de animale)
6 CIP+EC+UVB	Prezent (5)	Fără modificări patologice (5)	Prezente (5) *

\* amplitudinea otoemisiilor acustice (TEOEA, DPOEA) > 0 dB și raportul semnal/zgomot > 3 dB

\*\* amplitudinea otoemisiilor acustice ≤ 0 dB și raportul semnal/zgomot < 3 dB

Potrivit rezultatelor studiului (Tabelul 5.10.), toate animalele din loturile 2-5 au indici asemănători, caracteristici pentru auz normal și funcționarea adecvată a analizatorului auditiv, fapt

ce denotă lipsa efectelor ototoxice ale preparatelor studiate.

În cadrul studiului preclinic, pe animale de laborator (șobolani) am constatat că produsul farmaceutic CIP+EC+UVB nu posedă efect ototoxic.

Aceste studii permit continuarea cercetărilor farmacologice preclinice privind efectele otoprotectoare ale produselor studiate. [226, 225, 172, 223, 224, 222].

### **5.3. Cercetarea activității antibacteriene și antifungice a picăturilor auriculare antibacteriene și antifungice**

#### **Determinarea activității antibacteriene a picăturilor auriculare de IHF și MU.**

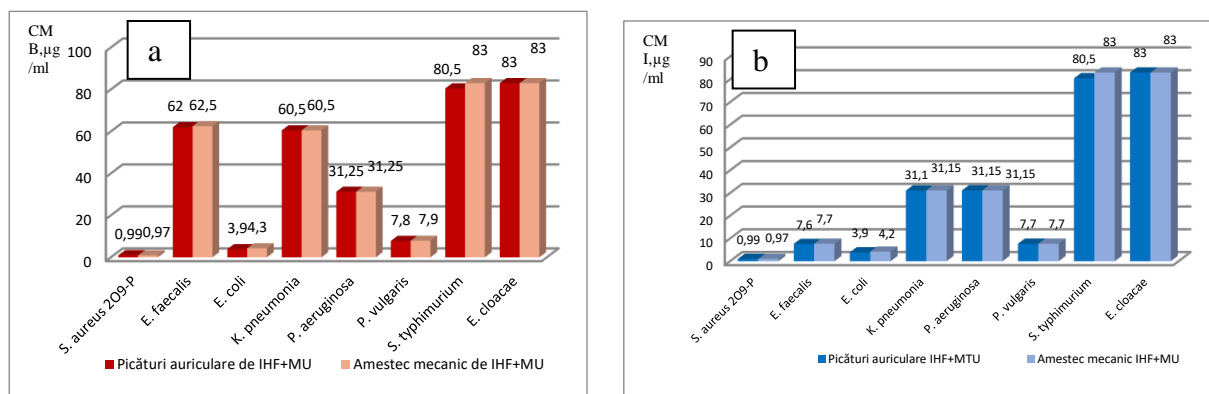
În Laboratorul de Infecții intraspitalicești (șef de laborator Viorel Prisăcari, dr. hab. șt. med., prof. univ., MC AȘ din RM) s-a efectuat studiul activității antibacteriene a picăturilor auriculare cu IHF (IHF) și MU (MU). Probele analizate au fost: 1. IHF substanță pură; 2. Amestec mecanic IHF+MU; Picături auriculare combinate cu IHF și MU; 4. Placebo (excipienți fără substanțe active); 5. Martor (Nitrofurazol substanță pură). În calitate de solvent pentru dizolvarea tuturor probelor a servit dimetilformamida (DMFA). S-a utilizat metoda diluțiilor în mediul nutritiv lichid (bulion peptonat (BP) din carne 2%). Culturile bacteriene de referință au fost: *Staphylococcus aureus* (tulpina 209-P), *Enterococcus faecalis* (t. ATCC 19433), *Escherichia coli* (t. ATCC 25922), *Klebsiella pneumoniae* (t.3534/51), *Pseudomonas aeruginosa* (t. ATCC 27853), *Proteus vulgaris* (t. HX 19222), *Salmonella typhimurium* (t. WDCM 00031), *Enterobacter cloacae* (t. ATCC 13047). Probele au fost dizolvate în DMFA și BP până la concentrații de 125 μg /ml ale substanțelor active, fiind diluate ulterior până la concentrațiile necesare cu BP.

Pentru însămânțare a fost folosită cultura de tulpini ale microorganismelor indicate, crescute pe geloză de carne în decurs de 18-24 ore, spălate cu soluție izotonică de clorură de sodiu. Doza de însămânțare constituie 500 mii de corpi microbieni la 1 ml de mediu (după standardul optic de turbiditate). În calitate de control a servit bulionul din carne, însămânțat cu aceleași tulpini fără conținut al compusului cercetat. Tuburile au fost agitate și termostatare la 37°C timp de 24 ore. 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. Rezultatele obținute pentru activitatea antibacteriană a picăturilor auriculare de IHF și MU sunt prezentate în tabelul A16.1 în comparație cu activitatea antibacteriană a amestecului mecanic de IHF și MU, IHF și controlul – nitrofurazolul. Picăturile auriculare combinate IHF și MU manifestă activitate atât bacteriostatică, cât și bactericidă față de toate tulpinile de bacterii cercetate, manifestând

o potență mult mai mare comparativ cu proba control – nitrofurulul în cazul tuturor bacteriilor testate. Cel mai promițător rezultat comparativ cu controlul este înregistrat față de *S. aureus*, cu o activitate bacteriostatică de cca 18 ori mai mare și o activitate bactericidă, respectiv de 37 de ori mai înaltă.

Picăturile auriculare combinate IHF și MU posedă acțiune bactericidă față de *K. pneumonia*, *P. aeruginosa* și *E. cloacae* la același nivel ca în cazul amestecului mecanic IHF și MU. O activitate bactericidă puțin mai pronunțată comparativ cu amestecul mecanic s-a observat față de *E. faecalis*, *E. coli*, *P. vulgaris* și *S. typhimurium* (Figura 5.1).



**Fig. 5.1. Acțiunea bactericidă (a) și bacteriostatică (b) a picăturilor auriculare cu IHF și MU comparativ cu amestecul mecanic de IHF și MU**

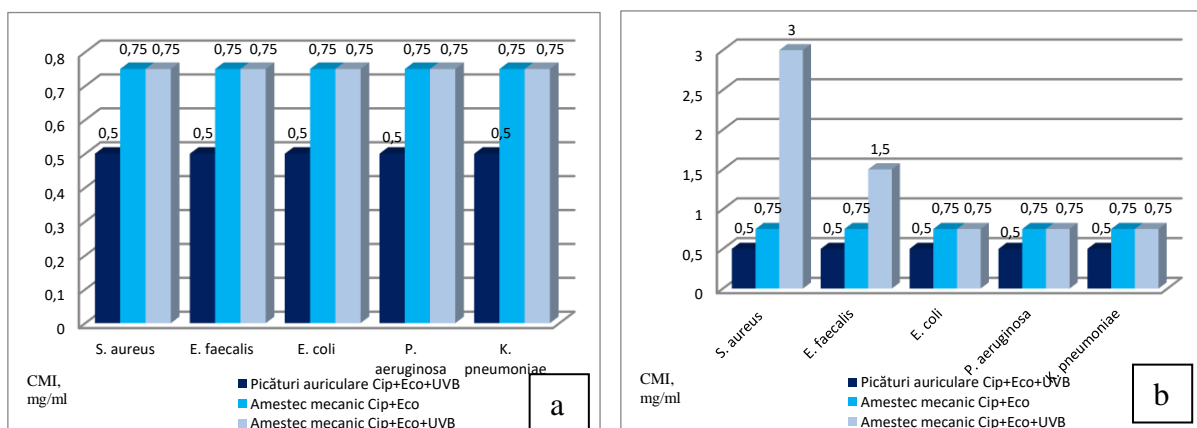
Picăturile auriculare combinate IHF și MTU manifestă aceeași activitate bacteriostatică ca și amestecul mecanic în cazul bacteriilor Gram-negative de *P. aeruginosa*, *P. vulgaris* și *E. cloacae*; o activitate similară în cazul *S. aureus*, *E. faecalis*, *K. pneumonia* și o activitate mai înaltă față de *E. coli* și *S. typhimurium*. Atât picăturile combinate IHF și MTU, cât și amestecul mecanic prezintă aceeași activitate bacteriostatică, respectiv, bactericidă în cazul tulpinilor de *P. aeruginosa* și *E. cloacae* (Figura 5.1).

### **Determinarea activității antibacteriene și antifungice prin testele PCR în timp real (RT-PCR) cu timp scurt de transformare a produsului combinat cu ciprofloxacina, econazol și UVB.**

Rezultatele studiului activității antibacteriene a formulării optimale de picături auriculare a avut la bază stabilirea *in vitro* a capacității de inhibiție a creșterii și multiplicare a agenților patogeni prin determinarea concentrației minime inhibitoare (CMI) a probelor studiate (Proba 2a – forma farmaceutică picături auriculare combinate cu ciprofloxacina, EC și UVB; Proba 2b – amestec mecanic CIP 0,1 g + EC 0,1 g; Proba 2c – amestec mecanic EC 0,1 g + UVB 0,1g; Proba 2d – amestec mecanic EC 0,1 g + CIP 0,1 g + UVB 0,1g; Proba 2e – EC 0,1 g; Proba 2f – UVB 0,1g; Proba 2g – soluția Placebo. Proba 2h – CIP 0,1; Proba 2i – CIP 0,1 g + UVB 0,1g), utilizând tulpinile certificate de

microorganismele *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 13883), *Candida albicans* (ATCC 60193), *Aspergillus flavus* (ATCC9643), *Aspergillus fumigatus* (ATCC 204305), *Aspergillus niger* (ATCC 16888) (tab. A16.2, A16.3, A16.4). Determinarea activității antibacteriene a fost realizată prin testele PCR în timp real, cu aplicarea metodei diluțiilor de serie pe medii lichide obținerea concentrațiilor de concentrații de 0,25 – 2 mg/ml pentru fiecare component individual.

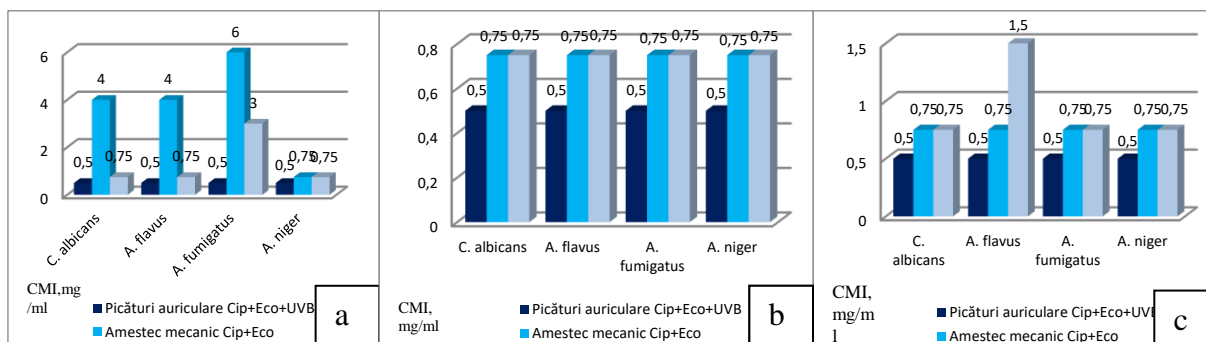
Rezultate obținute denotă că forma farmaceutică picături auriculare combinate cu ciprofloxacină, econazol și UVB a manifestat activitatea antimicrobiană pe toate tulpinile testate, fiind stabilită aceiași CMI=0,5 mg/ml pentru toate tulpinile de microorganismele din studiu (Figura 5.2). După expoziția de 48 ore și 120 ore forma farmaceutică picături auriculare combinate nu și-a modificat activitatea antibacteriană și fungistică (Figura 5.2). Amestecul mecanic cu CIP și EC a manifestat activitate antibacteriană și fungistică după expoziția de 24 ore, pe tulpinile de *S. aureus*, *E. coli*, *E. faecalis*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *A. niger* cu o CMI=0,75 mg/ml, pe *C. albicans*, *A. flavus* – CMI=4 mg/ml, iar pe tulpina de *A. fumigatus* nu a prezentat acțiune fungistică (Figura 5.3.). După expoziția de 48 ore și 120 ore, amestecul mecanic cu CIP și EC a manifestat activitate antibacteriană și fungistică pe toate tulpinile testate la concentrația de 0,75 mg/ml.



**Fig. 5.2 Acțiunea bacteriostatică a picăturilor auriculare combinate cu CIP+EC+UVB, amestecului mecanic CIP+EC și amestecului mecanic CIP+EC+UVB, după expoziția de 24 și 48 ore (a) și 120 ore (b)**

Amestecul mecanic cu EC, CIP și UVB a manifestat activitate antibacteriană și fungistică, după expoziția de 24 ore, fiind stabilită CMI=0,75 mg/ml pentru toate tulpinile de microorganismele testate, cu excepția *A. fumigatus*, față de care a fost înregistrată o CMI=3 mg/ml (Figurile 5.2, 5.3). După expoziția de 48 ore, amestecul mecanic cu EC, CIP și UVB și-a menținut activitatea antibacteriană și fungistică pe toate tulpinile testate la concentrația de 0,75 mg/ml, însă după

expoziția de 120 ore, amestecul și-a redus activitatea antibacteriană și fungistică pe culturile de *S. aureus*, *E. faecalis* și *A. flavus* (Figura 5.3). După expoziția de 24 ore și 48 ore uleiul volatil de busuioc a potențat acțiunea antibacteriană și antifungică a nitratului de econazol pe tulpinile de *E. coli*, *P. aeruginosa*, *A. fumigatus*. De asemenea, după expoziția de 24 ore uleiul volatil de busuioc a potențat acțiunea antibacteriană și antifungică a clorhidratului de ciprofloxacina pe tulpinile de *E. faecalis*, *C. albicans*, *A. flavus*, *A. niger*, iar după expoziția de 48 ore și pe tulpina de *A. fumigatus*.



Notă: CMI=6 nu reprezintă activitate fungistică

**Fig. 5.3. Acțiunea fungistică a picăturilor auriculare combinate cu CIP+EC+UVB, amestecului mecanic cu CIP+EC și amestecului mecanic cu CIP+EC+UVB, după expoziția de 24 ore (a), 48 ore (b), 120 (c) ore**

Astfel, menționăm că forma farmaceutică picături auriculare combinate manifestă o acțiune bacteriostatică de 1,5 ori mai înaltă comparativ cu amestecul mecanic cu CIP și EC și amestecul mecanic cu CIP, EC și UVB, după expoziția de 24 și 48 ore. Totodată, după expoziția de 120 ore, acțiunea bacteriostatică a picăturilor auriculare se menține la același nivel – de 1,5 ori mai înaltă, comparativ cu amestecul mecanic cu ciprofloxacina și EC (CIP+EC). În același timp, după 120 ore, acțiunea bacteriostatică crește semnificativ comparativ cu amestecul mecanic cu ciprofloxacina, EC și UVB (CIP+EC+UVB), față de unele tulpini de bacterii: *S. aureus* (de 6 ori mai înaltă) și *E. faecalis* (de 3 ori mai înaltă) (Figura 5.2).

În cazul acțiunii fungistatice, după 24 ore de expoziție, picăturile auriculare au demonstrat CMI mult mai mici pentru majoritatea tulpinilor de fungi, comparativ cu amestecul mecanic cu ciprofloxacina și EC (CIP+EC) și amestecul mecanic cu ciprofloxacina, EC și UVB (CIP+EC+UVB), ceea ce demonstrează o activitate fungistică mai pronunțată. Totodată, după 48 și 120 ore de expoziție, CMI a amestecurilor mecanice mai sus menționate scad semnificativ și activitatea fungistică a picăturilor auriculare se menține la un nivel de 1,5 ori mai înaltă pentru majoritatea tulpinilor testate, comparativ cu amestecurile mecanice. Excepție este acțiunea fungistică după expoziția de 120 ore a picăturilor auriculare, comparativ cu amestecul de ciprofloxacina, EC și UVB, față de *A. flavus*, care este una de 3 ori mai înaltă (Figura 5.3).



#### 5.4. Studiul activității antioxidante a capsulelor combinate

A fost determinată activitatea antioxidantă a extractului uscat de păducel individual și a capsulelor în cadrul Catedrei de farmacognozie și botanică farmaceutică USMF „Nicolae Testemițanu”, utilizând metodele de captare a radicalului organic DPPH și de decolorare a cation-radicalului ABTS<sup>•+</sup>; totodată a fost determinată și capacitatea de chelare a Fe<sup>2+</sup>. Metodologia determinărilor prin toate trei metode este descrisă în capitolul 2.

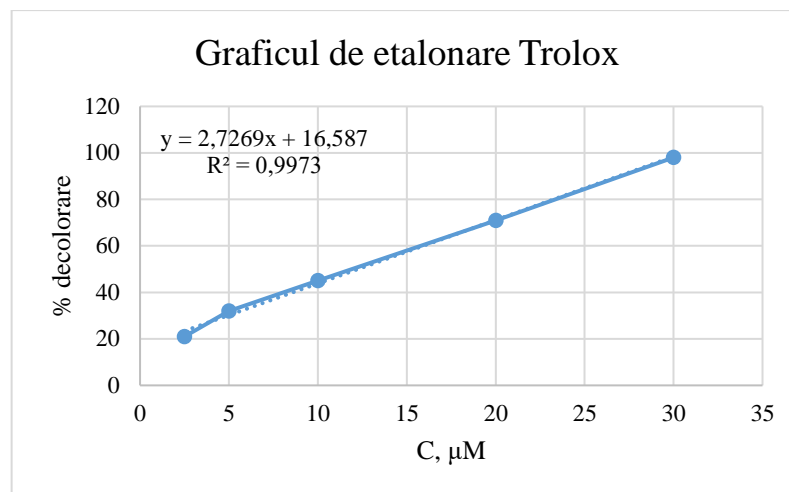
##### ***Evaluarea activității antioxidante prin reacția cu radicalul DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil).***

A fost măsurată absorbanta soluțiilor metanolice analizate de EP individual și de capsule operculate combinate la spectrofotometru ( $\lambda=517$  nm). În calitate de antioxidant standard a fost folosit Trolox în intervalul de concentrații de 1-7,5  $\mu\text{g/ml}$ , și a fost obținută graficul de calibrare:  $R^2=0,9902$ ;  $y=7,9021x+25,366$ .

Rezultatele sunt prezentate în tabelul A16.5 [166]. În urma determinărilor s-a constatat, că extractul de păducel individual captează în proporție de 50% radicalii liberi de DPPH la o concentrație de 86,05  $\mu\text{g/ml}$ , iar capsulele combinate la o concentrație de 99,596  $\mu\text{g/ml}$ .

##### ***Evaluarea activității antioxidante prin reacția cu radical-cationul ABTS<sup>•+</sup>.***

A fost preparată soluția stoc de ABTS cu concentrația de 2 mM (0,0103 g de sare de ABTS (Sigma Aldrich) s-au dizolvat în 10 ml de apă distilată; soluție de culoare albastră-verzuie). Paralel s-au dizolvat 0,0944 g de K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> (Merck) în 5 ml de apă purificată (s-a obținut o concentrație de 70 mM de persulfat de potasiu). 10 ml de soluție stoc de ABTS (2 mM) s-au amestecat cu 0,1 ml de persulfat de potasiu (70 mM), amestecul s-a lăsat la întuneric pentru 14 ore. În urma reacției s-a format ABTS<sup>•+</sup>. Amestecul s-a diluat cu metanol în câteva prize până la o absorbantă de  $0,700\pm 0,020$ , măsurată la  $\lambda=734$  nm. Soluția probă s-a preparat din 1 ml soluție de ABTS<sup>•+</sup> și 24 ml alcool metilic. Concentrația EP în amestecul reactant s-a menținut de 1 mg/ml. A fost calculat % de inhibiție, în baza formulei indicate în capitolul 2. A fost preparată soluția standardului Trolox în concentrație de 25 mM, ulterior fiind realizate diluții pentru a obține soluții cu concentrații cuprinse între 2,5-30  $\mu\text{M}$ , care au servit la obținerea curbei de etalonare. Valoarea coeficientului TEAC a fost exprimată în  $\mu\text{M}$  Trolox/g probă de analizat, iar rezultatele calculate în baza graficului de etalonare s-au exprimat în mmol Trolox echivalent ( $\mu\text{M}$  TEAC/g) (0-30  $\mu\text{M}$ ;  $R^2=0,9973$ ;  $y=2,7269x+16,587$ ) (Figura 5.4) [127].



**Fig. 5.4. Graficul de etalonare pentru Trolox**

Rezultatele determinărilor (repetate de trei ori) sunt reprezentate în tabelul A16.5 Toate măsurătorile au fost efectuate în triplicat, fiind calculate Me și IQR. Activitatea antioxidantă a fost exprimată în echivalent Trolox μg/ml. Rezultatele au arătat, că abilitatea de inhibare a radicalului liber DPPH· este bună: la extractul individual este mai mare decât la capsule, dar ne semnificativ. Prin aplicarea testului neparametric *Kruskal-Wallis* H s-a determinat valoarea  $p < 0,05$ , ce semnifică existența diferenței statistice semnificative între activitatea antioxidantă determinată prin metoda DPPH a extractelor analizate și a substanței de referință (Trolox) ( $\chi^2 = 15,158$ ,  $df = 2$ ,  $p = 0,000511$ ).

Ca și în cazul inhibării radicalului DPPH, testul ABTS a confirmat că activitatea antioxidantă scade ne semnificativ la capsule în comparație cu extractul individual ( $p = 0,003948$ ) (Tabelul 5.11). Conform testului neparametric Spearman ( $p = 0,547$ ), a fost demonstrată o corelație directă între activitatea extractelor uscate de a reduce cation-radicalul ABTS<sup>+</sup> și concentrația de flavonozide (tabelul A16.6).

**Tabelul 5.11. Activitatea antioxidantă a extractului uscat de păducel și a capsulelor combinate, determinată prin metodele DPPH și ABTS**

Probe de analizat	DPPH, IC <sub>50</sub> , μg/ml, Me (IQR)	ABTS, μM TE/g masă uscată, Me (IQR)	Conținutul de rutozidă (%), Me (IQR)
Extract uscat de păducel	88,43250(5,58)	20,8360 (1,221)	0,58609 (0,0107)
Capsule combinate	99,1550 (2,42)	19,3260 (0,349)	0,523615 (0,0077)
Trolox	3,7100 (1,84)	-	-

***Capacitatea de chelare a ionilor de fier de către extractul uscat de păducel și capsulele combinate.***

Extractele vegetale au capacitatea de a chela ionii de fier prin împiedicarea formării complexului Ferozinei cu Fe<sup>2+</sup>, rezultând în diminuarea culorii purpurii asociate acestuia. Cuantificarea

nivelului de atenuare a culorii oferă o modalitate de estimare a activității de chelare a metalului, utilizând chelatori prezenți în extractele vegetale [114].

S-a determinat absorbanța soluției reactante (tehnica preparării este indicată în capitolul 2) la 562 nm și s-a calculat procentul de inhibiție al complexului ferozină- $\text{Fe}^{2+}$ . Soluția de EDTA, care este un bun chelator de metale, s-a utilizat în calitate de standard. Rezultatele determinărilor au fost evaluate statistic, fiind exprimate prin Me și IQR (n=6). Diferențele au fost considerate statistic semnificative ( $p = 0,000005$ ) (tabelul A16.7).

În urma evaluării capacității de chelare a fierului de către extractul de păducel individual și de capsulele combinate (tabelul A16.7) s-au constatat valori apropiate (%), fiind egale cu 77.19% (IQR 0,015;  $p = 0,000120$ ) și 59.87% (IQR 0,6175;  $p = 0,000490$ ) respectiv, în comparație cu EDTA (93,54%; IQR 0,8475). Aceste rezultate confirmă activitatea antioxidantă înaltă a EP, care se menține și la incorporarea acestuia în capsulele combinate.

### **Sinteza capitolului 5**

Rezultatele experimentale au arătat că produsele administrate uni momentan animalelor de laborator (șoareci, șobolani) practic nu manifestă efecte toxice. S-a stabilit clasa de toxicitate 3 pentru picăturile CIP+EC+UVB, clasa de toxicitate 4 pentru picăturile IHF+MU și clasa de toxicitate 5 pentru capsulele NIC+PIR+EP. În cadrul studiilor de ototoxicitate prin evaluarea reflexului Preyer și otoscopie AD, AS s-a constatat că nici unul din produsele farmaceutice cercetate nu posedă efecte ototoxice.

Activitatea antibacteriană a picăturilor auriculare cu IHF+MU a fost studiată prin metoda de diluție în serie, împotriva tulpinilor de *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecali*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Salmonella typhimurium*, *Enterobacter cloacae*, fiind demonstrată acțiunea bacteriostatică și bactericidă a formei farmaceutice față de toate tulpinile cercetate, cu o potență mult mai mare comparativ cu proba control – nitrofurulul. Cel mai promițător rezultat comparativ cu controlul este înregistrat față de *S. aureus*, cu o activitate bacteriostatică de cca 18 ori mai mare și o activitate bactericidă, respectiv de 37 de ori mai înaltă.

Determinarea activității antibacteriene și antifungice prin testele PCR în timp real (RT-PCR) cu timp scurt de transformare a picăturilor combinate cu CIP, EC și UVB s-a efectuat asupra tulpinilor (*Staphylococcus aureus*), *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Candida albicans*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*. Rezultate obținute denotă că forma farmaceutică picături auriculare combinate cu ciprofloxacina, econazol și UVB a manifestat activitatea antimicrobiană pe toate tulpinile testate, fiind stabilită aceeași CMI=0,5 mg/ml pentru toate tulpinile de microorganisme din studiu, în comparație cu

amestecul mecanic fără ulei de busuioc. Astfel, s-a demonstrat, că acțiunile antibacteriană și antifungică ale formulării sunt potențate de către UVB, care posedă aceste efecte.

A fost determinată activitatea antioxidantă a extractului uscat de păducel individual și a capsulelor combinate cu NIC, PIR și EP. În urma determinărilor s-a constatat, că extractul de păducel individual captează în proporție de 50% radicalii liberi de DPPH la o concentrație de 86,05  $\mu\text{g/ml}$ , iar capsulele combinate la o concentrație de 99,596  $\mu\text{g/ml}$ ; testul ABTS a confirmat activitatea antioxidantă la capsule, care este nesemnificativ mai joasă în comparație cu extractul individual, iar capacitatea de chelare a ionilor de fier este pronunțată (59,81%), fapt ce confirmă activitatea antioxidantă a capsulelor combinate.

# CONCLUZII ȘI RECOMANDĂRI

## CONCLUZII GENERALE

1. Argumentarea necesității elaborării produselor farmaceutice combinate cu aplicare în tratamentul maladiilor ORL s-a realizat prin evaluarea pieței preparatelor utilizate în aceste patologii, atât în Republica Moldova, cât și în alte țări, care a scos în evidență insuficiența combinațiilor și accesul scăzut a populației la remedii combinate specifice. A fost argumentată teoretic și demonstrată experimental metodologia de elaborare a combinațiilor cu doză fixă de medicamente cu aplicație în tratamentul otitelor, otomicozelor și surdității, prin prisma conceptului Quality by Design.

2. În premieră a fost demonstrată compatibilitatea și stabilitatea principiilor active IHF, MU, CIP, EC, UVB, NIC, PIR și extract uscat de păducel în combinații sub formă de amestecuri mecanice, fiind aplicate tehnici performante DSC, FT\_IR, difracție cu raze X;

3. Compozițiile optimele au fost stabilite în baza evaluării a 6 formule experimentale de picături auriculare cu IHF și MU, și câte 4 de picături cu CIP, EC și UVB și capsule cu NIC, PIR și EP, în care cantitatea de principii active a fost identică, variind doar compoziția și cantitățile de substanțe auxiliare. Determinarea parametrilor reologici (vâscozitate și tensiunea de forfecare), pH-ului și cedării principiilor active *in vitro* prin membrane artificială (polimerică semipermeabilă) și naturale (intestin și ureche de porc) au arătat, că formulările de picături auriculare se prezintă sub formă de lichide ne-Newtoniene și pseudoplastice, cu caracter tixotrop, iar vitezele de permeație a substanțelor medicamentoase în stare staționară și constantele de difuzie pentru substanțele active din formulările testate corelează cu compoziția cantitativă a excipienților, fiind optimele pentru formulările F1 la picăturile cu IHF+MU, și F4 la picăturile CIP+EC+UVB. Determinarea parametrilor tehnologici (indicii Carr și Hausner) și a profilurilor de dizolvare a NIC și PIR din capsule în medii acid și neutru, au demonstrat o cinetică a dizolvării (constantele de dizolvare ale NIC și PIR) optimală pentru formularea F1.

4. În procesul de optimizare a compozițiilor produselor combinate elaborate în baza designului factorial deplin  $3^2$  și analizei suprafețelor de răspuns s-a constatat, că la picăturile auriculare valorile vâscozității la cea mai mică viteză de forfecare pentru toate formulările cresc odată cu mărirea concentrației de PEG 400 și micșorarea cantităților de PG sau PS, cantitatea de PEG 400 în mare măsură determină procesul de difuzie prin creșterea coeficientului, pe când PG și PS îl scad; valorile pH-ului picăturilor cresc odată cu mărirea concentrațiilor de excipienți. La capsule, s-a observat creșterea valorilor indicelui Carr la mărirea concentrației de stearat de magneziu. Tor stearatul de magneziu în mare măsură a influențat și procesul de dizolvare a NIC și PIR, micșorând constanta de dizolvare.

5. Identificarea substanțelor active s-a realizat prin reacții chimice de culoare, sensibilitatea reacțiilor nu depășește 20 μg/ml. Metoda CSS a fost aplicată pentru identificarea substanțelor medicamentoase IHF, MU, CIP și EC în formele farmaceutice, aprecierea purității formei farmaceutice s-a efectuat prin excluderea apariției spoturilor suplimentare pe cromatogramele soluțiilor probă. Substanțele active din formulări au fost identificate și prin spectrofotometrie UV-Vis după maximele de absorbție, și HPLC după timpii de retenție. Pentru toate 3 produse farmaceutice combinate au fost elaborate și validate metode HPLC pentru dozarea concomitentă a principiilor active, precum și metode spectrofotometrice UV-Vis de alternativă, simple și accesibile; metodele de analiză dezvoltate au fost aplicate pentru standardizarea produselor farmaceutice elaborate.

6. S-a cercetat stabilitatea formelor farmaceutice elaborate prin expunerea în condiții de stres hidrolitic (acid și alcalin), oxidativ, termic, fotolitic. Produsele au fost depozitate și în condiții obișnuite, fiind stabilite condițiile de depozitare și termenii de valabilitate pentru fiecare produs: câte 24 de luni. Picăturile auriculare și capsulele elaborate au fost standardizate, cu elaborarea a 3 Monografii farmaceutice și 3 Regulamente tehnologice.

7. Rezultatele experimentale au arătat, că produsele administrate unimomentan animalelor de laborator (șoareci, șobolani) practic nu manifestă efecte toxice. S-a stabilit clasa de toxicitate 3 pentru picăturile CIP+EC+UVB, clasa de toxicitate 4 pentru picăturile IHF+MU și clasa de toxicitate 5 pentru capsulele NIC+PIR+EP. În cadrul studiilor de ototoxicitate prin evaluarea reflexului Preyer, otoscopiei și a otoemisiunilor acustice s-a constatat că nici unul din produsele farmaceutice cercetate nu posedă efecte ototoxice.

8. Cercetarea activității antibacteriene a picăturilor auriculare cu IHF+MU a demonstrat acțiunea bacteriostatică și bactericidă a formei farmaceutice față de toate tulpinile cercetate, cu o potență mult mai mare comparativ cu proba control – nitrofurulul. Cel mai promițător rezultat comparativ cu controlul este înregistrat față de *S. aureus*, cu o activitate bacteriostatică de cca 18 ori mai mare și o activitate bactericidă, respectiv de 37 de ori mai înaltă. Determinarea activității antibacteriene și antifungice a picăturilor combinate cu CIP, EC și UVB a scos în evidență o acțiune majoră pe toate tulpinile testate cu CMI=0,5 mg/ml în comparație cu amestecul mecanic fără ulei de busuioc, fiind demonstrat astfel, că acțiunile antibacteriană și antifungică ale formulării sunt potențate de către UVB.

9. În urma determinării activității antioxidante a extractului uscat de păducel individual și a capsulelor combinate cu NIC, PIR și EP s-a constatat, că extractul de păducel individual captează în proporție de 50% radicalii liberi de DPPH la o concentrație de 86,05 μg/ml, iar capsulele combinate la o concentrație de 99,596 μg/ml; testul ABTS a confirmat activitatea antioxidantă la capsule, care este

ne semnificativ mai joasă în comparație cu extractul individual, iar capacitatea de chelare a ionilor de fier este pronunțată (59,81%), fapt ce confirmă activitatea antioxidantă a capsulelor combinate.

10. Cercetările efectuate în acest studiu au permis elaborarea în premieră a trei produse farmaceutice combinate noi, originale: picături auriculare cu IHF și MU pentru terapia otitelor externe supurative, picături auriculare cu CIP, EC și UVB pentru tratamentul otomicozelor și capsule cu conținut de NIC, PIR și EP pentru tratamentul complex al surdității senzorieurale.

## **RECOMANDĂRI PRACTICE**

1. Pornind de la actualitatea tematicii abordate în lucrare, argumentată prin incidența crescută a maladiilor auriculare atât în Republica Moldova, cât și la nivel global, dar și în baza constatării insuficienței pe piață a produselor combinate specifice pentru tratamentul otitelor, otomicozelor și hipoacuziei senzorieurale, se recomandă continuarea cercetărilor preclinice farmacologice și clinice a produselor farmaceutice elaborate: picături auriculare cu IHF și MU pentru terapia otitelor, picături auriculare cu CIP, EC și UVB pentru tratamentul otomicozelor și capsule cu conținut de NIC, PIR și EP pentru tratamentul complex al surdității, cu implicarea laboratoarelor Centrului Științific al Medicamentelor și a Institutului Național de Cercetare în Medicină și Sănătate din cadrul USMF „Nicolae Testemițanu”, în vederea definitivării dosarelor preclinic și clinic pentru înregistrarea produselor menționate;

2. Pentru diversificarea și eficientizarea tratamentului otomicozelor se recomandă informarea medicilor practicieni otorinolaringologi despre rezultatele acestui studiu pentru a facilita prescrierea sub formă de rețete magistrale a picăturilor auriculare combinate cu CIP, EC și UVB;

3. În scopul asigurării accesului pacienților la terapii cu medicație complexă a otitelor și otomicozelor, se recomandă Centrului Farmaceutic Universitar „Vasile Procopișin” să inițieze prepararea picăturilor auriculare cu CIP, EC și UVB în baza prescripțiilor medicilor otorinolaringologi;

4. În baza documentelor analitice de normare a calității elaborate și a cercetărilor efectuate în lucrare se recomandă întreprinderilor autohtone de producere să includă produsele combinate elaborate în programul de activitate a departamentelor de cercetare-dezvoltare în vederea asigurării posibilității de transfer tehnologic și înregistrarea acestora în cadrul Agenției Medicamentelor și Dispozitivelor Medicale;

5. Metodologia de elaborare a combinațiilor cu doză fixă de medicamente cu aplicație în tratamentul otitelor, otomicozelor și surdității, elaborată în baza conceptului Quality by Design se recomandă a fi aplicată și în dezvoltarea medicamentelor combinate destinate eficientizării managementului altor maladii, care necesită abordări farmacoterapeutice complexe.

## BIBLIOGRAFIE

1. ABABII, I., CHIABURU, A., MANIUC, M., REVENCO, N., CHIRTOCA, D., CHIABURU-CHIOSA, D. Standardul național privind screening-ul audiologic la nou născuți. Chișinău, 2017, 22 p.
2. ABABII, I., MANIUC, M., SANDUL, A. *Otolaringologie*, Centrul Editorial-Poligrafic „Medicina”, Chișinău, 2019, 430 p.
3. ABABII, I., POSTOVOI, S., SALDUL, A. *Micoze în otorinolaringologie*, Centrul Editorial-Poligrafic „Medicina”, 2010, p. 198.
4. ABDELSHAFY, I., HALEEM, A., KHALIL, Y. et al. Microbiology of chronic suppurative otitis media. Study of the role of bacterial biofilm and fungal infection. In: *Journal of Otolaryngology-ENT Research*. 2015, nr. 1(3), p.1-6. ISSN: 2379-6359.
5. ABERA, B., Bacteriology and Antimicrobial Susceptibility of Otitis Media at Dessie Regional Health Research Laboratory, Ethiopia. In: *Ethiopian Journal of Health Development*. 2011, nr. 25(2), pp.161-167. ISSN: 2309-7388.
6. ABERS, M., SCHROEDER, S., GOELZ, L., SULSER, A., ROSE, Tko., PUCHALSKI, K., LANGLAND, J. Antimicrobial activity of the volatile substances from essential oils. In: *BMC Complement Med Ther*. 2021, nr. 21(1), pp. 124. PMID: 33865375. PMCID: PMC8053297. doi: 10.1186/s12906-021-03285-3.
7. AGARWAL, P., DEVI, LS. Otomycosis in a Rural Community Attending a Tertiary Care Hospital: Assessment of Risk Factors and Identification of Fungal and Bacterial Agents. In: *J. Clin. Diagn. Res*. 2017, nr.11, pp. 14–18.
8. Agenția Națională pentru Sănătatea Publică. „Pentru a auzi pe viață, ascultați cu grijă!”, [citat 30.06.2023]. Disponibil: <https://ansp.md/pentru-a-auzi-pe-viata-ascultati-cu-grija/>.
9. AHMAD, I., FARHEEN, M., KUKRETI, A., AFZAL, O., AKHTER MH., CHITME. H., VISHT, S., ALTAMIMI, ASA., ALOSSAIMI, MA., ALSULAMI, ER., JAREMKO, M., EMWAS, AH. Natural Oils Enhance the Topical Delivery of Ketoconazole by Nanoemulgel for Fungal Infections. In: *ACS Omega*. 2023, nr. 8(31), pp. 28233-28248. PMID: 37576685. PMCID: PMC10413480. doi: 10.1021/acsomega.3c01571.
10. AIJAZ, A., ISHAKU, E., SANDY, V., ALVARO, V. Volatile phenolics: A comprehensive review of the anti-infective properties of an important class of essential oil constituents. In: *Phytochemistry*. 2021, vol. 190. 112864, doi: 10.1016/j.phytochem.2021.112864.
11. ALAM, M.N., BRISTI, N.J, RAFIQUZZAMAN, M. Review on *in vivo* and *in vitro* methods evaluation of antioxidant activity. In: *Saudi Pharmaceutical Journal*. 2013, nr. 21, pp. 143-153. ISSN 1319-0164.
12. ALLIZOND, V., CAVALLO, L., ROANA, J., MANDRAS, N., CUFFINI, AM., TULLIO, V., BANCHE, G. *in vitro* Antifungal Activity of Selected Essential Oils against Drug-Resistant Clinical *Aspergillus* spp. Strains. In: *Molecules*. 2023, nr. 28(21), pp.7259. PMID: 37959679; PMCID: PMC10650698. doi: 10.3390/molecules28217259.
13. AMOR, G., SABBAH, M., CAPUTO, L., IDBELLA, M., DE FEO, V., PORTA. R., FECHTALI, T., MAURIELLO, G. Basil Essential Oil: Composition, Antimicrobial Properties, and Microencapsulation to Produce Active Chitosan. In: *Films for Food Packaging. Foods*. 2021, nr. 10(1), pp.121. PMID: 33430030. PMCID: PMC7827191. doi: 10.3390/foods10010121.



14. ANDRÉ, R., ALINE, P., MÔNICA, L., PAULA, M., GISLAIN, P. Evaluation of skin absorption of drugs from topical and transdermal formulations. In: *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2016, vol. 52, nr. 3. <http://dx.doi.org/10.1590/S1984-82502016000300018>.
15. ANWAR, K., GOHAR, MS. Otomycosis; clinical features, predisposing factors and treatment implications. In: *Pak J Med Sci*. 2014, nr. 30(3), pp. 564-7. PMID: 24948980. PMCID: PMC4048507. doi: 10.12669/pjms.303.4106.
16. Aprobări de medicamente și baze de date. [citat 21.09.2023]. Disponibil: <https://www.fda.gov/drugs/development-approval-process-drugs/drug-approvals-and-databases>.
17. ATTIA, KA., NASSAR, MW., EL-ZEINY, MB., SERAG, A. Zero order and signal processing spectrophotometric techniques applied for resolving interference of metronidazole with ciprofloxacin in their pharmaceutical dosage form. In: *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2016, nr. 154, pp. 232-2366.
18. AWAISU, A., MUKHALALATI, B., MOHAMED, MI. Research Designs and Methodologies Related to Pharmacy Practice. In: *Encyclopedia of Pharmacy Practice and Clinical Pharmacy*. 2019, pp. 7–21. PMCID: PMC7149347. doi: 10.1016/B978-0-12-812735-3.00602-6.
19. BAGGIO, D., ANANDA-RAJAH, MR. Fluoroquinolone antibiotics and adverse events. In: *Aust Prescr*. 2021 nr. 44(5), pp. 161-164. PMID: 34728881. PMCID: PMC8542490. doi: 10.18773/austprescr.2021.035.
20. BARBAROȘIE, I., DIUG, E., CIOBANU, N. *Tehnologia medicamentelor industriale*. USMF „Nicolae Testemițanu”. Chișinău, Știința, 1993.
21. BASIM, M., TAMEEMI, A., STAN, R., PRISACARI, V., VOICU, G. Antimicrobial performance of nanostructured silica titania sieves loaded with izohidrafural against microbial strains isolated from urinary tract infections In: *Comptes Rendus*. 2017, nr. 20(5), pp. 475-483. <https://doi.org/10.1016/j.crci.2016.09.007>
22. BEARD, M., JOHN, L. Iron biology in immune function, muscle metabolism and neuronal functioning. In: *The Journal of nutrition*. 2001, nr. 131(2), pp. 568-580.
23. BENEĂ, A., CIOBANU, N., UNCĂ, L. Obținerea și studiul chimic al extractelor uscate din Hyperici herba și Hyperici flores. *IP USMF " Nicolae Testemițanu " din Republica Moldova, Certificat cu drept de autor, Seria O, Nr. 6919* din 02.06.2021.
24. BERGMANN, J.F. Review: fixed-dose drug combinations improve medication compliance compared with free-drug regimens. In: *Evid Based Med*. 2008, nr. 13, pp. 18.
25. BERNAN, S. Classification and criteria of otitis media. In: *Clinical Microbiology and Infection*. 1997, vol. 3, nr. 3. [https://doi.org/10.1016/S1198-743X\(14\)64945-4](https://doi.org/10.1016/S1198-743X(14)64945-4).
26. BHALERAJ, SR., ROTE, AR. Application of UV spectrophotometric methods for estimation of ciprofloxacin and tinidazole in combined tablet dosage form. In: *Int J Pharm Pharm Sci*. 2012, nr. 4, pp. 464-467.
27. BHATIA, H., READ, E., AGARABI, C., BRORSON, K., LUTE, S., YOON, S. A design space exploration for control of Critical Quality Attributes of mAb. In: *Int J Pharm*. 2016, nr. 512(1), pp. 242-252. PMID: 27575657. doi: 10.1016/j.ijpharm.2016.08.046.

28. BHOWMICK, A., KHANDELWAL, K., MHASKE, V., KHADKE, S., Analytical Method Development and Validation for Piracetam as Bulk and in Pharmaceutical Formulation. In: *Int J PharmTech Res.* 2010 nr. 2(1). ISSN : 0974-4304.
29. BIBIRE, N., VIERIU, M., PANAINTE, A. D., AGORAEI, L., UNCU, L., VLASE, C.V., VLASE, A. A new high performance liquid chromatographic analysis method for ciprofloxacin. In: *Revista de chimie.* 2015, vol. 66, supl. no. 9, pp. 1463-1466. ISSN: 0034-7752 [https://ibn.idsi.md/vizualizare\\_articol/178996](https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/178996)
30. BIOSIC, M., SKORIC, I., BEGANOVIC, J. Nitrofurantoin hydrolytic in the enviroment. In: *Chemosphere.* 2017, nr.186. DOI:[10.1016/j.chemosphere.2017.08.011](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.08.011).
31. BIYASHEV, D., SIWICKA, ZE, ONAY, UV. Aplicarea locală a melaninei sintetice promovează repararea țesuturilor. In: *npj Regen Med.* 2023, nr.8, pp. 61. <https://doi.org/10.1038/s41536-023-00331-1>.
32. BOBROV, E., UNCU, L., VALICA, V., STAVER, O., UNCU, A. Preparate antibacteriene și regenerante combinate pe piața farmaceutică a Republicii Moldova. In: *Anale științifice ale Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”.* *Materialele conferinței anuale „Zilele Universității”.* Probleme medico-biologice și farmaceutice. Chișinău, 2013, ed. XIV-a, vol. 1, pp. 353-357. ISSN 1857-1719. <http://repository.usmf.md/handle/20.500.12710/2670>.
33. BOBROV, E., UNCU, L., VALICA, V., TIHON, I., MOVILĂ, L., VÎSLOUH, O. Elaborarea metodelor de identificare pentru unguentul combinat cu izohidrafural și metiluracil. In: *Revista Farmaceutică a Moldovei.* 2011, nr. 1-4, pp. 13-15. ISSN 1812-5077
34. BOBROV-DONICI, E., UNCU, L. The study of physical and chemical compatibility of Izohidrafural, Methyluracil and Benzocaine by HPLC method. In: *The 14th International Symposium and Summer School on Bioanalysis, Book of abstracts, 28 june-6 july 2014.* Smolenice, Bratislava, 2014, p. 60. ISBN 978-80-971179-3-1.
35. BOGUȘ, D., BOZBEI, I., DONICI, E., UNCU, L. Aplicarea spectroscopiei de masă în analiza uleiului volatil de busuioc. In: *Materialele conferinței științifico-practice a tinerilor cercetători, ediția a XII-a „Importanța consilierii pacientului în utilizarea rațională a medicamentelor”, ediția a 12-a,* 28 noiembrie 2023, Chișinău, p.117. ISBN 978-9975-89-295-7. <https://farmaciesociala.usmf.md/ro/cercetare-33/manifestari-stiintifice>
36. BOJANOVIĆ, M., STALEVIĆ, M., ARSIĆ-ARSENIJEVIĆ, V., IGNJATOVIĆ, A., RANĐELOVIĆ, M., GOLUBOVIĆ, M., ŽIVKOVIĆ-MARINKOV, E., KORAČEVIĆ, G., STAMENKOVIĆ, B., OTAŠEVIĆ, S. Etiology, Predisposing Factors, Clinical Features and Diagnostic Procedure of Otomycosis: A Literature Review. In: *J. Fungi* 2023, nr. 9, pp. 662. <https://doi.org/10.3390/jof9060662>.
37. BOLIGON, A.A., MACHADO, M.M., ATHAYDE, M.L. Technical evaluation of antioxidant activity. In: *Medicinal chemistry.* 2014, nr 4(7), pp. 517-522. ISSN: 2161-0444.
38. BRIAN, G., ET AL. Fixed dose drug combinations – are they pharmacoconomically sound? Findings and implications especially for lower- and middle-income countries. In: *Expert Review of Pharmacoconomics & Outcomes Research,* 2020, nr. 20:1, pp. 1-26. DOI: [10.1080/14737167.2020.1734456](https://doi.org/10.1080/14737167.2020.1734456).
39. Britannica, Editorii Enciclopediei. ”uracil”. *Encyclopedia Britannica,* 2018. [citat 11.01.2024]. Disponibil: <https://www.britannica.com/science/uracil>.

40. CABAC, V., ISTRATENCO, A. et al. Otomicoza – aspecte contemporane de diagnostic și tratament (revista literaturii). In: *Anale Științifice ale USMF "Nicolae Testemițanu"*. 2012, vol. 4. ed. a 13-a, pp. 336-343.
41. CAZACU, M., MORAR, A., DONICI, E., EVTODIENCO, V., UNCU, L. Evaluarea stabilității metiluracilului în produse monocomponente și în combinații. In: *Materialele Conferinței științifico-practice cu participare internațională „Sistemul de asigurare a calității medicamentului –probleme și soluții „*, Revista Farmaceutică a Moldovei, nr. 4, 2021, pp.36-37. ISSN 1812 – 5077. <https://repository.usmf.md/handle/20.500.12710/18602>
42. CAZACU, M., MORAR, A., DONICI, E., UNCU, L. Aplicarea cromatografiei pe strat subțire în studiile de degradare accelerată a picăturilor auriculare combinate. In: *Moldovan Journal of Health Sciences*, Culegere de rezumate, Conferința științifică anuală „Cercetare în biomedicină și sănătate: calitate, excelență și performanță”, p. 481. ISSN 2345-1467. [https://ibn.idsi.md/sites/default/files/imag\\_file/481\\_1.pdf](https://ibn.idsi.md/sites/default/files/imag_file/481_1.pdf).
43. CELIA, C., DI MARZIO, L., LOCATELLI, M., RAMUNDO P, D., AMBROSIO, F., TARTAGLIA A. Current Trends in Simultaneous Determination of Co-Administered Drugs. In:*Separations*. 2020, nr. 7(2) pp. 29. <https://doi.org/10.3390/separations7020029>.
44. Centrul Național de Informare în Biotehnologie (2024). Rezumatul compusului PubChem pentru CID 1174, Uracil. [citat 09.09.2023]. Disponibil: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Uracil>.
45. CERENIUC, A., FORNEA, D., GRIȚCAN, A., UNCU, L. Metode de analiză a extractelor vegetale cu conținut de flavonozide și polifenoli. In: *Materialele conferinței științifico-practice a tinerilor cercetători, ediția a XII-a „Importanța consilierii pacientului în utilizarea rațională a medicamentelor”*. ediția a 12-a, 2023, p.100. ISBN 978-9975-89-295-7. <https://farmaciesociala.usmf.md/ro/cercetare-33/manifestari-stiintifice>
46. CERENIUC, A., FORNEA, D., MAZUR, E., DONICI, E., UNCU, L. Caracterizarea specificității în procesul de validare a unei metode HPLC de dozare pentru produsele combinate. In: *Moldovan Journal of Health Sciences* 10(3)/2023 ANEXA 1, Culegere de rezumate, Conferința științifică anuală „Cercetare în biomedicină și sănătate: calitate, excelență și performanță”, p. 661. ISSN 2345-1467. [https://conferinta.usmf.md/wp-content/uploads/Culegerea-Rezumate-MJHS\\_10\\_3\\_2023\\_anexa1.pdf](https://conferinta.usmf.md/wp-content/uploads/Culegerea-Rezumate-MJHS_10_3_2023_anexa1.pdf)
47. CERENIUC, A., FORNEA, D., UNCU, L. Particularități de analiză HPLC a formelor farmaceutice combinate. In: *Direcții de reformare a sistemului farmaceutic din perspectiva cursului european al Republicii Moldova*. Chișinău, 28 aprilie 2023, ed. 2, pp. 138-139. ISBN 978-5-88554-205-0. [https://ibn.idsi.md/sites/default/files/imag\\_file/138-139\\_32.pdf](https://ibn.idsi.md/sites/default/files/imag_file/138-139_32.pdf).
48. CHANDRASEKHAR, SS., TSAI DO, BS., SCHWARTZ, SR. et al. Clinical Practice Guideline: Sudden Hearing Loss (Update). In: *Otolaryngology–Head and Neck Surgery*. 2019, nr. 161, pp.1-45. doi:10.1177/0194599819859885.
49. CHAPPE, M.,VRIGNAUD, S., DE GENTILE, L., LEGRAND, G., LAGARCE, F., LE GOVIC, Y. Tratamentul de succes al unei otomicoze recidivante de *Aspergillus niger* cu aplicare locală de voriconazol. In: *J. Mycol. Med.* 2018, nr. 28, pp. 396–398.
50. CHARLOTTE, M., CHIONG, M. ACUIN, P., LABRA, ABNER L. Ear, Nose, and Throat Disorders. In: *Hunter's Tropical Medicine and Emerging Infectious Diseases (Tenth Edition)*. 2020, pp. 105-113. ISBN 9780323555128, <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-55512-8.00012-0>.

51. CHIRU, T. *Cercetările farmacognostice și farmacologice în vederea valorificării speciei centaurea cyanus L.*: tz. de doct. în farmacie. Chișinău, 2014. 184 p.
52. CILURZO, F., MINGHETTI, P., SINICO, C. Newborn pig skin as model membrane *in vitro* drug permeation studies: a technical note. In: *AAPS PharmSciTech*. 2007, nr. 8(4), pp. 94. PMID: 18181554. PMCID: PMC2750680. doi: 10.1208/pt0804094.
53. CIOBANU, C., UNCU, L. Development and validation of HPLC method for quantification of chlorogenic acid in plant extracts. In: *Book of abstracts, the 19<sup>th</sup> International Symposium and Summer School on Bioanalysis*. Suior, Romania, 2019, pp. 68-69. ISBN 978-973-0-29898-7.
54. CIOBANU, N., UNCU, L., BOBROV, E., PRISACARI, V., BURACIOV, S. Elaborarea formulei unguentului combinat cu izohidrafural și metiluracil și a metodei de extracție a principiilor active din forma farmaceutică. In: *Anale științifice ale Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”*. Materialele conferinței anuale „Zilele Universității”. Probleme medico-biologice și farmaceutice. Chișinău, 2010, ed. XI-a, vol. 1, pp. 420-423. ISSN 1857-1719. <http://repository.usmf.md/handle/20.500.12710/4003>.
55. CIOBANU, N., UNCU, L., DAMASCHIN, N., FABIAN, L., POSTICA, M. Evaluarea fitochimică a uleiului volatil de busuioc. In: *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe Medicale*. 2010, nr. 1(24), pp. 74-77. ISSN 1857-0011. [https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare\\_articol/10919](https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare_articol/10919).
56. CLÁUDIA, V., ROMEU, A., PAULA, B., CATARINA., C, CARLA., V. Topical fixed-dose combinations: Current *in vitro* methodologies for pre-clinical development. In: *International Journal of Pharmaceutics*. 2022, vol. 617, doi.org/10.1016/j.ijpharm.2022.121621.
57. COJOCARU-TOMA, M. ș. a. Studiul acțiunii antioxidante a unor plante medicinale din colecția CȘCPM USMF „Nicolae Testemițanu” prin utilizarea testului DPPH. În: *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Secția Științe Medicale*. 2016, nr. 1(50), pp. 208-213. ISSN 1857-0011.
58. CUMMINGS, CW. Cummings Otolaryngology. Head & Neck Surgery. 6th edition. In: *Philadelphia, Elsevier Mosby*. 2014, pp. 2956.
59. DALTON, A., WOLFF, K., & BEKKER, B. Multidisciplinary Research as a Complex System. In: *International Journal of Qualitative Methods*. 2021. <https://doi.org/10.1177/16094069211038400>.
60. DANIEL S. Topical Treatment of Chronic Suppurative Otitis Media. In: *Current infectious diseases reports*. 2012, nr. 2(14), p.121-127. ISSN: 1534-3146.
61. DESAI, D, WANG, J., WEN, H., LI, X., TIMMINS, P. Formulation design, challenges, and development considerations for fixed dose combination (FDC) of oral solid dosage forms. In: *Pharm Dev Technol*. 2013, nr.18(6), pp.1265-76. PMID: 22339230. doi:10.3109/10837450.2012.660699.
62. DIUG, E., GURANDA, D., CIOBANU, C. *Biofarmacie și farmacocinetică* (ediția II-a completă). Chișinău, CEP Medicina, 2019, 204 p.
63. DIUG, E., DIUG, O. Forme farmaceutice încapsulate. Capsule (Capitolul XXXIII). În: *Iuliana Popovici, Dumitru Lupuleasa. Tehnologie farmaceutică (tratat)*. Iași: Ed. „Polirom”, 2009, vol.3,181-286 p.
64. DONICI, E., BOGUȘ, D., UNCU, L. Evaluarea preclinică a formelor farmaceutice auriculare. In: *Direcții de reformare a sistemului farmaceutic din perspectiva cursului*

European al Republicii Moldova, ed. 2, 2023, pp. 135-136. ISBN 978-5-88554-205-0. [https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare\\_articol/180987](https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare_articol/180987)

65. DONICI, E., CREȚU, D., VALICA, V., MAZUR, E., UNCU, L. Aplicarea proiectării experimentelor în analiza farmaceutică. In: *Revista Farmaceutică a Moldovei*, vol.47, nr.3, 2021. pp. 19-22. ISSN 1812 – 5077. [https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare\\_articol/142190](https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare_articol/142190).
66. DONICI, E., DIUG, E., VALICA, V., PRISACARI, V., UNCU, L. Utilizarea formelor farmaceutice combinate în tratamentul arsurilor infectate. În: *Volum de rezumate. Conferința Națională de Farmacie Clinică “Provocări ale farmacoterapiei contemporane”*. Ediția a II-a. București, România, 2017, pp. 185-188. ISBN 978-973-0-24609-4.
67. DONICI, E., UNCU, L., PRISACARI, V. Studiul compatibilității fizico-chimice a izohidrafuralului, metiluracilului și benzocainei prin metoda HPLC. In: *Revista Farmaceutică a Moldovei*. 2014, nr. 3-4, p. 48. ISSN 1812-5077. [https://ibn.idsi.md/vizualizare\\_articol/41648](https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/41648).
68. DONICI, E., UNCU, L., PRISACARI, V., CIOBANU, N., VÎSLOUH, O., SMETANSCAIA, A. Elaborarea tehnologiei de preparare a unui unguent nou, combinat cu conținut de izohidrafural, metiluracil și floclonol acetamid. În: *Volum de rezumate, Congresul Național de Farmacie din România, Farmacia – centru al interdisciplinarității științelor vieții*. Ediția a XVI-a. București, România, 2016, p. 270. ISSN 2537 – 2823. ISSN-L 2537 – 2823.
69. DONICI, E., VALICA, V., UNCU, L. Determinarea stabilității unguentului combinat cu conținut de izohidrafural și fluocinolon acetamid. În: *Culegere de rezumate, Congresul consacrat aniversării a 75-a de la fondarea USMF „Nicolae Testemițanu”*, Chișinău, 2020, p. 660. [https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare\\_articol/126922](https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare_articol/126922).
70. DONICI, E., VALICA, V., UNCU, L. Stability studies of isohydrofural and fluocinolon acetamide combined ointment. In: *Moldovan Medical Journal*. 2020, nr. 63(4), pp. 12-17. DOI: [10.5281/zenodo.4016802](https://doi.org/10.5281/zenodo.4016802)
71. DOYTCHINOVA, I. Drug Design-Past, Present, Future. In: *Molecules*. 2022, nr. 27(5), pp. 1496. PMID: 35268598. <https://doi.org/10.3390/molecules27051496>.
72. Drug product databases. [citată 21.09.2023].Disponibil: <https://www.canada.ca/en/health-canada/services/drugs-health-products/drug-products/drug-product-database.html>
73. DRUMEA, M., STINGACI, E., UNCU, L., CRUDU, V., VALICA, V., MACAEV, F. Evaluarea activității antifungice și antibacteriene a unui nou derivat nesaturat de 1,2,4-triazol (Nitrotriazon). In: *Buletinul Academiei De Științe A Moldovei: Științe Medicale*. 2021, vol. 69, nr. 1, pp. 93-99. ISSN: 1857-0011. DOI: <https://doi.org/10.52692/1857-0011.2021.1-69.19>
74. DUCA, G., POGREBNOI, S., BOLDESCU, V., AKSAKAL, F., UNCU, A., VALICA, V., UNCU, L., NEGREȘ, S., NICOLESCU, F., MACAEV, F. Tryptanthrin analogues as inhibitors of enoyl-acyl carrier protein reductase: activity against Mycobacterium tuberculosis, toxicity, modeling of enzyme binding. In: *Current Topics in Medicinal Chemistry*. 2019, vol. 19, nr.8, pp. 609-619. ISSN: 1568-0266. ISSN: 1873-4294. DOI: <http://doi.org/10.2174/1568026619666190304125740>.
75. DYAS, M., DELARGY, H., Econazole Nitrate. In: *Analytical Profiles of Drugs Substances and Excipients*. 1994, nr. 23, pp.125-151. [https://doi.org/10.1016/S0099-5428\(08\)60602-4](https://doi.org/10.1016/S0099-5428(08)60602-4).
76. ELEONORA, G., RANDY, J. Structure–activity relationships and drug. In: *The Science*

and Practice of Pharmacy .2021, pp. 129-153. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820007-0.00007-6>.

77. ELGENDY, K., ZAKY, M., ALAA, T., FADEL, S. Rapid HPLC determination of ciprofloxacin, ofloxacin, and marbofloxacin alone or in a mixture In: *Results in Chemistry*. 2013, vol. 5. <https://doi.org/10.1016/j.rechem.2022.10074>
78. EMA (2021) Guideline on pharmaceutical fixed combination products. European Medicines Agency, London; [citat 06.09.2023]. Disponibil: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-pharmaceutical-fixed-combination-products-revision-1\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-pharmaceutical-fixed-combination-products-revision-1_en.pdf)
79. EMEA Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP). Guideline on the nonclinical development of fixed combinations of medicinal products; January 24, 2023. [citat 28.04.2023]. Disponibil: <https://www.ema.europa.eu/en/non-clinical-development-fixed-combinations-medicinal-products-scientific-guideline>
80. EMEA Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP). Guideline on clinical development of fixed combination 4 medicinal products; 23 April 2023. [citat 28.04.2023]. Disponibil: <https://www.ema.europa.eu/en/clinical-development-fixed-combination-medicinal-products-scientific-guideline>
81. European Pharmacopoeia, 10th ed., Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare of the Council of Europe. [citat 15.06.2023]. Disponibil: <https://www.edqm.eu/en/european-pharmacopoeia>
82. European Pharmacopoeia, 11th ed., Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare of the Council of Europe, 2019. [citat 15.06.2023]. Disponibil: <https://www.edqm.eu/en/european-pharmacopoeia>
83. EVTODIENCO, V., MORAR, A., CAZACU, M., UNCU, L. Aplicarea difracției cu raze X în cercetarea compatibilității substanțelor active cu excipienții. In: *Materialele Conferinței științifice anuale „Cercetarea în biomedicină și sănătate: calitate, excelență și performanță”*, 20-22 octombrie 2021, Chișinău, Republica Moldova, p. 436. ISBN 978-9975-82-223-7. <http://repository.usmf.md/handle/20.500.12710/19258>.
84. EVTODIENCO, V., UNCU, A., DONICI, E., UNCU, L. Aplicarea design-ului factorial în optimizarea compoziției capsulelor. În: *Culegere de rezumate, Congresul consacrat aniversării a 75-a de la fondarea USMF „Nicolae Testemițanu”*. 2020, p. 663. [https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare\\_articol/126926](https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare_articol/126926)
85. EVTODIENCO, V., UNCU, L. Evaluarea pieței produselor farmaceutice cu conținut de extract de păducel. In: *Materialele Conferinței Științifico-Practice Naționale cu Participare Internațională „Actualități și Perspective în Studiul Farmaceutic al Plantelor Medicinale”*, 2021 p. 111. ISBN 978-9975-56-909-5. [https://ibn.idsi.md/vizualizare\\_articol/143062](https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/143062)
86. EWERT, DL., LU, J., LI, W., DU, X., FLOYD, R., KOPKE, R. Antioxidant treatment reduces blast-induced cochlear damage and hearing loss. In: *Hear Res*. 2012, nr. 285(1-2), pp. 29-39. doi: 10.1016/j.heares.2012.01.013.
87. FACHRIYA, E., WIBAWA, P., AWALIYAH, A. Antibacterial activity of basil oil (*Ocimum basilicum* L) and basil oil nanoemulsion. In: *Journal of Physics: Conference Series 1524*. 2020, doi:10.1088/1742-6596/1524/1/012060.
88. Farmacopeea Română. ediția a X-a ed. Editura Medicală: București; 2011, 1315 p.
89. FDA (2015) Fixed-combination and co-packaged drugs: applications for approval and combinations of active ingredients under consideration for inclusion in an over-the-counter

monograph. Proposed rule, Federal Register, 12/23/2015. [citat 06.09.2023]. Disponibil: <https://www.federalregister.gov/documents/2015/12/23/2015-32246/combined-combination-and-co-packaged-drugs-applications-for-approval-and-combinations-of-active>

90. FEDERICO, F., ELISA, G., L. FILIPPO, A. Application of different analytical methods for the determination of phenolics and antioxidant activity in hawthorn (*Crataegus* spp.) bud and sprout herbal extracts. In: *Journal of Applied Botany and Food Quality*. 2020, nr. 93, pp. 1 – 10. DOI:10.5073/JABFQ.2020.093.001.
91. FELDMAN, L., EFRATI, S., EVIATAR, E., ABRAMSOHN, R., YAROVOY, I., GERSCH, E. et al. Gentamicin-induced ototoxicity in hemodialysis patients is ameliorated by N-acetylcysteine. In: *Kidney International*. 2007, nr. 72(3), pp. 359-36. ISSN: 00852538.
92. FETONI, A. R., GARZARO, M., RALLI, M., LANDOLFO, V., SENSINI, M., PECORARI, G., et al. The monitoring role of otoacoustic emissions and oxidative stress markers in the protective effects of antioxidant administration in noise-exposed subjects: A pilot study. In: *Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*. 2009, nr. 15(11), pp. 1-8.
93. FIROOZ, A., NAFISI, S., MAIBACH, H. I. Novel drug delivery strategies for improving econazole antifungal action. In: *International Journal of Pharmaceutics*. 2015, nr. 495(1), pp. 599–607. doi:10.1016/j.ijpharm.2015.09.015
94. Fixed-dose Combination Drugs. [citat 18.12.2023]. Disponibil: <https://www.growthplusreports.com/report/fixeddose-combination-drugs-market/8498>.
95. FORNEA, D., CERENIUC, A., GANDACOV, V., UNCU, L. Stabilitatea piracetamului în forme farmaceutice solide. In: *Culegere de rezumate, Conferința științifică anuală „Cercetare în biomedicină și sănătate: calitate, excelență și performanță”*. Moldovan *Journal of Health Sciences*. 2023, p. 645. ISSN 2345-1467. [https://conferinta.usmf.md/wp-content/uploads/Culegerea-Rezumate-MJHS\\_10\\_3\\_2023\\_anexa1.pdf](https://conferinta.usmf.md/wp-content/uploads/Culegerea-Rezumate-MJHS_10_3_2023_anexa1.pdf)
96. FORNEA, D., CERENIUC, A., MAZUR, E., UNCU, L. Evaluarea stabilității extractului de păducel în forme farmaceutice combinate. In: *Materialele conferinței științifico-practice a tinerilor cercetători, ediția a XII-a „Importanța consilierii pacientului în utilizarea rațională a medicamentelor”*. 2023, p. 96. ISBN 978-9975-89-295 <https://farmaciesociala.usmf.md/ro/cercetare-33/manifestari-stiintifice>.
97. FORNEA, D., CERENIUC, A., UNCU, L. Evaluarea stabilității nicergolinei în produse farmaceutice monocomponente și în combinații. In: *Direcții de reformare a sistemului farmaceutic din perspectiva cursului european al Republicii Moldova*. 2023, pp. 142-143. ISBN 978-5-88554-205-0. [https://ibn.idsi.md/sites/default/files/imag\\_file/142-143\\_24.pdf](https://ibn.idsi.md/sites/default/files/imag_file/142-143_24.pdf)
98. FOROOTAN A, RSJOBACK, JBJORKMAN, BJOGREEN, LLINZ, AND M KUBISTA. Methods to determine limit of detection and limit of quantification in quantitative real-time PCR (qPCR). *Biomolecular Detection and Quantification* 2017; 3, 1–6. doi: 10.1016/j.bdq.2017.04.001.
99. FRIERI, M., KUMAR, K., BOUTIN, A. Rezistența la antibiotic. In: *Jurnalul de infecții și sănătate publică*. 2017, nr. 10(4). pp. 369-378.
100. FURSENCO, C., CALALB, T., UNCU, L., DINU, M., ANCUCEANU, R. *Solidago virgaurea* L.: a review of its ethnomedicinal uses, phytochemistry, and pharmacological activities. In: *Biomolecules*. 2020, vol. 10, nr. 12, pp. 1-31. DOI: <https://doi.org/10.3390/biom10121619>.
101. FURSENCO, C., CALALB, T., UNCU, L. Antibacterial and antifungal activities of some *solidago* species. In: *Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакоterapiї і призначення*

лікарських засобів»: матеріали IV Міжнар. наук.-практ. конф. Kharkov, Ukraine. X.: НФаУ, 2020, pp. 28-29. ISSN 2412-0456.

102. FURSENCO, C., DRĂGĂLIN, E., CALALB, T., UNCU, L. Comparative assessment of pharmacopoeia requirements regarding the standardization of herbal drugs. In: *Materialele conferinței „Direcții de reformare a sistemului farmaceutic din perspectiva cursului european al Republicii Moldova”*. Ediția a 2-a, 2023, pp. 104-116. ISBN 978-5-88554-205-0. [https://ibn.idsi.md/vizualizare\\_articol/180927](https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/180927).
103. GADÎRCĂ, A., BOBROV, E., UNCU, L., PARII, S. Sensorineural hearing loss syndrome: incidence and method of treatment. In: *Abstract book of 5-th International Medical Congress for Students and Young Doctors „Medespera”*. Chișinău, 2014, p. 233. ISBN 978-9975-3028-3-8.
104. GANDACOV, V., MAZUR, E., UNCU, L. Pharmaceutical availability study of the combined capsules using dissolution test. In: *Abstract book of 20th International Symposium and Summer School on Bioanalysis, the Medical School of the University, Pécs, Hungary, 24-30 iunie, 2022, p. 75*. <http://bioanalitika.aok.pte.hu/meetings/SummerSchool2022/SummerSchool2022.html>
105. GANDACOV, V., UNCU, L., MAZUR, E., VALICA, V. Stability evaluation of combined ear drops with ciprofloxacin, econazole and basil volatile oil under different stress conditions. In: *Abstract book of 21st International Symposium and Summer School on Bioanalysis (21st ISSSB), „George Emil Palade” University of Medicine, Pharmacy, Science and Technology of Târgu Mureș, Romania, 2023, p.16*. ISSN: 2668-7755, Online ISSN: 2668-7763.
106. GAONAGALDOS, A., GARCIA, P., AURORAPRADO, M., SANTORO, M., KEDORHACKMANN, E. Simultaneous determination of econazole nitrate, main impurities and preservatives in cream formulation by high performance liquid chromatography. In: *Talanta*. 2008, nr. 77(2), pp. 673-678. Doi:10.1016/j.talanta.2008.07.010.
107. GHICA, M.V. și al. Flow and thixotropic parameters for rheological characterization of hydrogels. In: *Molecules*. 2016, vol. 21, p. 786-803. ISSN 1420-3049.
108. Global and united states hearing loss therapy market report & forecast 2022-2028. [citat 05.01.2024]. Disponibil la: <https://www.researchreportsworld.com/global-and-united-states-hearing-loss-therapy-market-20992484>
109. GONCIAR, V., CAZACU, V., CHEPTEA, E. *Farmacotoxicologie*. Chișinău, Tipografia Centrală, 2008, 264 p.
110. Guidance for Industry: Dissolution Testing of Immediate Release Solid Oral Dosage Forms. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER), August 1997. [citat 06.09.2023]. Disponibil: <https://www.fda.gov/media/70936/download/>
111. Guideline on clinical development of fixed combination medicinal products, 23 March 2017 EMA/CHMP/158268/2017 Committee for Human Medicinal Products (CHMP). [citat 06.09.2023]. Disponibil: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-clinical-development-fixed-combination-medicinal-products-revision-2\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-clinical-development-fixed-combination-medicinal-products-revision-2_en.pdf)
112. Guidelines for registration of fixed-dose combination medicinal products, World Health Organization WHO Technical Report Series, Nr. 929, 2005. [citat 15.06.2023]. Disponibil:



<https://www.who.int/publications/m/item/annex-5-trs-929>

113. GUJA, E., MAZUR, E., UNCU, L. Compatibilitatea substanțelor active cu cele auxiliare în preparate medicamentoase. In: *Congresul național consacrat aniversării a 75-a de la fondarea USMF „Nicolae Testemițanu”*. 2020, p. 667. [https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare\\_articol/126930](https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare_articol/126930).
114. GULCIN, I., ALWASE, L. Metal Ions, Metal Chelators and Metal Chelating Assay as Antioxidant Method. In: *Processes*. 2022, nr.10(1), pp.132. <https://doi.org/10.3390/pr10010132>.
115. GÜLÜSTAN, F., ABAKAY, M.A., DEMIR, E. Efficacy of topical isoconazole nitrate in the treatment of otomycosis. In: *Am. J. Otolaryngol.* 2021, nr. 42.
116. GUPTA, AK., MAYS, RR., FOLEY, K.A. Topical Antifungal Agents. In: *Comprehensive Dermatologic Drug Therapy*. 2021, pp. 480–492. doi:10.1016/b978-0-323-61211-1.00042-5.
117. HAGIWARA, S., TAMURA, T., SATOH, K., KAMEWADA, H., NAKANO, M., SHINDEN, S., YAMAGUCHI, H., MAKIMURA, K. The Molecular Identification and Antifungal Susceptibilities of Aspergillus Species Causing Otomycosis in Tochigi, Japan. In: *Mycopathologia* 2019, nr. 184, pp. 13–21.
118. HAMID, K., JAVED, A. Fixed Dose Combination (FDC) Products: Introduction, Development and Regulations. In: *Res. J. Pharm. Dosage Form. & Tech.* 2016, nr. 8(3), pp. 207-210. DOI: 10.5958/0975-4377.2016.00028.8
119. HANNLEY, MT., DENNENY, JC., HOLZER, SS. Use of Otological Antibiotics in Treating 3 Common Ear Diseases. In: *Otolaryngology–Head and Neck Surgery*. 2000, nr.122(6), pp. 934-940. doi:10.1067/mhn.2000.107813.
120. HEAD, K., CHONG, LY., BHUTTA, MF., MORRIS, PS., VIJAYASEKARAN, S., BURTON, MJ., SCHILDER, AG., BRENNAN-JONES, CG. Topical antiseptics for chronic suppurative otitis media. In: *Cochrane Database Syst Rev*. 2020, nr. 1(1), PMID: 31902140. PMCID: PMC6956662. doi: 10.1002/14651858.CD013055.pub2.
121. HER, B.M., IRNA, S. Clinical effectiveness of compounded topical medications in oral medicine: a meta-analysis. In: *Stomatological dis sci.* 2020, nr.4(3). doi: [10.20517/2573-0002.2019.18](https://doi.org/10.20517/2573-0002.2019.18).
122. HSU, C., CHEN, W., WENG, Y., TSENG, C. Chemical composition, physical properties, and antioxidant activities of yam flours as affected by different drying methods. In: *Food Chem*, 2003, nr. 83, pp. 85-92. DOI:10.1016/S0308-8146(03)00053-0.
123. ICH Harmonised Tripartite Guideline Q1A(R2): Stability Testing of New Drug Substances and Products 2003. [citat 28.08.2023]. Disponibil: <https://database.ich.org/sites/default/files/Q1A%28R2%29%20Guideline.pdf>
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. [citat 23.09.2023]. Disponibil: <https://database.ich.org/sites/default/files/Q2%28R1%29%20Guideline.pdf>
125. ICH Harmonised Tripartite Guideline Topic Q1C: Stability Testing For New Dosage Forms, 2003. [citat 28.08.2023]. Disponibil: <https://database.ich.org/sites/default/files/Q1C%20Guideline.pdf>
126. ILIĆ, ZS., MILENKOVIĆ, L., ŠUNIC, L., TMUŠIĆ, N., MASTILOVIĆ, J., KEVREŠAN, Ž., STANOJEVIĆ, L., DANILOVIĆ, B., STANOJEVIĆ, J. Eficiența agenților

- antimicrobieni ai uleiului esențial de busuioc sub diferite tratamente de umbrire și perioade de recoltare. In: *Agronomie* 2021, nr. 11, pp. 1574. <https://doi.org/10.3390/agronomy11081574>.
127. ILYASOV, IR., BELOBORODOV, VL., SELIVANOVA, IA., TEREKHOV, RP. Decolorization Assay of Antioxidant Capacity Reaction Pathways. In: *Int J Mol Sci.* 2020, nr. 21(3), pp. 1131. PMID: 32046308; PMCID: PMC7037303. doi: 10.3390/ijms21031131.
128. IMRE, S., DOGARU, MT., VARI, C., MUNTEAN, T., KELEMEN, L. Validation of an HPLC method for the determination of ciprofloxacin in human plasma. In: *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis.* 2003, nr. 33(1), pp. 125-30.
129. IVKO, T., ASLANIAN, M., BOBRYTSKA, L., POPOVA, N., NAZAROVA, O., BEREZNYAKOVA, N., GERMANYUK, T. Development of the Composition and Manufacturing Technology of a New Combined Drug: Lavaflam. In: *Turk J Pharm Sci.* 2018, nr. 15(3), pp. 263-270. doi: 10.4274/tjps.79553. PMID: 32454669; PMCID: PMC7227840.
130. JANINA, L., LIDIA, T., ADAM, V. Impact of Physicochemical Properties of Pharmaceutical Substances on Dosage Form Performance. In: *Pharmaceutics.* 2022. ISSN 1999-4923.
131. JENSEN, R. G., JOHANSEN, H. K., BJARNSHOLT, T., EICKHARDT-SØRENSEN, S. R., HOMØE, P. Recurrent otorrhea in chronic suppurative otitis media: is biofilm the missing link? In: *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*, 2017, nr. 274(7), pp. 2741–2747. doi:10.1007/s00405-017-4586-8 .
132. JEYAKUMAR, A., FRANCIS, D. et al. Treatment of idiopathic sudden sensorineural hearing loss. In: *Acta Otolaryngol.* 2006, nr.126(7), pp. 708-713.
133. JIN, Y., LI, S., YU, Q., LIU, D. Aplicarea celulelor stem în regenerare medicament. In: *MedComm.* 2023, nr. 4, pp. 291. <https://doi.org/10.1002/mco2.291>.
134. JING. R., YANG, W., XIAO, M., ș.a. Species identification and antifungal susceptibility testing of *Aspergillus* strains isolated from patients with otomycosis in northern China. In: *Journal of Microbiology, Immunology and Infection.* 2022, nr. 55 (2), pp. 282-290. <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2021.03.011>.
135. KABAL'NOVA, N., GRABOVSKIY, A., ANDRIAYSHINA, M. The Impact of 5-Substituted Uracil Derivatives on Immortalized Embryo Lung Cells In: *Letters in Drug Design & Discovery.* 2017, vol. 14, nr. 12, pp. 1409-1414. <https://doi.org/10.2174/1570180814666170502171640> .
136. KALINEC, G., LOMBERK, G., URRUTIA, R., KALINEC, F. Resolution of Cochlear Inflammation: Novel Target for Preventing or Ameliorating Drug-, Noise- and Agerelated Hearing Loss. In: *Front Cell Neurosci.* 2017, nr. 11, pp. 192. doi: 10.3389/fncel.2017.00192.
137. KALYANA, K., RAMA, K., RHODA, S. et. al. Diagnosis and treatment of otitis media. In: *Am Fam Physician.* 2007, nr. 76(11), pp. 1650-1658.
138. KAMALI, H., DAIE, R., HASHEMI, A., ș.a. Investigation of Etiologic Agents and Clinical Presentations of Otomycosis at a Tertiary Referral Center in Tehran, Iran. In: *Iranian Journal of Public Health.* 2019, pp. 331-337. PMID: [31205888](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31205888/).
139. KANIG, L., LACHMAN, L., LIEBERMAN, A. The Theory and Practice of Industrial Pharmacy. In: *Philadelphia: Lea & Febiger.* 1986. ISBN 0-8121-0977-5.
140. KANWAL, U., MUKHTAR, S., WAHEED, M., MEHREEN, A., ABBAS, N., SHAMIM,

- R., HUSSAIN, K., RASOOL, F., HUSSAIN, A., BUKHARI, NI. Fixed Dose Single Tablet Formulation with Differential Release of Amlodipine Besylate and Simvastatin and Its Pharmacokinetic Profile: QbD and Risk Assessment Approach. In: *Drug Des Devel Ther.* 2021, vol. 15, pp. 2193-2210. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S240506>.
141. KAPENDRA, S., MOHAMMAD, S., ANEES, A., SHIKHA, S. Establishment of inherent stability on piracetam by UPLC/HPLC and development of a validated stability-indicating method. In: *Arabian Journal of Chemistry.* 2017, vol.10, nr.1, pp. 576-582, ISSN 1878-5352. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2012.11.003>.
  142. KASSAB, N.M., SINGH, A.K., KEDOR-HACKMAM, E.R.M., SANTORO, M. Quantitative determination of ciprofloxacin and norfloxacin in pharmaceutical preparations by high performance liquid chromatography. In: *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas.* 2005, nr. 41(4), pp. 507-13.
  143. KHAIRKAR, M., DESHMUKH, P., MAITY, H., DEOTALE, V. Chronic Suppurative Otitis Media: A Comprehensive Review of Epidemiology, Pathogenesis, Microbiology, and Complications. In: *Cureus.* 2023, nr. 15(8). PMID: 37727177. doi: 10.7759/cureus.43729.
  144. KHALIKOVA, M., JIREŠ, J., HORÁČEK, O., DOUŠA, M., KUČERA, R., NOVÁKOVÁ, L. What is the role of current mass spectrometry in pharmaceutical analysis? In: *Mass Spectrom Rev.* 2023, pp.1-50. PMID: 37503656. doi: 10.1002/mas.21858
  145. KHAN, A., JAIN, S. Antifungal Activity of Essential Oils against Fungi causing Otomycosis. In: *Bull. Env. Pharmacol. Life Sci.* 2021, nr. 10(8), pp.149-152.
  146. KHAN, F., MUHAMMAD, R., REHMAN F., ş.a. Efficacy of topical clotrimazole in treatment of otomycosis. In: *J Ayub Med Coll Abbottabad.* 2013, nr. 25 (1-2), pp. 78-80. PMID: 25098061.
  147. KHAN, GJ., KHAN, RA., MAJEED, I., SIDDIQUI, FA., KHA, S. Ciprofloxacin; the frequent use in poultry and its consequences on human health. In: *Professional Med J.* 2015, nr. 22(1), pp.1-5.
  148. KIAKOJORI, K., JAMNANI, N., KJAFRI, A., ş.a. Assessment of Response to Treatment in Patients with Otomycosis. In: *Iranina Journal of Otorhinolarngology.* 2018, nr. 30 (96), pp. 41-47, PMID: 29387663.
  149. KIAKOJURI, K., ARMAKI, MT., RAJABNIA, R., POURNAJAF, A., KARAMI, M., KHADEMIAN, A., OMRAN, SM. Outer Ear Infections in Iran: A Review. In: *Open Access Maced J Med Sci.* 2019, nr. 7(7), pp. 1233-1240. PMID: 31049113. PMCID: PMC6490499. doi: 10.3889/oamjms.2019.176.
  150. KIERSTAN, E., BEEZER, E., MITCHELL, C., HADGRAFT, J., RAGHAVAN, L., DAVIS, F. UV-spectrophotometry study of membrane transport processes with a novel diffusion cell. In: *International Journal Pharmaceutics.* 2001, vol. 229, nr 1(2), pp. 87-94. [https://doi.org/10.1016/S0378-5173\(01\)00826-2](https://doi.org/10.1016/S0378-5173(01)00826-2).
  151. KIM, J.J., KIM, Y.S., KUMAR, V. Heavy metal toxicity: An update of chelating therapeutic strategies. In: *J Trace Elem Med Biol.* 2019, nr. 54, pp. 226-231. PMID: 31109617. doi: 10.1016/j.jtemb.2019.05.003.
  152. KIRAN, K., VENKATA, N., NAGOJI, K., Extractive Spectrophotometric Determination of Nicergoline Through Ion-pair Complexation Reaction. In: *Orient J Chem.* 2013, nr. 29(1), pp. 263-269. ISSN: 0970-020 X.
  153. KROL, G., BECK, G., BENHAM, T. HPLC analysis of ciprofloxacin and ciprofloxacin metabolites in body fluids. In: *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis.* 1995,

nr. 14(1-2), pp. 181-90.

- 154.KRYUKOV, AI., KUNEL'SKAYA, NL., KUNEL'SKAYA, VY., IVOILOV, AY., TUROVSKIY, AB., SHADRIN, GB., MACHULIN, AI. Otoromycosis: the modern view of etiology and management. In: *Vestn Otorinolaringol.* 2018, nr. 83(1), pp. 48-51. PMID: 29488497. doi: 10.17116/otorino201883148-51.
- 155.KUMAR, H., SETH, S. Bacterial and fungal study of 100 cases of chronic suppurative otitis media. In: *J Clin Diagn Res.* 2012, nr. 1(5), pp. 1224–1227.
- 156.KUMAR, M., SHARMA, A., MAHMOOD, S., THAKUR, A., MIRZA, M., BHATIA, A. Franz diffusion cell and its implication in skin permeation studies. In: *Journal of Dispersion Science and Technology.* 2023, pp. 1-14. doi: 10.1080/01932691.2023.2188923.
- 157.KURT, M. Analytical Methods Needed for Combination Pharmaceutical/Medical Devices. In: *NSF International.* 2016, LHS-612-0316.
- 158.KUSELMAN, I., SCHUMACHER, I., PENNECHI, F. Long term stability study of drug products and out-of-specification test results. In: *General Paper.* 2011, nr. 16, pp. 615-622. DOI: [10.1007/s00769-011-0813-y](https://doi.org/10.1007/s00769-011-0813-y).
- 159.KYU, CK., CHULUNG, L. Analysis of Fixed-Dose Combination Products Approved by the US Food and Drug Administration, 2010-2015: Implications for Designing a Regulatory Shortcut to New Drug Application. In: *Therapeutic Innovation & Regulatory Science.* 2016, pp. 1-7. DOI: 10.1177/2168479016663263
- 160.LEE, A., TYSOME, JR., SAEED, SR. Tratamente topice cu azoli pentru otomicoză. În: *Baza de date Cochrane de revizuirii sistematice.* 2021, nr. 5. doi:10.1002/14651858.cd009289.pub
- 161.LEUCUȚA, SE. *Tehnologie farmaceutica industrială.* Cluj-Napoca: Editura Dacia; 2001. 561 p.
- 162.LEUCUȚĂ, S.E., TOMUȚĂ, I. *Planuri experimentale și optimizarea formulării medicamentelor.* In: *Risoprint.* 2011. ISBN 978-973-53-0630-4.
- 163.LIU, F., HAN, B., ZHOU, X., HUANG, S., HUANG, J. Research progress on the treatment and nursing of sensorineural hearing loss. In: *Front. Neurosci.* 2023, nr. 17 doi: 10.3389/fnins.2023.1199946.
- 164.LUNGU, IA., MOLDOVAN, OL., BIRIȘ, V., RUSU A. Fluoroquinolones Hybrid Molecules as Promising Antibacterial Agents in the Fight against Antibacterial Resistance. In: *Pharmaceutics.* 2022 nr. 14(8), pp. 1749. PMID: 36015376. PMCID: PMC9414178.doi: 10.3390/pharmaceutics14081749.
- 165.LUPAȘCU, L. Activitățile antioxidante și antimicrobiene ale extractelor intacte și oxidate izolate din ceai verde comercial. În: *Buletinul AȘM. Științele vieții.* 2019, nr. 2(338). pp. 144-151. ISSN 1857-064X.
- 166.LUPU, R., SPÎNU, C. Determinarea activității antioxidante a extractului uscat de păducel. *Revista Farmaceutică a Moldovei.* 2017, nr.1-2, pp. 35. ISSN 1812-5077.
- 167.MAGDALENA, J., SZYMON, S., JUDYTA, C. The Development of Innovative Dosage Forms of the Fixed-Dose Combination of Active Pharmaceutical Ingredients In: *Pharmaceutics.* 2022, nr. 14(4), pp. 834. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14040834>.
- 168.MAHAJAN, T., DASS, A., GUPTA, N., CHANDER, J., SAINI, V., POL, SA. Bacteriological Profile in Attico-antral type of Chronic Suppurative Otitis Media. In: *Indian J Otolaryngol Head Neck Surg.* 2019, nr.71(2), pp. 1412-1421. PMID: 31750187. PMCID:

PMC6841772. doi: 10.1007/s12070-018-1486-1.

169. MAHDIANI, S., LASMININGRUM, L., ANUGRAH, D. Management evaluation of patients with chronic suppurative otitis media: A retrospective study. In: *Ann Med Surg (Lond)*. 2021, nr. 67. PMID: 34188909. PMCID: PMC8219642. doi: 10.1016/j.amsu.2021.102492.
170. MALIK, SM., KHALED, ME., RAWAF, A., EYMAN, ME., MONA, T. Synthesis, Antimicrobial, and Anticancer Activities of Novel Nitrofurans Derivatives In: *Journal of Chemistry Volume*. 2023, pp. 23. <https://doi.org/10.1155/2023/1481595>.
171. MALLIKARJUN, PN., KUMARI, P., KUMAR, SM., SOWMYA., G. An overview on quality by design in pharmaceutical product development. In: *Int J Pharm Sci & Res*, 2022, nr. 13(6), pp. 2283-93. doi: 10.13040/IJPSR.0975-8232.13(6).2283-93.
172. MANIUC, M., VALICA, V., PARIU, S., UNCU, L. et al. Medicinal preparation for treatment of otitis. In: *Katalog 43 Hrvatski Salon Inovacija INOVA – BUDI UZOR*. Zagreb, Hrvatska, 2018, pp. 190-191.
173. MANIUC, M., VALICA, V., PARIU, S., UNCU, L. et al. The development of new combination drug as ear drops pharmaceutical form. În: *Volum rezumate Conferința Zilele Spitalului Clinic de Recuperare „Update in reabilitare”*. Ediția a XIII-a. Iași, România, 2015, p. 24.
174. MARC, W., HARROLD, R. Basic Concepts in Medicinal Chemistry, 3rd Edition. 2022, 544 p. ISBN: 978-1-58528-694-2.
175. MARTENA, V., CENSI, R., HOTI, E., MALAJ, L., MARTINO, P. D. Physicochemical characterization of nicergoline and cabergoline in its amorphous state. In: *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*. 2011, nr. 108(1), pp. 323–332. DOI 10.1007/s10973-011-1954-2.
176. MASOOM, RS., ZEID, A., NAFISUR, R. Analytical techniques in pharmaceutical analysis: A review In: *Arabian Journal of Chemistry*. 2017, nr. 10, pp. 1409–1421.
177. MASTER, A., WILKINSON, E., WAGNER, R. Management of Chronic Suppurative Otitis Media and Otosclerosis in Developing Countries. In: *Otolaryngologic Clinics of North America*. 2018, nr. 51(3), 5pp. 93–605. doi:10.1016/j.otc.2018.01.017
178. MAZUR, E., GANDACOV, V., UNCU, L. Stabilitatea unei forme farmaceutice ototopice combinate în condiții de degradare accelerate. In: *Culegere de rezumate, Conferința științifică anuală „Cercetare în biomedicină și sănătate: calitate, excelență și performanță”*. *Moldovan Journal of Health Sciences*. p. 655. ISSN 2345-1467. [https://conferinta.usmf.md/wp-content/uploads/Culegerea-Rezumate-MJHS\\_10\\_3\\_2023\\_anexa1.pdf](https://conferinta.usmf.md/wp-content/uploads/Culegerea-Rezumate-MJHS_10_3_2023_anexa1.pdf)
179. MAZUR, E., GANDACOV, V., VALICA, V., UNCU, L. Evaluation of some technological parameters for active pharmaceutical ingredient and excipients in the preformulation process of combined powder In: *Abstract book. The National Section from the Republic of Moldova of the Balkan Medical Union*. 2023, p. 270. ISSN 1584-9244. ISSN-L 1584-924. ISSN 2558-815X. <https://chimiefarmaceutica.usmf.md/ro/chimie-farmaceutica-cercetare/publicatii>.
180. MAZUR, E., SCHMID, M., UNCU, L. Compatibility determination of potassium orotate with spironolactone by high-performance liquid chromatography. In: *Moldovan Medical Journal*. 2020, nr. 63(4), pp. 35-42. Disponibil: DOI: [10.5281/zenodo.4016810](https://doi.org/10.5281/zenodo.4016810).
181. MAZUR, E., VALICA, V., PARIU, S., GASPAR, A., UNCU, L. Compatibility studies of

- active pharmaceutical ingredients in combined formulation through FT-IR analysis. In: *Book of abstracts, the 19<sup>th</sup> International Symposium and Summer School on Bioanalysis*. Suior, Romania, 2019, pp. 92-93. ISBN 978-973-0-29898-7.
182. MĂTĂȘARI, M., PODGORNÎI, A., VALICA, V., MACAEV, F., UNCU, L. Analiza spectrofotometrică a soluției etanolice de isoconazol nitrat. In: *Materialele conferinței științifice consacrate jubileului de 50 de ani de la fondarea Facultății de Farmacie a IP USMF „Nicolae Testemițanu” și 80 de ani de la nașterea Patriarhului farmaciei moldave Vasile Procopișin. Sup., Revista Farmaceutică a Moldovei*. Chișinău, 2014, nr. 3-4, p. 60. ISSN 1812-5077. [https://ibn.idsi.md/vizualizare\\_articol/41666](https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/41666)
183. MENNA, ED., AHMED, A., YASMINE, A., YOSHIHIRO, S., TSUTOMU, M. A review article on Ciprofloxacin determination with various analytical techniques. In: *Rec Pharm Biomed Sci*. 2021, nr. 5 (1), pp. 28-32.
184. MISHRA, P., SACHDEVA, S., KAUSHIK, M., AGRAWAL, D. Otomycosis treatment: Topical Drops versus Cream – A prospective randomized study. In: *Arch Otolaryngol Rhinol*. 2017, nr. 3(3) pp. 106-108. DOI: <http://doi.org/10.17352/2455-1759.000059>.
185. MISHRA, V., THAKUR, S., PATIL, A., SHUKLA, A. Quality by design (QbD) approaches in current pharmaceutical set-up. In: *Expert Opin Drug Deliv*. 2018, nr. 15(8), pp. 737-758. PMID: 30044646. doi: 10.1080/17425247.2018.1504768.
186. MITITELU, M., HÎNCU, L. Formularea unor unguente cu clorhidrat de ciprofloxacină 2%. In: *Craiova Medicală*. 2007, vol. 9, nr.1, pp. 56-59. ISSN 1454-6876.
187. MITTAL, R., LISI C., GERRING R. et al. Current concepts in the pathogenesis and treatment of chronic suppurative otitis media. In: *Journal of Medical Microbiology*. 2015, nr. 64(10), p.1103-1109. ISSN: 1473-5644.
188. MOHAMED, R., MOFATTE, Z., MASOUD, Y., MOHAMED, H. Comparison of the recovery rate of otomycosis using betadine and clotrimazole topical treatment. In: *Brazilian Journal of Otorhinolaryngology*, 2018, vol. 84, nr. 4, pp. 404-409. <https://doi.org/10.1016/j.bjorl.2017.04.004>.
189. MORAR, A., CAZACU, M., GANDACOV, V., MAZUR, E., UNCU, L. Stabilitatea soluției în determinarea spectrofotometrică a picăturilor auriculare antimicotice combinate. In: *Moldovan Journal of Health Sciences* 29(3)/2022 ANEXA 1, Culegere de rezumate, Conferința științifică anuală „Cercetare în biomedicine și sănătate: calitate, excelență și performanță”, p. 482. ISSN 2345-1467. Disponibil: [https://ibn.idsi.md/sites/default/files/imag\\_file/482\\_0.pdf](https://ibn.idsi.md/sites/default/files/imag_file/482_0.pdf)
190. MORAR, A., CAZACU, M., MAZUR, E., EVTODIENCO, V., UNCU, L. Stabilitatea econazolului la influența factorilor de stres. In: *Materialele Conferinței științifico-practice cu participare internațională “Sistemul de asigurare a calității medicamentului – probleme și soluții”*, Revista Farmaceutică a Moldovei, nr. 4, 2021, pp.38-39. ISSN 1812 – 5077. Disponibil: [https://ibn.idsi.md/vizualizare\\_articol/142121](https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/142121)
191. MORGENSTERN, C., LASKAWI, R., JUHN, SK. The effect of alpha receptor-blocking agents on inner ear function. In: *Arch Otorhinolaryngol*.1982, nr. 234(3), pp. 313-20. PMID: 6287981. doi: 10.1007/BF00464336.
192. MURPHY-LAVOIE, H., PIPER, S., MOON, RE. Hyperbaric oxygen therapy for idiopathic sudden sensorineural hearing loss. In: *Undersea and Hyperbaric Medical Society*, 2012, nr. 39(3), pp. 777-92.
193. National registers of authorised medicines. [citat 01.09.2023].Disponibil:

194. NAZHAND, A., LUCARINI, M., DURAZZO, A., ZACCARDELLI, M., CRISTARELLA, S., SOUTO, S.B. SILVA, A.M., SEVERINO, P., SOUTO, E.B., SANTINI, A. Hawthorn (*Crataegus* spp.): An Updated Overview on Its Beneficial Properties. In: *Forests*. 2020, nr. 11, pp. 564. <https://doi.org/10.3390/f11050564>.
195. NEGREȘ, S., ZANFIRESCU, A., IONICĂ, F., MOROȘAN, E., VELESCU, B., ȘEREMET, O., ZBĂRCEA, C., ȘTEFĂNESCU, E., MILITARU, M., ARSENE, A., MARGINĂ, D., UNCU, L., SCUTARI, C., CHIRIȚĂ, C. Pharmacotoxicological screening on new derivatives of beta-phenylethylamine, potential agonists of beta3- adrenergic receptors. In: *Romanian Journal of Morphology & Embryology*. 2016, vol. 57, nr. 3, pp. 969-978. ISSN: 1220-0522. ISSN: 2066-8279. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28002512/>.
196. NEMATI, S., GERAMI, H., FAGHIH HABIBI, A., KAZEMNEJAD, E., SHABANI, N., AGHSAGHLOO, V., MONTAZERI, S. Sertaconazole versus Clotrimazole and Miconazole Creams in the Treatment of Ootomycosis: A Placebo-Controlled Clinical Trial. In: *Iran. J. Otorhinolaryngol*. 2022, nr. 34, pp. 27-34.
197. NEWSTED, D., ROSEN, E., et al. Approach to hearing loss. In: *Canadian Family Physician November*. 2020, nr. 66 (11), pp. 803-809.
198. NICOLAI, E., PARI, S., UNCU, L., RUSNAC, L., VALICA, V. Perspectivele utilizării picăturilor auriculare noi. In: *Materialele Conferinței Științifice Internaționale a doctoranzilor „Tendințe contemporane ale dezvoltării științei: viziuni ale tinerilor cercetători”*. Chișinău, Republica Moldova, 2014, p. 25. ISBN 978-9975-4257-2-8.
199. NICOLAI, E., PARI, S., UNGUREANU, A., MANIUC, M., VALICA, V., UNCU, L. Evaluarea toxicității acute a unui nou produs medicamentos combinat pentru tratamentul afecțiunilor inflamatorii ale urechii. In: *Revista Medico-Chirurgicală a Societății de Medici și Naturaliști din Iași*. 2019, vol. 123, nr. 2, supl.1, pp. 230-239. ISSN 0048-7848
200. NICOLAI, E., PARI, S., VALICA, V., UNCU, L. Evaluarea conținutului de impurități de etilendiaminderivat de ciprofloxacina în studiul stabilității picăturilor auriculare combinate. În: *Volum de rezumate. Conferința Națională de Farmacie Clinică “Provocări ale farmacoterapiei contemporane”*. Ediția a II-a. București, România, 2017, pp. 195-198. ISBN 978-973-0-24609-4.
201. NICOLAI, E., PARI, S., VÎSLOUH, O., VALICA, V., UNCU, L. Aspecte de elaborare a unui produs medicamentos combinat nou pentru tratamentul afecțiunilor inflamatorii ale urechii. În: *Simpozionul Național “Medicamentul de la idee la clinică”, sub egida Zilele Medicamentului: 10-12 octombrie 2019*. Ediția a XXVII-a. Iași, România, 2019, pp. 104-106. ISSN-L 1843-1038.
202. NICOLAI, E., SMOCVINA, O., COJOCARU, D., VÎSLOUH, O., VALICA, V., PARI, S., UNCU, L. Evaluarea pieței farmaceutice autohtone și internaționale a medicamentelor cu conținut de ciprofloxacina, loratadină și dexametazonă utilizate în tratamentul otitei medii. În: *Materialele conferinței științifice cu participare internațională “Farmacie etică: Istorie, realități și perspective”*. Chișinău, 2018, pp. 85-89. ISBN 978-99-75-3159-5-1. [https://ibn.idsi.md/vizualizare\\_articol/124790](https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/124790).
203. NICOLAI, E., UNCU, L. et al. Determination of Ciprofloxacin in multicomponent mixture by HPLC method. In: *Book of abstracts, the 16th CEEPUS Symposium and Summer School on Bioanalysis*. Warsaw, Poland, 2016, pp. 75.

204. NICOLAI, E., VISLOUH, O., VALICA, V., PARII, S., UNCU, L. Stability studies of combined ear drops for the treatment of otitis. In: *Moldovan Medical Journal*. September 2020, nr. 63(3), pp. 43-50. Disponibil: DOI: [10.5281/zenodo.3958557](https://doi.org/10.5281/zenodo.3958557).
205. NIZHENKOVSK, I., GORCHAKOVA, N., ZAYCHENKO, G. et al. Uracil as the basis for medication creation. In: *Current Topics in Pharmacology*. 2018, nr.2, p. 19-26. ISSN: 09724559.
206. Nomenclatorul de stat. [citată 21.09.2023]. Disponibil: [https://amdm.gov.md/ro/page/nomenclatorul de stat amed](https://amdm.gov.md/ro/page/nomenclatorul-de-stat-amed)
207. Novel Drug Approvals for 2024. [citată 28.04.2023]. Disponibil: <https://www.fda.gov/drugs/new-drugs-fda-cders-new-molecular-entities-and-new-therapeutic-biological-products/novel-drug-approvals-2024>.
208. NURU, N., et al. Antibacterial Properties of Ocimum Spp. (Ocimum Basilicum L. and Ocimum Basilicum Var. Purpurascens) Against Selected Bacteria. In: *East African Scholars J Agri Life Sci*. 2021, nr. 4(10), pp. 194-200.
209. NYARKO, S. Quality by Design (QbD) Approach for Formulation Development and Evaluation of Fixed-Dose Combination Tablets: A Comprehensive Review. In: *RRJ Pharm Pharm Sci*. ISSN: 2320-1215. Disponibil: <https://www.rroj.com/peer-reviewed/quality-by-design-qbd-approach-for-formulation-development-and-evaluation-of-fixeddose-combination-tablets-a-comprehensive-review-93114.html>.
210. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. ISSN: 20745788. <https://doi.org/10.1787/20745788>. [citată 23.09.2023]. Disponibil: [https://www.oecd-ilibrary.org/environment/oecd-guidelines-for-the-testing-of-chemicals-section-4-health-effects\\_20745788](https://www.oecd-ilibrary.org/environment/oecd-guidelines-for-the-testing-of-chemicals-section-4-health-effects_20745788)
211. OHINDOVSCI, A., CICHNA-MARKL, M., COJOCARU-TOMA, M., CALALB, T., CIOBANU, N., FURSENCO, C., CIOBANU, C., BENEĂ, A., UNCU, L. Qualitative and quantitative determination of proteins in extracts of some medicinal plants. In: *Mold J Health Sci*. 2023, nr. 10(1), pp. 58-64. ISSN: 2345-1467. DOI: <https://doi.org/10.52645/MJHS.2023.1.09>.
212. OHINDOVSCI, A., UNCU, L. Evaluarea pieței farmaceutice autohtone a preparatelor combinate. În: *Culegere de rezumate, Congresul consacrat aniversării a 75-a de la fondarea USMfF „Nicolae Testemițanu”*. 2020, p. 674.
213. OLE, J., YVONNE, G., ESBEN, J., MERETE, S., HARRIE, C.M. Medicines combinations options and regulatory hurdles. In: *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2013, vol. 49, nr. 4, pp. 659-663. ISSN 0928-0987. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2013.04.028>.
214. ONIGA, S., ARANICIU, C., MARC, G., UNCU, L., PALAGE, M., ONIGA, O. Synthesis, molecular docking studies and antifungal activity evaluation of new thiazolyl-methylen-1,3,4-oxadiazolines as potential lanosterol 14 $\alpha$ -demethylase inhibitors. In: *Revista de chimie*. 2019, vol. 70, nr. 10, pp. 3522-3526. ISSN: 0034-7752. ISSN: 2668-8212. <https://doi.org/10.37358/RC.19.10.7589>.
215. ONIGA, S., PALAGE, M., ARANICIU, C., MARC, G., ONIGA, O., VLASE, L., PRISACARI, V., VALICA, V., CURLAT, S., UNCU, L. Design, synthesis, molecular docking, and antibacterial activity evaluation of some novel norfloxacin analogues. In: *Farmacia*. 2018, vol. 66, nr. 6, pp. 1048-1058. ISSN: 0014-8237 ISSN: 2065-0019.
216. 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.



217. Otita medie cronică supurată la adult. Protocol clinic național PCN – 31, Chișinău, 2016. Disponibil la : <https://msmps.gov.md/wp-content/uploads/2020/07/15328-omcs.pdf>. [citat 29.04.2023].
218. PAL, Y., DEB, P. K., BANDOPADHYAY, S., BANDYOPADHYAY, N., TEKADE, R. K. Role of Physicochemical Parameters on Drug Absorption and Their Implications in Pharmaceutical Product Development. In: *Dosage Form Design Considerations*. 2018, nr. 85–116. doi:10.1016.
219. PAŁASZ, A., CIEŻ, D. In search of uracil derivatives as bioactive agents. Uracils and fused uracils: Synthesis, biological activity and applications. In: *Eur J Med Chem*. 2015 nr. 97, pp. PMID: 25306174. doi: 10.1016/j.ejmech.2014.10.008.
220. PARII, S. Eficientizarea diagnosticului și farmacoterapiei afecțiunilor analizatorului auditiv. Teză de doctor habilitat. Chișinău, 2021. 305 pp. C.Z.U.: 616.28-008.1-07-085.2(043.2).
221. PARII, S. Surditatea și tratamentul medicamentos. Chișinău, 2018. Centrul EditorialPoligrafic Medicina. 136 p. ISBN 978-9975-82-091-2.
222. PARII, S., ABABII, I., RUDIC, V., VALICA, V., MANIUC, M., GONCIAR, V., CUROCICHIN, G., UNCU, L., BUZA, A., NICOLAI, E. Improvement of diagnosis and pharmacotherapy of the ear disorders. In: *Catalogul oficial al Expoziției Internaționale Specializate EUROINVENT, editia a 15-a*. Iasi, Romania, 2023, p. 167-168. [https://www.euroinvent.org/cat/EUROINVENT\\_2023.pdf](https://www.euroinvent.org/cat/EUROINVENT_2023.pdf).
223. PARII, S., GONCIAR, V., CUROCICHIN, G., UNCU, L., BUZA, A., NICOLAI, E., VALICA, V. Improvement of diagnosis and pharmacotherapy of the ear disorders. In: *Expoziția Internațională Specializată INVENTICA 2020*. Iași, România, 2020, p. 363. ISSN:1844-7880.
224. PARII, S., MANIUC, M., VALICA, V., GONCIAR, V., CUROCICHIN, G., UNCU, L., BUZA, A., NICOLAI, E. Eficientizarea diagnosticului și farmacoterapiei afecțiunilor analizatorului auditiv. In: *Catalogul Oficial al Salonului Internațional de Invenții și Inovații „TRAIAN VUIA”* Timișoara, România, ediția a VII-a, 2022. p. 55-56. ISBN 978-606-35-0496-9.
225. PARII, S., RUDIC, V., MANIUC, M., VALICA, V., UNCU, L. et al. New methods for audiology diagnosis, predicting the hearing instrument care and pharmacological treatment in ear disorders. In: *Catalogul Oficial al Expoziției Internaționale Specializate Euroinvent*. Ediția a VIII-a. Iași, România, 2016, p. 181. ISBN: 978-606-775-212-0.
226. PARII, S., RUDIC, V., MANIUC, M., VALICA, V., UNCU, L. ș.a. Noi metode de diagnostic audiologic, pronostic de eficacitate a protezării auditive și tratament medicamentos în afecțiunile ORL. In: *Expoziția Internațională Specializată Pro Invent*. Ediția a XIV-a. Cluj-Napoca, România, 2016, pp. 199-200. ISBN 978-606-737-048-5.
227. PARII, S., UNCU L. et al. Elaborarea și evaluarea toxicității acute a unui nou produs medicamentos pentru tratamentul otitelor. In: *Revista Medico-Chirurgicală a Societății de Medici și Naturaliști din Iași*. 2016, vol. 120, nr.2, supl. 1, pp. 61-69. ISSN 0048-7848.
228. PARII, S., UNCU, L. et al. Developing and determination of acute toxicity of new drug for treatment of otitis. In: *Volumul de rezumate Conferința Zilele Spitalului Clinic de Recuperare „Prevenția și recuperarea: continuitate sau contradicție”*. Ediția a XIV-a. Iași, România, 2016, p. 47.
229. PARII, S., UNCU, L. et al. Preclinical studies of a new drug combination of ear drops form.

In: *Volumul de rezumate al II-lea Congres National de ORL Pediatrie. Iași, România, 2016*, „*Revista specializata ORL.ro*”. București, România, nr. 31(2), 2016, p. 65. 3.

230. PARII, S., VALICA, V., MACAEV, F., POGREBNOI, S., BOLDESCU, V., STÎNGACI, E., DUCA, G., IVANCIC, A., RUSNAC, L., NICOLAI, E., UNGUREANU, A., UNCU, L., MACAEVA, A. Determinarea toxicității acute a unor noi compuși chimici cu proprietăți antituberculoase. In: *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe Medicale*. 2015, nr. 1(46), pp. 445-451. ISSN: 1857-0011. [https://ibn.idsi.md/vizualizare\\_articol/36298](https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/36298)
231. PASCU, A. *Audiometrie*. Monografie. București. 2000, 74 p.
232. PATEL, H., PARMAR, S., PATEL, B. A comprehensive review on quality by design (QbD) in pharmaceuticals. In: *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. 2013, nr. 21(1), pp.223-236. ISSN 0976 – 044X.
233. PETROVA, I., KATAEV, V., MESCHERYAKOVA, S. The influence of newly-synthesized derivatives of uracil on the formation of reactive oxygen species. In: *Meditinskiy Almanah*. 2013, nr. 3(27), pp.82-83. ISSN: 2499-9954.
234. PETRUȘEVSKA, V., LASIĆ K., MORNAR, A. Compatibility investigation for a new antituberculous fixed dose combination with an adequate drug delivery. In: *Drug Dev Ind Pharm*. 2020, nr.46(8), pp. 1298-1307. PMID: 32597312. doi:10.1080/03639045.2020.1788066.
235. PLECHEVA, D., ALEKHIN, E. Oxymethyluracil stimulates reparative regeneration of skin in rats. In: *Eksp. Klin, Farmakol*. 2004, nr. 5(67), p.63-66. ISSN: 0869-2092.
236. PODGORNÎI, A VALICA, V., MACAEV, F., UNCU, L. Aspecte farmaceutice ale isoconazolului. In: *Anale științifice ale Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”*. *Materialele conferinței anuale „Zilele Universității”*. *Probleme medico-biologice și farmaceutice*. Chișinău, 2013, ediția a XIV-a, vol.1, pp. 392-395. ISSN 1857-1719. [https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare\\_articol/28258](https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare_articol/28258).
237. POGREBNOI, S., CHIRIȚĂ, C., VALICA, V., MACAEV, F., CHIFIRIUC, M.C., KAMERZAN, C., UNCU, L., UNCU, A., NEGREȘ, S., IONICĂ, F. E., NICOLESCU, F., MARANDIUC, I-M, ȘTEFĂNESCU, E. Studies on the antimycobacterial action of a novel compound of the thiadiazole class, 2-(propyl-thio)-5h- [1,3,4]-thiadiazole[2,3-b]-quinazoline-5-one. In: *Farmacia*. 2017, vol. 65, nr. 1, pp. 69-74. ISSN: 0014-8237. ISSN: 2065-0019. <https://farmaciajournal.com/issue-articles/studies-on-the-antimycobacterial-action-of-a-novel-compound-of-the-thiadiazole-class-2-propyl-thio-5h-134-thiadiazole23-b-quinazoline-5-one/>.
238. POGREBNOI, S., RADUL, O., STINGACI, E., LUPASCU, L., VALICA, V., UNCU, L., SMETANSCAIA, A., PETROU, A., ĆIRIĆ, A., GLAMOČLIJA, J., SOKOVIĆ, M., GERONIKAKI, A., MACAEV, F. The synthesis of triazolium salts as antifungal agents: a biological and in silico evaluation. In: *Antibiotics*. 2022, vol. 11, nr.5, pp. 588. ISSN: 2079-6382. DOI: <https://doi.org/10.3390/antibiotics11050588>.
239. POLIDOVA, A.M., Inflammatory diseases of the external ear. In: *Vestn Otorinolaringol*. 2006, nr.3, pp. 63-66.
240. POP, N. Studii de compatibilitate în elaborarea unei forme farmaceutice multicomponent cu utilizare ORL”, coordonator dr., șef de lucrări Lucia Maria Rus. *Repozitoriu UMF „Iuliu Hațieganu”*, Cluj Napoca, 2016, 56 p.
241. POPESCU A.I. Metode necompendiale de evaluare a profilului de dizolvare pentru forme farmaceutice cu eliberare modificată. Teză de doctorat. București, 2016. 45 p.

242. PREETI, S., SAHARAN, R., NARWAL, S., MALIK, R., GAHLOT, V., KHALID, A., NAJMI, A., ZOGHEBI, K., HALAWI, MA., ALBRATTY, M., MOHAN, S. Exploring LIPIDS for their potential to improve bioavailability of lipophilic drugs candidates: A review. In: *Saudi Pharm J.* 2023 nr. 31(12), pp. 101870. PMID: 38053738. PMCID: PMC10694332. doi: 10.1016/j.jsps.2023.101870.
243. PREPARATION OF 0.5 mcfarland TURBIDITY STANDARDS [citat 20.12.2024]. Disponibil: <https://microbiologyclass.net/preparation-of-0-5-mcfarland-turbidity-standards>.
244. PRISACARI, V., BURACIOV, S., UNCU, L. Unguent „Izofural” – preparat antibacterian nou. În: *Anale Științifice ale IP USMF “Nicolae Testemițanu”*. 2010, nr. 11(2), p.12-15. ISSN: 1857-1719.
245. PROTASOVA, I.N., PERYANOVA, O.V. PODGRUSHNAYA., T.S. Acute otitis media in the children: etiology and the problems of antibacterial therapy. In: *Vestn otolaringol.* 2017, pp. 84-89.
246. PULSONI, I., LUBDA, M., AIELLO, M., FEDI, A., MARZAGALLI, M., VON HAGEN, J., SCAGLIONE, S. Comparison Between Franz Diffusion Cell and a novel Micro-physiological System for *in vitro* Penetration Assay Using Different Skin Models. In: *SLAS Technol.* 2022, nr.27(3), pp. 161-171. doi: 10.1016/j.slast.2021.12.006.
247. QUN, X., Advancing USP compendial methods for fixed dose combinations: A case study of metoprolol tartrate and hydrochlorothiazide tablets. In: *Journal of Pharmaceutical Analysis.* 2018, pp. 77–82 <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2018.12.003>.
248. RAVISANKAR, P., SWATHI, V., BABU, P. Current Trends in Performance of Forced Degradation Studies and Stability Indicating Studies of Drugs. In: *Journal of Pharmacy and Biological Sciences.* 2017, nr. 12 (6), pp. 17-36. DOI: 10.9790/3008-1206021736.
249. RE R. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. In: *Free Radical Biology and Medicine*, 1999, vol. 26, nr. 9(10), pp. 1231-1237.
250. REEM, H., OBAYDO, J., AL, Z., AMIR, S., HAYAM, M. Ultraviolet spectrophotometric methods for the determination of the minor component presented in fixed-dose pharmaceutical combinations through the last two decades. In: *Future Journal of Pharmaceutical Sciences.* 2021, nr. 7(44). <https://doi.org/10.1186/s43094-021-00192-9>
251. REN, H., HU, B., JIANG, G. Advancements in prevention and intervention of sensorineural hearing loss. In: *Ther Adv Chronic Dis.* 2022, nr. 13. PMID: 35782345. PMCID: PMC9243368. doi: 10.1177/20406223221104987.
252. ROHIT, S., HOWAL DATTATRAY, B., AUNDHAKAR AMIT, V., NIKAM PRIYAJIT, S. Physico-chemical Properties of Solid Drugs: A Review. In: *Asian J. Pharm. Tech.* 2019, nr. 9(1), pp. 53-59. doi: 10.5958/2231-5713.2019.00010.2
253. ROSARIO, DC., MENDEZ, MD. Chronic Suppurative Otitis. In: *StatPearls.* 2023. PMID: 32119479
254. ROSENFELD, RM., SINGER, M., WASSERMAN, JM., et al. Systematic review of topical antimicrobial therapy for 12 X. LIU ET AL. acute otitis externa. In: *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2006, nr.134, pp. 24–48.
255. 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.

256. RUS, L.M., DONICI, E., VALICA, V., PRISACARI, V., TOMUȚĂ, I., ȘEPELI, D., HEGHEȘ, S.C., IUGA, C.A., UNCU, L. Development, physical-chemical characterization and *in vitro* antibacterial activity evaluation of a fixed-dose combination isohydrofural-methyluracil hydrophilic ointment. In: *Farmacia*. 2019, vol. 67, nr. 5, pp. 857-865. ISSN: 0014-8237. ISSN: 2065-0019 <https://farmaciajournal.com/issue-articles/development-physical-chemical-characterization-and-in-vitro-antibacterial-activity-evaluation-of-a-fixed-dose-combination-isohydrofural-methyluracil-hydrophilic-ointment/>.
257. RUS, L.M., KACSO, I., PARIU, S., VALICA, V., UNCU, L. et al. Compatibility studies for the development of a multicomponent pharmaceutical dosage form for ENT use. In: *Med Pharm Rep*. 2019, nr. 92(6), p. S85. PMC 7010388. Disponibil: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7010338/>
258. RUSU, A., MOGA, I.-M., UNCU, L., HANCU, G. The role of five-membered heterocycles in the molecular structure of antibacterial drugs used in therapy. In: *Pharmaceutics*. 2023, vol. 15, nr. 1, pp. 2554. ISSN: 1999-4923. DOI: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15112554>.
259. SAGARADZE, V.A., BABAEVA, E.Y., KALENIKOVA, E.I. HPLC-UV Method for Determining Flavonoids in Hawthorn Flowers and Leaves. In: *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2017, nr. 51(4), pp. 277–280. doi:10.1007/s11094-017-1597-0.
260. SAHNI, K., SINGH, S., DOGRA, S. NEWER. Topical Treatments in Skin and Nail Dermatophyte Infections. In: *Indian Dermatol Online J*. 2018, nr. 9(3), pp. 149-158. doi: 10.4103/idoj.IDOJ\_281\_17. PMID: 2985633. PMCID: PMC5956860.
261. SALETU, B., GARG, A., SHOEB, A. Safety of nicergoline as an agent for management of cognitive function disorders. In: *Biomed Res Int*. 2014. PMID: 25243157. PMCID: PMC4163411. doi: 10.1155/2014/610103.
262. SANJAY, B., DINESH, S., NEHA, S. Stability testing of pharmaceutical products. In: *Journal of applied pharmaceutical science*. 2022, nr. 2(03), pp. 129-138.
263. SCHERER, R., PEREIRA, J., FIRME, J., LEMOS, M., LEMOS, M. Determination of Ciprofloxacin in Pharmaceutical Formulations Using HPLC Method with UV Detection. In: *Indian J Pharm Sci*. 2014, nr. 76(6), pp. 541-4. PMID: 25593388. PMCID: PMC4293686.
264. SEPIDEH, R., SHOLEH, A., FARZAD, R., SARA, DV., SAEIDEH, G., EMAD, J. Nitrofurans as Potent Antibacterial Agents: A Systematic Review of Literature. In: *International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research*. 2022, nr. 10(2), pp. 126-138. [http://www.ijabbr.com/article\\_251430.html](http://www.ijabbr.com/article_251430.html).
265. SHADMAN, N., HOOSHANG, G., ALI, F., ș.a. Sertaconazole versus Clotrimazole and Miconazole Creams in the Treatment of Otorrhinomycosis: A Placebo-Controlled Clinical Trial. In: *Iranian Journal of Otorhinolaryngology*. 2022, nr. 34 (120), pp. 27-34. doi: [10.22038/IJORL.2021.54805.2872](https://doi.org/10.22038/IJORL.2021.54805.2872).
266. SHAHIDUL, M., ISLAM, Z. New Insights into the Structure and Reactivity of Uracil Derivatives in Different Solvents – A Computational Study. In: *CS Omega* 2020, nr. 5(35), pp. 22449–22458, <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c02943>.
267. SHAVE, S., BOTTI, C., KWONG, K. Congenital Sensorineural Hearing Loss. In: *Pediatr Clin North Am*. 2022, nr. 69(2), pp. 221-234. PMID: 35337535. doi: 10.1016/j.pcl.2021.12.006.
268. SHIMIZU, Y., NTEGE, EH., SUNAMI, H. Current regenerative medicine-based approaches for skin regeneration: A review of literature and a report on clinical applications.

- In: *Japan. Regen Ther.* 2022, nr. 21, pp. 73-80. PMID: 35785041. PMCID: PMC9213559. doi: 10.1016/j.reth.2022.05.008.
269. SIDDIQI, F.A., SHER, N., SHAFI, N., WAFASIAL, A., AHMAD, M., MEHJEBEEN, NASEEM, H. Development of New Method for Simultaneous Analysis of Piracetam and Levetiracetam in Pharmaceuticals and Biological Fluids: Application in Stability Studies. In: *BioMed Research International*. 2014, nr. 1–8. doi:10.1155/2014/758283.
270. SINGH, A., KUMAR, DV. Sudden sensorineural hearing loss - A contemporary review of management issues. In: *J Otol.* 2020, nr. 15(2), pp. 67-73. PMID: 32440269. PMCID: PMC7231990. doi: 10.1016/j.joto.2019.07.001.
271. SINGH, B. Quality by Design (QbD) for Holistic Pharma Excellence and Regulatory Compliance. In: *Pharma Times*. 2014, vol. 46, nr. 08, pp. 26-43.
272. SISAY, M., BUSSA, N., GASHAW. T., MENGISTU. G. Investigating *in vitro* Antibacterial Activities of Medicinal Plants Having Folkloric Repute in Ethiopian Traditional Medicine. In: *J Evid Based Integr Med*. 2019, nr. 24. PMID: 31707813. PMCID: PMC6851602. doi: 10.1177/2515690X19886276.
273. SOARES, L., SILVA, L., PEZZINI, B. Spectrophotometric determination of the total flavonoid content in *Ocimum basilicum* L. (Lamiaceae) leaves. In: *Pharmacognosy Magazine*. 2015, nr. 11(41), pp. 96. doi:10.4103/0973-1296.149721.
274. SREEDHAR, D., SUBRAMANIAN, G., UDUPA N. Combination drugs: Are they rational? In: *Current Science*. 2006, nr. 91(4).
275. STEINMETZ, Karen., EDWARD, S. The basics of preclinical drug development for neurodegenerative disease indications. In: *BMC neurology*. 2019 vol. 9, nr 2. <https://doi.org/10.1186/1471-2377-9-S1-S2>.
276. STINGACI, E., ZVEAGHINTEVA, M., POGREBNOI, S., LUPAȘCU, L., VALICA, V., UNCU, L., SMETANSCAIA, A., DRUMEA, ș.a. New vinyl-1,2,4-triazole derivatives as antimicrobial agents: Synthesis, biological evaluation and molecular docking studies. In: *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2020, vol. 30, nr. 17. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2020.127368>. ISSN 0960-894X.
277. SUNDAR, PS., CHOWDHURY, C., KAMARTHI, S. Evaluation of Human Ear Anatomy and Functionality by Axiomatic Design. In: *Biomimetics (Basel)*. 2021, nr. 6(2), pp.31. PMID: 34069537. PMCID. doi: 10.3390/biomimetics6020031.
278. SVEDSTRÖM, U., VUORELA, H., KOSTIAINEN, R., HUOVINEN, K., LAAKSO, I., HILTUNEN, R. High-performance liquid chromatographic determination of oligomeric procyanidins from dimers up to the hexamer in hawthorn. In: *Journal of Chromatography A*. 2002, nr. 968(1-2), pp. 53–60. doi:10.1016/s0021-9673(02)01000-2 .
279. ȘARAMET, G. Combinatiile fixe de substante active, provocari ale industriei farmaceutice În: *Univers Farmaceutic*. 2015, nr. 3.
280. TALDAEV, A., PANKOV, D.I., TEREKHOV, R.P. ZHEVLAKOVA, A.K. SELIVANOVA, I.A. Modification of the Physicochemical Properties of Active Pharmaceutical Ingredients via Lyophilization. In: *Pharmaceutics* 2023, nr.15, pp. 2607 . <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15112607>.
281. TANNA, RJ., LIN, JW., DE JESUS, O. Sensorineural Hearing Loss. In: *StatPearls*. 2023. PMID: 33351419.

282. THAI, T., SALISBURY, BH., ZITO, PM. Ciprofloxacin. In: *StatPearls*. 2023. PMID: 30571075.
283. THANGARAJU. P., VARTHYA, SB., VENKATESAN, S. Fixed-dose combinations: An essential for rational preparation. In: *Indian J Pharmacol*. 2021, nr. 53(2), pp. 170-172. PMID: 34100402. PMCID: PMC8265415. doi: 10.4103/ijp.IJP\_133\_19.
284. TIHON, I., UNCU, L. Analiza Izohidrafuralului prin spectroscopie de rezonanță magnetică nucleară. In: *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe Medicale*. 2010, nr. 1(24), pp. 119-123. ISSN 1857-0011. [https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare\\_articol/10874](https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare_articol/10874) .
285. TIHON, I., UNCU, L. et al. Elaborarea metodei spectrofotometrice de dozare a Metiferonului. In: *Anale științifice ale Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”*. *Materialele conferinței anuale „Zilele Universității”*. *Probleme medico-biologice și farmaceutice*. Chișinău, 2008, ed. IX-a, vol, 1, pp. 279-282. ISSN 1857-1719. Disponibil: [https://ibn.idsi.md/vizualizare\\_articol/2030](https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/2030)
286. TIHON, I., UNCU, L. et al. Utilizarea cromatografiei pe strat subțire pentru identificarea Metiferonului. In: *Anale științifice ale Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”*. *Materialele conferinței anuale „Zilele Universității”*. *Probleme medico-biologice și farmaceutice*. Chișinău, 2008, ed. IX-a, vol. 1 pp. 282-285. ISSN 1857-1719. Disponibil: [https://ibn.idsi.md/vizualizare\\_articol/204](https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/204).
287. TORNIAINEN, K., TAMMILEHTO, S., ULVI, V. The effect of pH, buffer type and drug concentration on the photodegradation of ciprofloxacin. In: *International Journal of Pharmaceutics*. 1996, nr. 132 (1-2), pp.53-61. [https://doi.org/10.1016/0378-5173\(95\)04332-2](https://doi.org/10.1016/0378-5173(95)04332-2).
288. TOSCANI, S., CORNEVIN, L., BURGOT, G. Weak interactions in clobazam-lactose mixtures examined by differential scanning calorimetry: Comparison with the captopril-lactose system. In: *Elsevier*. 2012, pp. 197-204.
289. TRIPATHI, P., DESHMUKH, P., Sudden Sensorineural Hearing Loss: A Review. In: *Cureus*. 2022 nr. 14(9), pp. 29458. PMID: 36299969. PMCID: PMC9587755. doi: 10.7759/cureus.29458.
290. TUOPING, L., SIYU, F., XIN, H., XIUSHAN, Z., YANMIN, C., ZUOYI, Z., YUE, M., XUAN, ZHANG, Q., SHUNING, Y., SUHONG, L. Biological properties and potential application of hawthorn and its major functional components: A review. In: *Journal of Functional Foods*. 2020, vol. 90, pp. 104988. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2022.104988>.
291. U. S. Food and Drug Administration. FDA-EMA parallel assessment of Quality-By-Design elements of marketing applications. [citat 29.11.2023]. Disponibil: <https://www.fda.gov/drugs/pharmaceutical-quality-resources/final-report-fda-ema-pilot-program-parallel-assessment-quality-design-elements-marketing>
292. UDDÉN, F., FILIPE, M., REIMER, Å., PAUL, M., MATUSCHEK, E., THEGERSTRÖM, J., RIESBECK, K. Aerobic bacteria associated with chronic suppurative otitis media in Angola. *Infectious Diseases of Poverty*. 2018, nr. 7(1). doi:10.1186/s40249-018-0422-7.
293. UNCU L. Utilizarea metodelor instrumentale în cercetarea farmaceutică experimentală. In: *Culegere de rezumate, Conferința științifică anuală „Cercetare în biomedicină și sănătate: calitate, excelență și performanță”*. *Moldovan Journal of Health Sciences*. p. 679. ISSN 2345-1467. [https://conferinta.usmf.md/wp-content/uploads/Culegerea-Rezumate-MJHS\\_10\\_3\\_2023\\_anexa1.pdf](https://conferinta.usmf.md/wp-content/uploads/Culegerea-Rezumate-MJHS_10_3_2023_anexa1.pdf)

294. UNCU, L. Aspecte de elaborare și utilizare a produselor farmaceutice combinate. In: *Revista de Științe ale Sănătății din Moldova*. 2020, nr. 25(3), p. 206-215. ISSN 2345-1467. [https://ibn.idsi.md/vizualizare\\_articol/113606](https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/113606).
295. UNCU, L. CAPCELEA, V., GANDACOV, V., MAZUR, E., DONICI, E., VALICA, V. Determinarea gaz-cromatografică a uleiului volatil de busuioc în picături auriculare combinate. In: *Culegere de rezumate, Conferința științifică anuală „Cercetare în biomedicină și sănătate: calitate, excelență și performanță”*. *Moldovan Journal of Health Sciences*. 2022, nr. 3, ISSN 2345-1467. [https://ibn.idsi.md/vizualizare\\_articol/169560](https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/169560).
296. UNCU, L. CIOBANU, N., CIOBANU, C., PRISACARI, V., VÎSLOU, O. Tehnologia și determinarea disponibilității farmaceutice pentru unguentele cu Izohidrafural. In: *Anale științifice ale Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”*. *Materialele conferinței anuale „Zilele Universității”*. *Probleme medico-biologice și farmaceutice*. Chișinău, 2008, ed. IX-a, vol. 1, pp. 273-279. ISSN 1857-1719. <https://www.researchgate.net/publication/352693343>.
297. UNCU, L. Determination of isohydrofural and methyluracil in ear drops by high performance liquid chromatography. In: *Acta Marisiensis - Seria Medica*. 2023, nr. 69(4). ISSN: 2668-7755. Disponibil: DOI: <https://doi.org/10.2478/amma-2023-0049>;
298. UNCU, L. et al. Determinarea gaz-cromatografică a uleiului volatil de busuioc în picături auriculare combinate. In: *Moldovan Journal of Health Sciences 29(3)/2022 ANEXA 1, Culegere de rezumate, Conferința științifică anuală „Cercetare în biomedicină și sănătate: calitate, excelență și performanță”*, Editura „Lexon-Prim”, p. 480. ISSN 2345-1467. Disponibil: [https://ibn.idsi.md/vizualizare\\_articol/169560](https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/169560).
299. UNCU, L. et al. Development and validation of an assay method for ciprofloxacin hydrochloride determination in combination ear drops. In: *Chemistry Journal of Moldova. General, Industrial and Ecological Chemistry*. 2019, nr. 14(2), pp. 56-61. ISSN 1857-1727. Disponibil: DOI: <http://dx.doi.org/10.19261/cjm.2019.607>.
300. UNCU, L. et al. Elaborarea metodei spectrofotometrice de analiză pentru soluția nazală „Ravirin”. In: *Revista Medico-Chirurgicală a Societății de Medici și Naturaliști din Iași*. 2007, nr. 2, pp. 364-368. ISSN 00487848.
301. UNCU, L. et al. Elaborarea metodelor de dozare pentru Izohidrafural. In: *Anale științifice ale Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”*. *Materialele conferinței anuale „Zilele Universității”*. *Probleme medico-biologice și farmaceutice..* Chișinău, 2007, ed. VIII-a, vol. 2, pp. 216-220. ISSN 1857-1719.
302. UNCU, L. et al. Evaluarea calitativă a principiilor activi în ulei volatil din diferite specii de busuioc. În: *Materialele conferinței științifice cu participare internațională “Farmacie etică: Istorie, realități și perspective”*. Chișinău, 2018, pp. 172-174. ISBN 978-9975-3159-5-1. ISBN 978-99-75-3159-5-1. Disponibil: [https://ibn.idsi.md/vizualizare\\_articol/124816](https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/124816)
303. UNCU, L. et al. Modification of pH in the preformulation of combined ear drops with ciprofloxacin. In: *Book of abstracts, the 18<sup>th</sup> International Symposium and Summer School on Bioanalysis*. Komarno, Slovakia, 2018, p. 73. ISBN 978-80-8122-241-2.
304. UNCU, L. et al. Studiul compatibilității fizico-chimice a econazolului nitrat cu betametazonă dipropionat și a econazolului nitrat cu ciprofloxacină prin metoda HPLC. În: *Volum de rezumate al Congresului Național de Farmacie din România cu participare internațională, Viziune și inovație în practica farmaceutică Orizont 2020*. Ediția a XV-a. Iași, România, 2014, p. 332. ISBN 978-606-544-252-8.

305. UNCU, L. et al. Studiul compatibilității izohidrafuralului și metiluracilului în aceeași formă farmaceutică. In: *Anale științifice ale Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”*. Materialele conferinței anuale „Zilele Universității”. Probleme medico-biologice și farmaceutice. Chișinău, 2010, ed. XI-a, vol. 1, pp. 423-427. ISSN 1857-1719. [https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare\\_articol/2890](https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare_articol/2890)
306. UNCU, L. et al. Studiul stabilității picăturilor auriculare cu conținut de ciprofloxacina 3 mg/ml. In: *Revista Farmaceutică a Moldovei*. 2016, nr. 1-4, pp. 65-67. ISSN 1812-5077. <http://repository.usmf.md/handle/20.500.12710/16360>
307. UNCU, L. et al. Studiul stabilității și determinarea termenului de valabilitate a unguentului «Izofural». In: *Anale științifice ale Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”*. Materialele conferinței anuale „Zilele Universității”. Probleme medico-biologice și farmaceutice. Ediția a XIII-a, volumul 1. Chișinău, 2012, pp. 254-259. ISSN 1857-1719. <http://repository.usmf.md/handle/20.500.12710/4722>
308. UNCU, L. et al. The research of the mixture piracetam-nicergoline using the UV-VIS spectrophotometric method. In: *Abstracts of Communications of the International Conference „ П’ятнадцята наукова конференція “Львівські хімічні читання - 2015”*. Liviv, Ucraina, 2015, pp. 38.
309. UNCU, L. et al. Utilizarea cromatografiei pe strat subțire în analiza soluției nazale „Ravirin”. In: *Anale științifice ale Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”*. Materialele conferinței anuale „Zilele Universității”. Probleme medico-biologice și farmaceutice. Chișinău, 2007, ed. VIII-a, vol. 2, pp. 225-227. ISSN 1857-1719.
310. UNCU, L. et al. Validarea metodei spectrofotometrice de dozare a unor picături auriculare combinate. In: *Materialele Congresului Național de Farmacie, Ed. XVIII-a*, 15-17 septembrie, 2021, Oradea, România. Oradea: Editura Universității din Oradea, 2021, p. 28. I-SBN 978-606-10-2144-4. [https://cnfronline.ro/images/Brosura\\_Congres\\_CNFR\\_2021\\_ISBN.pdf](https://cnfronline.ro/images/Brosura_Congres_CNFR_2021_ISBN.pdf)
311. UNCU, L. GONCEAR, T., VÎSLOUH, O., NICOLAI, E., PARIU, E. Evaluarea calitativă a principiilor activi în ulei volatil din diferite specii de busuioc. În: *Materialele conferinței științifice cu participare internațională “Farmacie etică: Istorie, realități și perspective*. 2018, pp. 172-174. ISBN 978-9975-3159-5-1. ISBN 978-99-75-3159-5-1. [https://ibn.idsi.md/vizualizare\\_articol/124816](https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/124816).
312. UNCU, L. Incompatibilități și interacțiuni *in vitro* la combinarea medicamentelor într-o seringă sau perfuzie. In: *Volum de rezumate, Conferința națională de Farmacie Clinică „Farmacia clinică în secolul XXI”, 19-21 septembrie 2019*. Ediția a III-a. București, România, 2019, pp. 22-26. ISBN 978-973-0-24609-4.
313. UNCU, L. Metoda fotometrică de dozare pe bază de extracție pentru un derivat tiazolinic. In: *Anale științifice ale Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”*. Materialele conferinței anuale „Zilele Universității”. Probleme medico-biologice și farmaceutice. Chișinău, 2000, ed. I, vol.1., pp. 252-256. ISSN 1857-1719.
314. UNCU, L. *Metode instrumentale în cercetarea și analiza medicamentelor*. Monografie. Chișinău: Foxtrot, 2024.- 203 p. ISBN 978-9975-89-300-8.
315. UNCU, L. Particularities and challenges in the development of analytical methods for combined drugs. In: *Abstract book of 21st International Symposium and Summer School on Bioanalysis (21stISSSB)*. Târgu Mureș, Romania, 2023, p.41. ISSN: 2668-7755. ISSN: 2668-7763. [https://actamedicamarisiensis.ro/wpcontent/uploads/2023/07/AMM\\_69\\_S5\\_web.pdf](https://actamedicamarisiensis.ro/wpcontent/uploads/2023/07/AMM_69_S5_web.pdf).
316. UNCU, L. Produse farmaceutice multicomponent în tratamentul otomicozelor. In: *Volum de rezumate. Conferința Națională de Farmacie Clinică “Provocări ale farmacoterapiei*



*contemporane*". Ediția a II-a. București, România, 2017, pp. 116-120. ISBN 978-973-0-24609-4.

317. UNCU, L. The use of HPLC method in analysis of multicomponent drugs. In: *Book of abstracts, the 17<sup>th</sup> International Symposium and Summer School on Bioanalysis. Congress Centre*. Ohrid, Republic of Macedonia, 2017, p. 15.
318. UNCU, L. GONCEAR, T., VÎSLOUH, O., NICOLAI, E., PARII, E. Evaluarea calitativă a principiilor activi în ulei volatil din diferite specii de busuioc. În: *Materialele conferinței științifice cu participare internațională "Farmacie etică: Istorie, realități și perspective*, 2018, pp. 172-174. ISBN 978-9975-3159-5-1. ISBN 978-99-75-3159-5-1. [https://ibn.idsi.md/vizualizare\\_articol/124816](https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/124816).
319. UNCU, L., BOBROV, E., UNCU, A., TIHON, I. Studiul disponibilității farmaceutice a unguentului combinat cu Izohidrafural și Metiluracil. In: *Anale științifice ale Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”*. *Materialele conferinței anuale „Zilele Universității”*. *Probleme medico-biologice și farmaceutice*. Chișinău, 2012, ed. XIII-a, vol. 1, pp. 259-262. ISSN 1857-1719.
320. UNCU, L., BOBROV, E., VÎSLOUH, O., ANTON, M., VALICA, V., TIHON, I. Studiul compatibilității izohidrafuralului și metiluracilului în aceeași formă farmaceutică. In: *Anale științifice ale Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”*. *Materialele conferinței anuale „Zilele Universității”*. *Probleme medico-biologice și farmaceutice*. Chișinău, 2010, ed. XI-a, vol. 1., pp. 423-427. ISSN 1857-1719. [https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare\\_articol/2890](https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare_articol/2890).
321. UNCU, L., CARMAZAN, S., VALICA, V., PODGORNÎI, A., VÎSLOUH, O., DONICI, E. Separarea cromatografică pe strat subțire a izohidrafuralului și metiluracilului în combinație mecanică și picături auriculare. În: *Culegere de rezumate, Congresul consacrat aniversării a 75-a de la fondarea USMF „Nicolae Testemițanu”*, 2020, p. 686. [https://ibn.idsi.md/vizualizare\\_articol/126955](https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/126955).
322. UNCU, L., CIOBANU, N., GHICAVÎI, V. Tehnologia și standardizarea soluției nazale "Ravirin". In: *Anale științifice ale Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”*. *Materialele conferinței anuale „Zilele Universității”*. *Probleme medico-biologice și farmaceutice*. Chișinău, 2007, ed. VIII-a, vol. 2, pp. 247-251. ISSN 1857-1719
323. UNCU, L., CIOBANU, N., VALICA, V., PRISACARI, V., TIHON, I., VISLOUH, O., BURACIOVA, S. Analysis of ointment containing Isohydrafuril. In: *The XIV National Congress of Pharmacy from Romania. Scientific Abstracts*. Tîrgu-Mureș, România, 2010, pp. 27-29. ISSN 2068-3324.
324. UNCU, L., CIOBANU, N., VOLOȘIN, A. Studii de preformulare a unor picături auriculare cu acțiune antimicotică. In: *Materialele conferinței științifice consacrate jubileului de 50 de ani de la fondarea Facultății de Farmacie a IP USMF „Nicolae Testemițanu” și 80 de ani de la nașterea Patriarhului farmaciei moldave Vasile Procopișin. Sup., Revista Farmaceutică a Moldovei*. Chișinău, 2014. nr. 3-4, p. 44. ISSN 1812-5077.
325. UNCU, L., COJOCARU-TOMA, M., PAȘCAN, D., VÎSLOUH, O., SUVORCHINA, O. Dozarea flavonozidelor prin metoda HPLC. In: *Materialele conferinței științifice consacrate jubileului de 50 de ani de la fondarea Facultății de Farmacie a IP USMF „Nicolae Testemițanu” și 80 de ani de la nașterea Patriarhului farmaciei moldave Vasile Procopișin. Sup., Revista Farmaceutică a Moldovei*. Chișinău, 2014, nr. 3-4, p. 54. ISSN 1812-5077. [https://ibn.idsi.md/vizualizare\\_articol/41657](https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/41657).

326. UNCU, L., DONICI, E., VALICA, V., VÎSLOUH, O., GONCIAR, V., PARII, S. Development and validation of an assay method for ciprofloxacin hydrochloride determination in combination ear drops. In: *Chemistry Journal of Moldova. General, Industrial and Ecological Chemistry*. 2019, vol. 14, nr. 2, pp. 56-61. ISSN 1857-1727, ISSN 2345-1688. DOI: <http://dx.doi.org/10.19261/cjm.2019.607>.
327. UNCU, L., EFROS, O. Elaborarea metodelor de analiză pentru unele picături oftalmice. In: *Revista Farmaceutică a Moldovei*. 2004, nr. 1, pp. 28-33. ISSN 1812-5077.
328. UNCU, L., EVTODIENCO, V. et al. Aplicarea difracției cu raze X în cercetarea compatibilității substanțelor active cu excipienții. In: *Revista Farmaceutică a Moldovei*. 2021 vol.47, nr. 3, pp. 23-26. ISSN 1812 – 5077. [https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare\\_articol/142192](https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare_articol/142192).
329. UNCU, L., EVTODIENCO, V., MAZUR, E. Validarea metodei spectrofotometrice pentru dozarea unor capsule combinate. In: *Materialele Conferinței științifice anuale „Cercetarea în biomedicină și sănătate: calitate, excelență și performanță”*. Chișinău: Medicina, 2021, p. 446. ISBN 978-9975-82-223-7. <http://repository.usmf.md/handle/20.500.12710/19279>.
330. UNCU, L., EVTODIENCO, V., MAZUR, E., DONICI, E., VALICA, V. Validation of the spectrophotometric method for the dosing of some combined capsules. In: *Moldovan Medical Journal*. October, 2021, 64(4), 2021. pp. 10-16. ISSN 2537-6373. ISSN 2537-6381. DOI: <https://doi.org/10.52418/moldovan-med-j.64-4.21.02>
331. UNCU, L., GADIRCA, A., PARII, S., VÎSLOUH, O., SUVORCHINA, O. Medicamente combinate utilizate în tratamentul hipoacuziei senzorie neurale. In: *Materialele conferinței științifice consacrate jubileului de 50 de ani de la fondarea Facultății de Farmacie a IP USMF „Nicolae Testemițanu” și 80 de ani de la nașterea Patriarhului farmaciei moldave Vasile Procopișin. Sup., Revista Farmaceutică a Moldovei*. Chișinău, 2014, nr. 3(4), p. 52. ISSN 1812-5077. [https://ibn.idsi.md/vizualizare\\_articol/41654](https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/41654).
332. UNCU, L., GANDACOV, V., MAZUR, E., MORAR, A., CAZACU, M., DONICI, E. Determination of ciprofloxacin hydrochloride and econazole nitrate in combined ear drops by hplc method. In: *Conference materials of the 3rd All-Ukrainian scientific and practical conference with international participation YOUTH PHARMACY SCIENCE*, 2022, p. 86-88.
333. UNCU, L., IURESCO, T., PARII, S., CIOBANU, N. Utilizarea medicamentelor combinate în tratamentul maladiilor otorinolaringologice. În: *Revista Farmaceutică a Moldovei*. 2011, nr. 1-4, pp 32-37. ISSN 1812-5077.
334. UNCU, L., LUPU, R., PARII, S., VALICA, V., MACARI, A., DONICI, E., NEGREȘ, S. Preparate nootrope și vasodilatatoare cerebrale – aspecte de utilizare și premise de combinare. În: *Materialele Conferinței științifice cu participare internațională „De la design-ul medicamentului la calitate și inofensivitate”* 2016, nr. 1-4, p.13. ISSN 1812-5077. [https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare\\_articol/124596](https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare_articol/124596).
335. UNCU, L., MACARI, A., VÎSLOUH, O., SUVORCHINA, O., VALICA, V., MACAEV, F. The research of the mixture piracetam-nicergoline using the UV-VIS spectrophotometric method. In: *Abstracts of Communications of the International Conference „П’ятнадцята наукова конференція “Львівські хімічні читання - 2015”*. Liviv, Ucraina, 2015, p. 38.
336. UNCU, L., MORAR, A., CAZACU, M. Determinarea proprietăților fizico-chimice ale uleiului volatil de busuioc, utilizat pentru prepararea picăturilor auriculare combinate. In: *Materialele Conferinței Științifico-Practice Naționale cu Participare Internațională*

„Actualități și Perspective în Studiul Farmaceutic al Plantelor Medicinale”. 2021, p. 99. ISBN 978-9975-56-909-5. [https://ibn.idsi.md/vizualizare\\_articol/143045](https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/143045).

- 337.UNCU, L., NICOLAI, E., POMANĂ, E., ș.a. Studiul stabilității picăturilor auriculare cu conținut de ciprofloxacina 3 mg/ml. În: *Revista Farmaceutica a Moldovei*. 2016, nr. 1 (4), pp. 65-67.
- 338.UNCU, L., PARIU, S., DONICI, E., POPA, C. The combined drugs used in the treatment of otomycosis. In: *archives of the balcan medical union. The official journal of the balcan medical union, celsius publishing house*. 2013, vol. 48, pp. 107-108. ISSN 0041-6940.
- 339.UNCU, L., STAVER, O., VALICA, V., GURANDA, D., PRISACARI, V. Tehnologie, analiza și standardizarea soluției Izofural 0,05%. In: *Anale științifice ale Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”*. *Materialele conferinței anuale „Zilele Universității”*. Probleme medico-biologice și farmaceutice. Chișinău, 2008, ed. IX-a, vol. 1, pp. 270-273. ISSN 1857-1719. <http://repository.usmf.md/handle/20.500.12710/1710>.
- 340.UNCU, L., STAVER, O., VALICA, V., VÎSLOUH, O., GROSU, P. Elaborarea metodelor de dozare pentru Izohidrafural. In: *Anale științifice ale Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”*. *Materialele conferinței anuale „Zilele Universității”*. Probleme medico-biologice și farmaceutice. Chișinău, 2007, ed. a VIII-a, vol. 2, pp. 216-220. ISSN 1857-1719.
- 341.UNCU, L., TIHON, I., CAMERZAN, A. Elaborarea metodei spectrofotometrice de dozare a difeturului în capsule operculate. In: *Anale științifice ale Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”*. *Materialele conferinței anuale „Zilele Universității”*. Probleme medico-biologice și farmaceutice. Chișinău, 2006, ed. VII-a, vol. 1. pp. 284-286. ISSN 1857-1719.
- 342.UNCU, L., TRIGUBENCO, I., CIOBANU, N., ANGHELICI, N. Elaborarea tehnologiei și cercetarea unguentelor combinate cu cloramfenicol și metiluracil. In: *Anale științifice ale Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”*. *Materialele conferinței anuale „Zilele Universității”*. Probleme medico-biologice și farmaceutice. Chișinău, 2000, ed. I, vol. 1., pp. 221-224. ISSN 1857-17.
- 343.UNCU, L., VALICA, V. Cercetări de elaborare și analiză a unor forme farmaceutice combinate pentru farmacoterapia maladiilor auriculare. In: *Materialele Congresului Național de Farmacie, Ediția a XIX-a*, Cluj-Napoca, România, 2023, p. 185. ISBN 978-606-10-2144-4.
- 344.UNCU, L., VALICA, V. Elaborarea metodei de neutralizare în mediu anhidru pentru dozarea nitratului de propiconazol. In: *Anale științifice ale Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”*. *Materialele conferinței anuale „Zilele Universității”*. Probleme medico-biologice și farmaceutice. Chișinău, 2004, ed.V-a, vol.1. pp. 278-281. ISSN 1857-1719.
- 345.UNCU, L., VALICA, V., SOLOVIOV, L., STAVER, O. Cercetarea proprietăților fizico-chimice a izohidrofuralului. În: *Materialele Congresului XIII Național de Farmacie*. Cluj-Napoca, România, 2006, p. 97.
- 346.UNCU, L., VALICA, V., CIOBANU, N. Produse farmaceutice multicomponent: aspect de elaborare și utilizare. În: *Volum de rezumate, Conferința națională de farmacie clinică „Farmacia Clinică - noi frontiere”*. România, 2016, ed. I, pp. 17. ISBN 978-973-0-21752-0.
- 347.UNCU, L., VALICA, V., GHICAVÎI, V., CAMERZAN, A. Standardizarea capsulelor cu difetur. In: *Anale științifice ale Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae*

- Testemițanu*". *Probleme medico-biologice și farmaceutice*. Chișinău, 2006, ed. a VII-a, vol.1, pp. 264-266. ISSN 1857-1719.
- 348.UNCU, L., VALICA, V., TIHON, I. Analiza spectrală a izohidrofuralului. În: *Materialele Congresului XIII Național de Farmacie*, Cluj-Napoca, România, 2006, p. 96.
- 349.UNCU, L., VIRLAN, V., MAZUR, E., DONICI, E., VALICA, V. Validarea metodei spectrofotometrice de dozare a unor picături auriculare combinate. In: *Materialele Congresului Național de Farmacie, Ed. XVIII-a*. 2021, p. 28. I-SBN 978-606-10-2144-4. [https://ibn.idsi.md/vizualizare\\_articol/155319](https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/155319)
- 350.URECHE, C., DĂNILĂ, M. Alergia la excipienți medicamentoși. In: *Medichub Media*. 2017. DOI: 10.26416/Aler.1.1.2017.1244.: <https://www.medichub.ro/reviste/alergologia/alergia-la-excipienti-medicamentosi-id-1244-cmsid-99>.
- 351.URSU, C., NICULESCU, A., LEICA, Ș. Otitele externe micotice - aspecte epidemiologice, micologice, clinice și implicațiile lor terapeutice. In: *Fungi & Mycotoxins*. 2008, vol. 2, nr. 1, 146-151, ISSN 1843-0732.
- 352.UZUNOVIĆ, A., VRANIĆ, E., Effect Of Magnesium Stearate Concentration On Dissolution Properties Of Ranitidine Hydrochloride Coated Tablets. In: *Bosnian Journal Of Basic Medical Sciences*. 2007, nr. 7(3), pp. 279-283.
- 353.VIERIU, M., TANTARU, G., APOSTU, M., PANAINTE, A.D., AGOROAEI, L., UNCU, L., BIBIRE, N. A new spectrometric method for quantitative determination through molecular absorption of lisinopril. In: *Revista de chimie*. 2015, vol. 66, supl. no. 10, pp.1563-1566. ISSN: 0034-7752. [https://ibn.idsi.md/vizualizare\\_articol/178998](https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/178998)
- 354.VISWANATHA, B., NASEERUDDIN, K. Fungal infections of the ear in immunocompromised host: a review. In: *Mediterr J Hematol Infect Dis*. 2011, nr. 3(1), pp. 201-1003.: 21625307. PMCID: PMC3103236. doi: 10.4084/MJHID.2011.003.
- 355.VÎRLAN, V., DONICI, E., MAZUR, E., VALICA, V., UNCU, L. Cedarea *in vitro* a ciprofloxacinei și econazolului din picături auriculare combinate. In: *Materialele Conferinței științifice cu participare internațională „Perspective în Cercetarea Produselor Farmaceutice de Origine Sintetică și Naturală”*, *Revista Farmaceutică a Moldovei*.2021, nr. 2(46), pp. 34-35. ISSN 1812 – 5077. [https://ibn.idsi.md/ru/vizualizare\\_articol/142445](https://ibn.idsi.md/ru/vizualizare_articol/142445).
- 356.VÎRLAN, V., MAZUR, E., VALICA, V., ZARA, I., UNCU, L. Aplicarea cromatografiei pe strat subțire pentru identificarea ciprofloxacinei și econazolului în combinație. În: *Culegere de rezumate, Congresul consacrat aniversării a 75-a de la fondarea USMF „Nicolae Testemițanu”*, Chișinău, Republica Moldova, 21-23 octombrie 2020, p. 688. [https://ibn.idsi.md/vizualizare\\_articol/126957](https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/126957).
- 357.VÎSLOUH, O., SUVORCHINA, O., MAZUR, E., UNCU, L. Aplicarea metodei HPLC în cadrul laboratorului analiză, standardizare și controlul medicamentelor a centrului științific în domeniul medicamentelor. In: *Revista Farmaceutică a Moldovei*. 2014, nr. 3-4, pp. 56. ISSN 1812-5077. Disponibil: [https://ibn.idsi.md/vizualizare\\_articol/41661](https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/41661).
- 358.WALEED, B., ALSHUAIB, JM., SONIA, M. Update On Hearing Loss. In: *Rijeka, IntechOpen*. 2015, pp. 198.
- 359.WHO (2003) WHO drug information 17(3):143–227; WHO (2005) WHO expert committee on specifications for pharmaceutical preparations. WHO Tech Rep Ser No. 929. [citat 06.09.2023]. Disponibil: [https://www.who.int/publications/i/item/WHO\\_TRS\\_929](https://www.who.int/publications/i/item/WHO_TRS_929)

360. WIEGAND, S., BERNER, R., SCHNEIDER, A., LUNDERSHAUSEN, E., DIETZ, A. Otitis Externa. In: *Dtsch Arztebl Int.* 2019, nr. 116(13), pp. 224-234. PMID: 31064650; PMCID: PMC6522672. doi: 10.3238/arztebl.2019.0224.
361. World Health Organization: World report on hearing, 2021. Disponibil: <https://www.who.int/publications/i/item/world-report-on-hearing>.
362. WU, SY., CHENG, Y., LIN, SZ., LIU, HH. A Comparison of Antifungal Drugs and Traditional Antiseptic Medication for Otomycosis Treatment: A Systematic Review and Meta-Analysis. In: *Front. Surg.* 2021, nr. 8. doi: 10.3389/fsurg.2021.739360
363. XIANHAO, J., QIN, L., FANGLU, C., ș.a. Otomycosis in Shanghai: etiology, clinical features and therapy. In: *Natinoal Library of Medicine.* 2012, nr. 55(5), pp. 404-409. doi: [10.1111/j.1439-0507.2011.02132.x](https://doi.org/10.1111/j.1439-0507.2011.02132.x)
364. ZHANG, L., MAO, S., Application of quality by design in the current drug development. In: *Asian J Pharm Sci.* 2017, nr 12(1), pp. 1-8. PMID: 32104308. PMCID: PMC7032183. doi: 10.1016/j.ajps.2016.07.006
365. ZHANG, LL., ZHANG, LF. XU, JG. Chemical composition, antibacterial activity and action mechanism of different extracts from hawthorn (*Crataegus pinnatifida* Bge.). In: *Sci Rep.* 2020, nr. 10, pp. 8876, doi: [10.1038/s41598-020-65802-7](https://doi.org/10.1038/s41598-020-65802-7)
366. ZHOU, S.F., ZHONG, W.Z. Drug Design and Discovery: Principles and Applications. In: *Molecules.* 2017, nr. 22(2), pp. 279. PMID: 28208821. PMCID: PMC6155886. doi: [10.3390/molecules22020279](https://doi.org/10.3390/molecules22020279)
367. ZVEAGHINTSEVA, M., STINGACI, E., POGREBNOI, S., SMETANSCAIA, A., VALICA, V., UNCU, L., KRAVTSOV, V.C., MELENIC, E., PETROU, A., GLAMOČLIJA, J., SOKOVIĆ, M., CARAZO, A., MLADĚNKA, P., POROIKOV, V., GERONIKAKI, A., MACAEV, F. Chromenol derivatives as novel antifungal agents: synthesis, *in silico* and *in vitro* evaluation. In: *Molecules.* 2021, vol. 26, nr.14, pp. 1-21. ISSN 1420-3049. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules26144304>
368. Державний реєстр лікарських засобів України. [цитат 21.09.2023]. Disponibil: <http://www.drlz.com.ua/>
369. ЖУРАВСКИЙ С.Г. Сенсоневральная тугоухость: молекулярно-генетические, структурные и лечебно-профилактические аспекты (клинико-экспериментальное исследование). Автореферат диссертации доктора медицинских наук. 2006, 40 стр.
370. КАРКИЩЕНКО, Н.Н и соавт. *Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях.* Москва. 2010, 358 с.
371. КАРНЕЕВА, О.В., ГУР, П. Клинические рекомендации – Отит средний острый. 2021, с.1-27.
372. КУНЕЛЬСКАЯ, В. Я., ШАДРИН, Г. Б. Диагностика и лечение отомикоза. В: *Справочник поликлинического врача.* 2010, №. 6: с. 29-31.
373. МАНЮК, М., ВАЛИКА, В., ПАРИЙ, С., АБАБИЙ, П., УНКУ, Л. и др. Перспективы внедрения в фармацевтическую и медицинскую практику новых ушных капель. В: *Материалы Национального конгресса «Клиническая фармация: 20 лет в Украине».* Харьков, Украина, 2013, с. 153-154. ISBN 978-966-400-284-1. [https://nuph.edu.ua/wp-content/uploads/2015/04/Clinical-Pharmacy\\_20-years-in-Ukraine\\_abstracts.pdf](https://nuph.edu.ua/wp-content/uploads/2015/04/Clinical-Pharmacy_20-years-in-Ukraine_abstracts.pdf)
374. МОРОЗОВА, С.В., Нейросенсорная тугоухость: основные принципы диагностики и лечения. В: *РМЖ.* 2001, nr. 15, pp. 662.

375. УНКУ, Л.В., ЧОБАНУ, Н.Т., ВАЛИКА, В.В. Научные исследования в области фармации на фармацевтическом факультете Государственного Университета Медицины и Фармации Им. Николая Тестемицану. В: *Современные технологии в медицинском образовании: материалы международной научно-практической конференции, посвященной 100-летию Белорус. гос. мед. ун-та, Республика Беларусь*, г. Минск, 1-5 ноября 2021, с. 2090-2092. ISBN 978-985-21-0904-8. <https://chimiefarmaceutica.usmf.md/ro/chimie-farmaceutica-cercetare/publicatii>
376. УНКУ, Л.В., ЧОБАНУ, Н.Т., ВАЛИКА, В.В. Перспективы разработки комбинированных препаратов для фармакотерапии некоторых ушных заболеваний. В: *Современные технологии в медицинском образовании: материалы международной научно-практической конференции, посвященной 100-летию Белорус. гос. мед. ун-та, Республика Беларусь*, г. Минск, 1-5 ноября 2021, с. 2085-2089. ISBN 978-985-21-0904-8. <https://chimiefarmaceutica.usmf.md/ro/chimie-farmaceutica-cercetare/publicatii>.
377. ХАБРИЕВ, Р.У. и соавт. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Москва, 2005, 827 с. ISBN 5-225-04219-8
378. ЮСИФОВ К.Д. Применение геля натриевой соли карбоксиметилцеллюлозы при хирургических вмешательствах на среднем ухе для профилактики синенных процессов. Автореферат диссертации кандидата медицинских наук. 2007, 25 стр., ООЗОВО142. [citat 06.09.2023]. Disponibil: <https://medical-diss.com/docreader/237489/a/?#?page=1>

## ANEXE

### Anexa 1. Rezultatele evaluării pieței preparatelor auriculare combinate

**Tabelul A1.1. Denumiri de medicamente combinate utilizate în tratamentul otomicozelor în diferite țări**

Nr. d/o	Țara	Firma producătoare, țara	Denumiri de medicamente	Compoziția medicamentului
I.	SUA	Bayer, <i>Germania</i>	Nystaform	Clioquinol + nystatin
		Merck, <i>Canada</i>	Lotrisone	Betamethasonum + Clotrimazolum
		Taro Pharma, <i>Canada</i>	Clotrimazole betamethasone	Betamethasonum + Clotrimazolum
		G&W Laboratories Inc, <i>SUA</i>	Mykacet	Nystatin + triamcinolone
		Savage Labs, <i>SUA</i>	Mytrex F	Nystatin + triamcinolone
II.	Canada	Merck, <i>Canada</i>	Lotriderm	Betamethasonum + Clotrimazolum
		Paladin Labs, <i>Canada</i>	Locacorten	Clioquinol + Flumetasone
		Paladin Labs, <i>Canada</i>	Vioform hydrocortisone	Clioquinol + hydrocortisone
		Taro Pharma, <i>Canada</i>	Kenacomb	Triamcinolonă acetonid + neomicină + gramicidină + nistatină
III.	Marea Britanie	Amdipharm, <i>Marea Britanie</i>	LocortenVioform	Flumetasone pivalate + Clioquinol
		Alphapharma, <i>India</i>	Hysone	Clioquinol+hydrocortisone
		Marlop Pharmaceuticals, <i>SUA</i>	Mycomar	Nystatin+ triamcinolone
		Fougera, <i>SUA</i>	Nystatin and Triamcinolone acetoneide	Nystatin+ triamcinolone
IV.	Rusia	Acrihin, <i>Rusia</i>	Acriderm	Betamethasonum + Clotrimazolum + Gentamicinum
		Glenmark, <i>India</i>	Kandibiotic	Clotrimazol + Cloramfenicol + Dipropionat de beclometazonă + lidocaină
V.	România	Fiterman Farma, <i>România</i>	Tresyl	Betamethasonum + Clotrimazolum + Gentamicinum
VI.	Ucraina	Glenmark, <i>India</i>	Candiderm	Betamethasonum + Clotrimazolum + Gentamicinum
		Kievmedpreparat, <i>Ucraina</i>	Triacutan	Betamethasonum + Clotrimazolum + Gentamicinum
		Здоров'я, <i>Ucraina</i>	Betasonultra	Betamethasonum + Clotrimazolum + Gentamicinum
		Vaishali Pharma, <i>India</i>	Canderm BG	Betamethasonum + Clotrimazolum + Gentamicinum

Nr. d/o	Țara	Firma producătoare, țara	Denumiri de medicamente	Compoziția medicamentului
VII.	Moldova	Schering-Plough Central East AG, <i>Belgia</i>	Triderm®	Betamethasonum + Clotrimazolum + Gentamicinum
		Intendis GmbH, <i>Germania</i>	Travocort®	Isoconazolum + Diflucortolonum
		Astellas Pharma, <i>Italia</i>	Pimafucort®	Natamycinum + Neomicynum + Hydrocortisonum
	<b>7 țări</b>	<b>19 companii producătoare</b>	<b>23 denumiri comerciale</b>	<b>10 Denumiri comune internaționale</b>

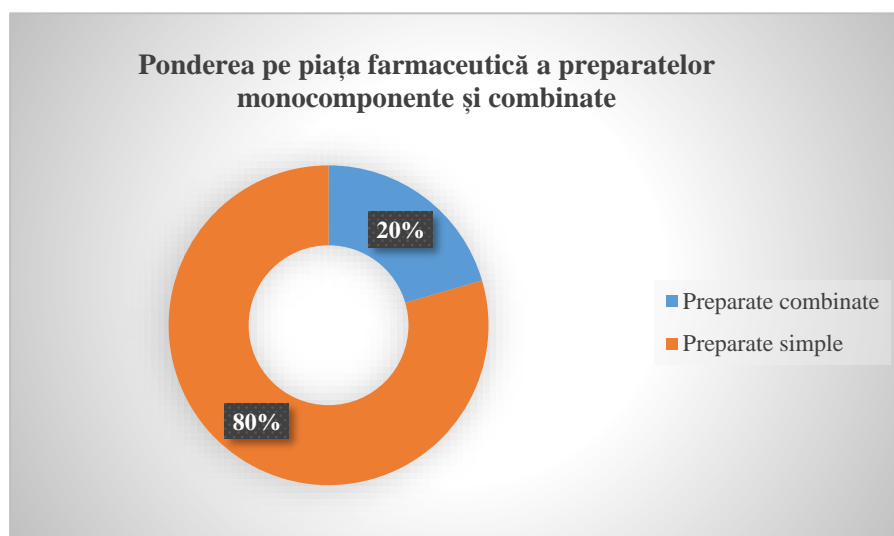


Fig. A1.1. Ponderea pe piața farmaceutică a preparatelor monocomponente și combinat

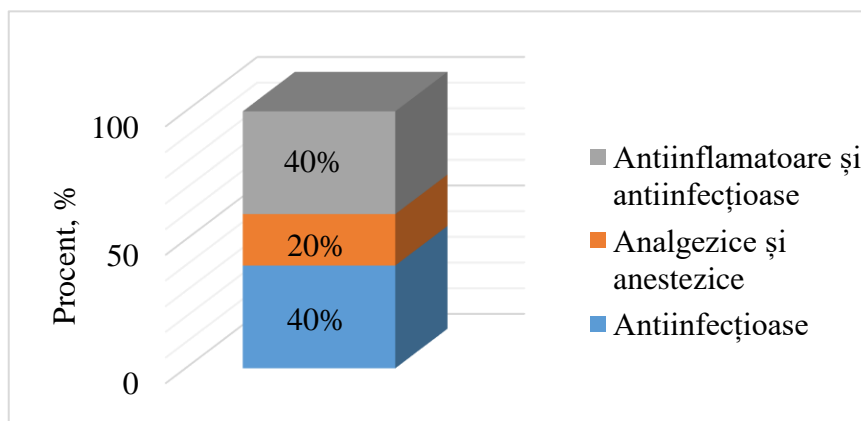


Fig. A1.2. Ponderea preparatelor otologice în cadrul medicamentelor combinate



**Tabelul A1.2. Repartizarea preparatelor conform grupei farmacoterapeutice**

<b>Denumirea</b>	<b>Componența</b>
<b>Preparate combinate cu conținut de antimicotic + antibacterian + antiinflamator</b>	
Pimafucort	<b>Natamycinum</b> + Neomicynum + Hydrocortisonum
Kenacomb	Triamcinolonă acetonid + neomicină + gramicidină + <b>nistatină</b>
Triderm, Tresyl, Candiderm, Triacutan, Betasonultra, Canderm BG, Acriderm.	Betamethasonum + <b>Clotrimazolum</b> + Gentamicinum
<b>Preparate combinate cu conținut de antimicotic + antiinflamator</b>	
Travocort®	<b>Isoconazolum</b> + Diflucortolonum
Lotriderm, Lotrisone, Clotrimazole, Betamethasone.	Betamethasonum + <b>Clotrimazolum</b>
Locacorten, Locorten, Vioform.	<b>Clioquinol</b> + Flumetasone
Mycomar, Nystatin and Triamcinolone acetonid, Mykacet, Mytrex F.	<b>Nystatin</b> + triamcinolone
Hysone, Vioform hydrocortisone	<b>Clioquinol</b> + hydrocortisone
<b>Preparate combinate cu conținut de antimicotic + antibacterian</b>	
Nystaform	<b>Clioquinol</b> + nystatin
<b>Preparate combinate cu conținut de antimicotic și anestezic local</b>	
Kandibiotic	<b>Clotrimazol</b> + Cloramfenicol + Dipropionat de beclometazonă + lidocaină
<i>Notă: Este evidențiat componentul antimicotic</i>	

**Tabelul A1.3. Repartizarea preparatelor antimicotice combinate după forma farmaceutică**

Forma farmaceutică	Cremă	Unguent	Picături auriculare
Denumirea Comercială	Triderm®	Triderm®	Kandibiotic
	Travocort®	Pimafucort®	Locacorten
	Pimafucort®	Triacutan	LocortenVioform
	Tresyl	Betasonultra	
	Candiderm	Kenacomb	
Denumirea Comercială	Canderm BG	Nystaform	
	Acriderm	Mykacet	
	Lotriderm	Mytrex F	
	Vioform hydrocortisone	Hysone	
	Lotrisone		
	Clotrimazole betamethasone		
	Mykacet		
	Hysone		
	Mycomar		
	Nystatin și Triamcinolone acetonide		
	<b>16 denumiri comerciale</b>	<b>7 denumiri comerciale</b>	<b>3 denumiri comerciale</b>

**Tabelul A1.4. Analiza spectrului de medicamente cu conținut de nicergolină**

Substanța activă (DCI)	Preparate monocomponente	Forma farmaceutică	Firma producătoare, Țara producătoare	Preparate combinate	Firma producătoare, Țara producătoare
<b>Nicergolinum</b>	<b>Republica Moldova</b>				
	Nicergolin Actavis 10 mg	Compr. filmate 5mg	Balkanpharma Dupnitsa AD, Bulgaria	0	0
	Nicergolina	Compr.5; 10; 30 mg	SC Balkan Pharmaceuticals SRL, R. Moldova		
	Nicergolina LPH® 10 mg	Compr. filmate 10mg	Labormed Pharma S.A., România		
	Nicergolina LPH® 30 mg	Compr. filmate 30mg	Labormed Pharma S.A., România		
	Nicergolin-Ferein®	Liofilizat pt. Sol.inj. 4mg	Brintalov-A SAI, Rusia		
	Nicergolin-LF	Capsule 5; 10; 30 mg	Lekfarm SRL, Belarus		
	<b>Total poziții: 10</b>		<b>Total producători: 5</b>	<b>Total poziții: 0</b>	<b>Total producători: 0</b>
	<b>România</b>				
	Gralin 10 mg	Compr. filmate 10mg	Labormed Pharma S.A. – România	0	0
	Gralin 30 mg	Compr. filmate 30mg	Labormed Pharma S.A. – România		
	Gralin 5 mg	Compr. filmate 5 mg	Labormed Pharma S.A. – România		
	Nicergolina LPH 10 mg	Compr. filmate 10mg	Labormed Pharma S.A. – România		
	Nicergolina LPH 30 mg	Compr. filmate 30mg	Labormed Pharma S.A. – România		
	Nicerium (R) 10	Drajeuri 10mg	Salutas Pharma GMBH – Germania		
	Nicerium (R) 15	Caps.elib. modif.15 mg	Salutas Pharma GMBH – Germania		
	Nicerium (R) 30 UNO	Caps.elib. modif.30 mg	Salutas Pharma GMBH – Germania		
	Sermion	Compr. filmate 30mg	Pfizer Italia S.R.L. – Italia		
	Sinergolin 10	Draj. 10mg	Sintofarm SA – România		
	Sinergolin 30	Draj. 30mg	Sintofarm SA – România		
	<b>Total poziții: 10</b>		<b>Total producători: 4</b>	<b>Total poziții: 0</b>	<b>Total producători: 0</b>
	<b>Rusia</b>				
	Nicergolin	Liof.pt sol. inj. 4 mg	ОАО "Синтез", Rusia	0	0
	Nicergolin	Compr. filmate 10mg	ЗАО «ФП «Оболенское», Rusia		
	Sermion	Compr. filmate 5; 10; 30mg	Pfizer Italia S.R.L., Italia		

Substanța activă (DCI)	Preparate monocomponente	Forma farmaceutică	Firma producătoare, Țara producătoare	Preparate combinate	Firma producătoare, Țara producătoare
	Sermion®	Liof.pt sol. inj. 4 mg	Pfizer Italia S.R.L., Italia		
	Nicergolin	Compr. filmate 10mg	АВВА РУС ОАО, Rusia		
	Nicergolin	Liof.pt sol. inj.4mg+ solv. NaCl;	ФГУП «НПО «Микроген» Минздрава РФ, Rusia		
	Nicergolin	Liof. pt sol. inj (i/m),4 mg	Фермент Фирма ООО, Rusia		
	Nicergolin-Ferein®	Liofilizat pt. sol.inj. 4mg; Compr. film.10mg	Brintalov-A SAI, Rusia		
	Nicergolin	Liof. pt sol.inj (i/m), 4 mg	"Мосхимфармпрепараты им.Н.А. Семашко", Rusia		
	<b>Total poziții: 15</b>		<b>Total producători: 8</b>	<b>Total poziții: 0</b>	<b>Total producători:0</b>

**Tabelul A1.5. Analiza spectrului de medicamente cu conținut de vasodilatatoare cerebrale**

Substanța activă	Țara	Preparate cu o singură substanță activă	Preparate combinate
Vinpocetina	R. Moldova:	15 poziții;	0
	România:	10 poziții;	0
	Rusia:	75 poziții;	1 ( <b>vinpocetină+piracetam</b> = Vinpotropil), Rusia
Cinarizina	R. Moldova:	4 poziții	6 ( <b>Cinarizină+piracetam</b> ) 1)Cinnotropil,Rompharm Company SRL, SC, România; 2)Neuro-Norm,Darnita SAP, Ucraina; 3)Noocitam, I.C.S. Eurofarmaco S.A., Moldova; 4)Omaron®,Nijfarm SAD, Rusia; 5)Phezam, Balkanpharma Dupnitsa AD, Bulgaria; 6)Piracezin®, IU Minskintercaps, Belarus;
	România:	5 poziții	0
	Rusia:	33 poziții	4 <b>Cinarizină+piracetam:</b> 1)Omaron®,Nijfarm SAD, Rusia; 2)Piracezin®, IU Minskintercaps, Belarus; 3) NooCam, ООО "Камелия НПП", Rusia 4) Phezam, Balkanpharma Dupnitsa AD, Bulgaria;
Pentoxifilina	R. Moldova:	13 poziții	0
	România:	19 poziții	0
	Rusia:	62 poziții	0

**Tabelul A1.6. Analiza spectrului de medicamente cu conținut de piracetam**

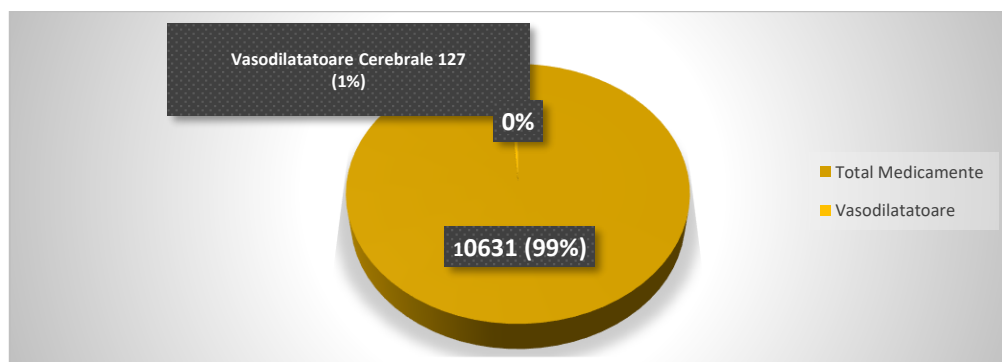
Substanța activă (DCI)	Preparate monocomponente	Forma farmaceutică	Firma producătoare, Țara producătoare	Preparate combinate	Firma producătoare, Țara producătoare
<b>Republica Moldova</b>					
Lucetam®	Compr.film. 400mg; 800mg; 1200mg	Egis Pharmaceuticals PLC, Ungaria	Cinnotropil (piracetam+ Cinarizina)	S.R.L., S.C. Rompharm Company, România	
Lucetam®	Sol.inj. 1g/5ml; 3g/15ml;	Egis Pharmaceuticals PLC, Ungaria	Neuro-Norm (piracetam+ cinarizina)	Darnita SAP, Ucraina	
Neuro 400	Caps.400mg	I.C.S., S.A. Eurofarmaco, R.Moldova	Noocitam (piracetam+ cinarizina)	I.C.S., S.A. Eurofarmaco, R.Moldova	
Neuro 800	Caps.800mg	I.C.S., S.A. Eurofarmaco, R.Moldova	Omaron® (piracetam+ cinarizina)	Nijfarm SAD, Rusia	
Nootropil®	Compr.film. 800/ 1200mg; Sol.inj.200 mg/ml	UCB Pharma SA, Belgia	Phezam (piracetam+ cinarizina)	Balkanpharma Dupnitsa AD, Bulgaria	
Piracetam	Sol.inj.1g/5 ml-5; 15 ml	SC Balkan Pharmaceuticals SRL,R.Moldova	Piracezin® (piracetam+ cinarizina)	IU Minskintercaps, Belarus	
Piracetam	Caps.400mg	UPM din Borisov SAD, Belarus			
Piracetam	Sol.inj. 1000 mg/5 ml	Shandong Shenglu Pharmaceutical Co., Ltd., China			
Piracetam	Comp.film. 200 mg	UCF Borsceagov SAP, Ucraina			
Piracetam	Sol.inj 20%-5ml	I.M. Farmaco S.A.,R.Moldova			
Piracetam	Caps. 400mg	Balkanpharma Dupnitsa AD, Bulgaria			
Piracetam	Sol.inj. 1000 mg/5 ml	UPM din Borisov SAD, Belarus			
Piracetam MCC 400 mg	Compr.400 mg	S.C. Magistra C&C S.R.L., România			
Piracet-RNP	Caps.200mg, 400mg, 800mg	IM RNP Pharmaceutical, R.Moldova			
Total poziții: 22			Total producători: 11	Total poziții: 6	Total producători:6
<b>România</b>					
Lucetam	Compr.film. 400mg; 800mg	Egis Pharmaceuticals PLC, Ungaria			

Substanța activă (DCI)	Preparate monocomponente	Forma farmaceutică	Firma producătoare, Țara producătoare	Preparate combinate	Firma producătoare, Țara producătoare
	Lucetam 1200 mg	Compr.film. 1200mg	Egis Pharmaceuticals PLC, Ungaria		
	Memotal	Sol.inj. 1g/5ml	Zentiva S.A.- România		
	N – Piracetam	Compr. 400mg	Meduman S.A., România		
	Nootropil 1200 mg	Compr.film. 1200 mg	UCB Pharma SA, Belgia		
	Nootropil 800 mg	Compr.film. 800 mg	UCB Pharma SA, Belgia		
	Piracetam	Compr. 400 mg	Fabiol S.A., România		
	Piracetam Helcor 400 mg	Compr. film. 400 mg	AC Helcor Pharma SRL, România		
	Piracetam Helcor 800 mg	Compr. film. 800 mg	AC Helcor Pharma SRL, România		
	Piracetam Arena 400 mg	Caps. 400 mg	Arena Group SA-România		
	Piracetam Farmex 400 mg	Compr. 400 mg	Farmex Company SRL, România		
	Piracetam Laropharm 400	Compr. 400 mg	Laropharm SRL, România		
	Piracetam LPH(R) 400mg	Compr. film. 400 mg	Labormed Pharma SA, România		
	Piracetam MCC 400mg	Compr. 400 mg	Magistra C & C – România		
	Piracetam Sintofarm 400 mg	Compr. 400 mg	Sintofarm SA, România		
	Piracetam Slavia 400 mg	Compr. 400 mg	Slavia Pharm SRL, România		
	Piracetam Richter 400 mg	Compr. film. 400 mg	Gedeon Richter România SA, România		
	Piracetam Richter 800 mg	Compr. film. 800 mg	Gedeon Richter România SA, România		
	<b>Total poziții: 18</b>		<b>Total producători: 14</b>	<b>Total poziții: 0</b>	<b>Total producători:0</b>
	<b>Rusia</b>				
	<b>Total poziții: 110</b>		<b>Total producători: 100</b>	<b>Total poziții: 5 *</b>	<b>Total producători:5</b>

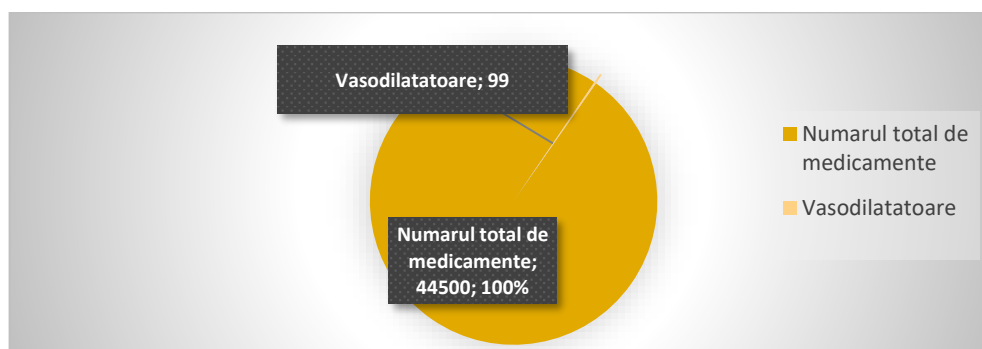
\*- Preparatele au fost menționate în tabelul 2- la medicamente combinate: vinpocetină +piracetam; cinarizină+piracetam.

**Tabelul A1.7. Analiza spectrului de medicamente cu conținut de substanțe nootrope**

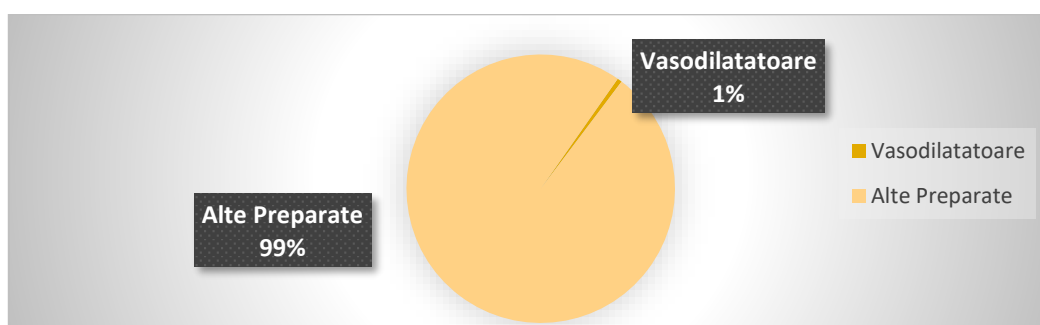
Substanța active	Țara	Preparate cu o singură substanță active	Preparate combinate
Piritinol	R. Moldova:	0 poziții;	0
	România:	8 poziții;	0
	Rusia:	4 poziții;	0
Acid gama-aminobutiric	R. Moldova:	4 poziții;	0
	România:	0 poziții;	0
	Rusia:	16 poziții;	0



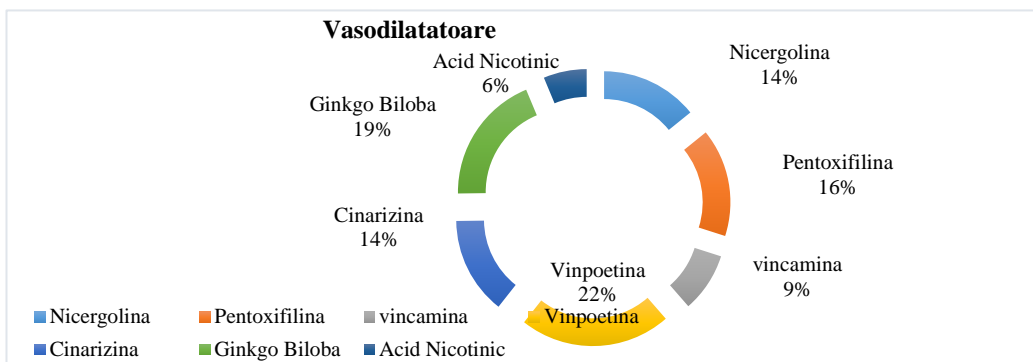
**Fig. A1.3. Ponderea preparatelor vasodilatatoare în Republica Moldova (la data 01.09.2023)**



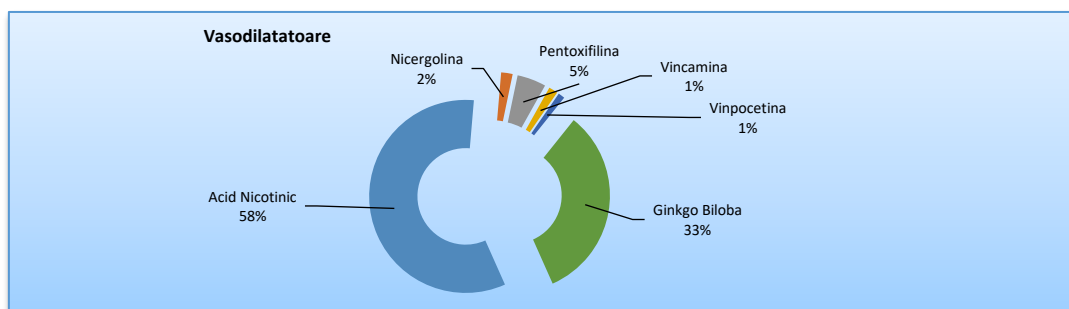
**Fig. A1.4. Ponderea preparatelor vasodilatatoare în România (la data 01.09.2023)**



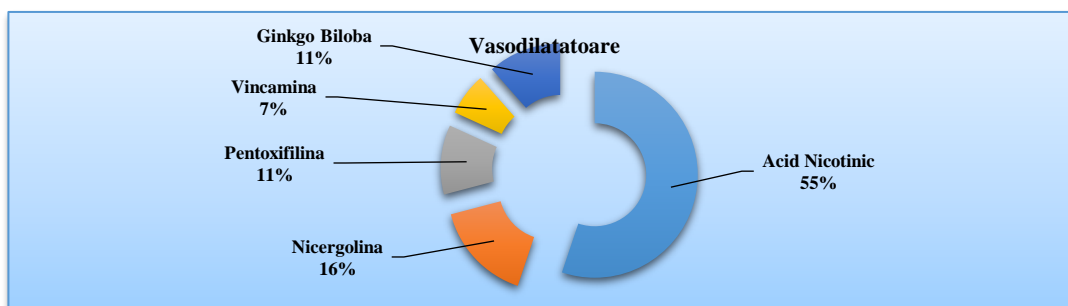
**Fig. A1.5. Ponderea preparatelor vasodilatatoare în Franța și Germania (la data 01.09.2023)**



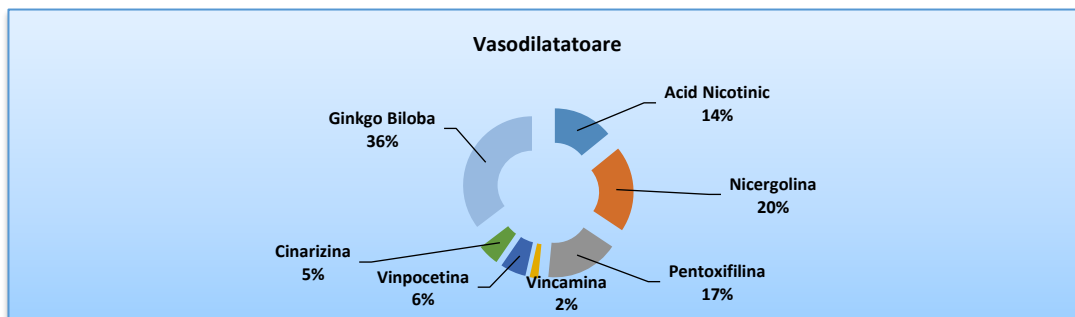
**Fig. A1.6. Frecvența utilizării vasodilatatoarelor pe denumiri de medicamente în Republica Moldova (la data 01.09.2023)**



**Fig. A1.7. Frecvența utilizării vasodilatatoarelor pe denumiri de medicamente în Germania (la data 01.09.2023)**



**Fig. A1.8. Frecvența utilizării vasodilatatoarelor pe denumiri de medicamente în Franța (la data 01.09.2023)**



**Fig. A1.9. Frecvența utilizării vasodilatatoarelor pe denumiri de medicamente în România (la data 01.09.2023)**

**Tabelul A1.8. Analiza spectrului de picături auriculare prezente pe piața Republicii Moldova**

Denumirea comercială	Componența, substanța activă	Forma farmaceutică	Țara producătoare	Firma producătoare
Otipax®	Phenazonum + Lidocainum	picături auriculare, soluție	Franța	Biocodex (prod.: Biocodex, Franta)
Oticain-Zdorovie	Phenazonum + Lidocainum	picături auriculare, soluție	Ucraina	Compania farmaceutica "Zdorovie" SRL
Oftamirin	Myramistinum	picături oftalmice/auriculare/naz ale, soluție	Ucraina	Firma farmaceutica Darnita SAP
Floxadex	Ciprofloxacinum + Dexamethasonum	picături oftalmice/auriculare, suspensie	Armenia	Liqvor SAI
Otinum®	Cholini salicylas	picături auriculare, soluție	Germania	MEDA Pharma GmbH & Co. KG (prod.: ICN Polfa Rzeszow S.A., Polonia)
Otirelax	Phenazonum + Lidocainum	picături auriculare, soluție	Romania	Rompharm Company SRL
Ciprofloxacina	Ciprofloxacinum	picături oftalmice/auriculare, soluție	Romania	S.C. Rompharm Company S.R.L.
Auridexan	Decametoxinum	picături auriculare, soluție	Ucraina	Uzina experimentală GNTLS SRL, Ucraina; Farmex Group, Ucraina
Dropleks	Phenazonum + Lidocainum	picături auriculare, soluție	Georgia	S.C. Rompharm Company S.R.L., Romania)
Anauran®	Polymyxinum B + Neomycinum + Lidocainum	picături auriculare, soluție	Italia	Zambon S.p.A.

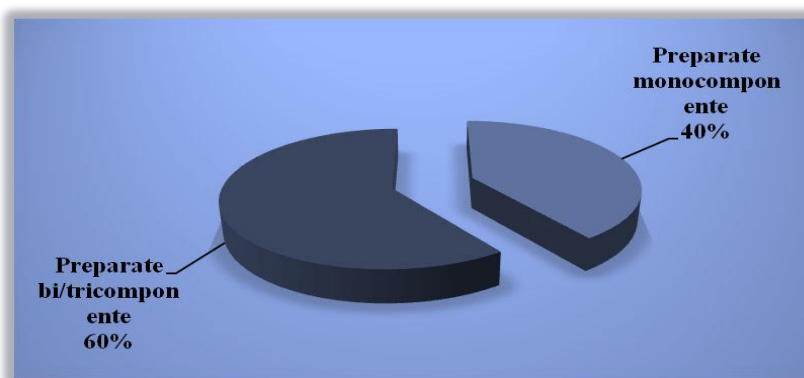
**Tabelul A1.9. Repartizarea picăturilor auriculare existente în Republica Moldova după grupe farmacoterapeutice**

Denumirea	Componența
<b>Picături auriculare cu conținut de antibiotice, antimicotice și antibacteriene/antiseptice</b>	
Floxadex®	Ciprofloxacinum + Dexamethasonum
Anauran®	Polymyxinum B + Neomycinum + Lidocainum
Otidep	Cloramfenicol+Ac. Boric+Alcool etilic
Ciprofloxacina	Ciprofloxacinum
<b>Picături auriculare cu conținut de glucocorticoizi și combinații</b>	
Floxadex	CIP+Dexametazon
<b>Monopreparate și combinații cu conținut de antiinflamatoare nesteroidiene</b>	
Otinum®	Cholini salicylas
Otipax	Phenazonum + Lidocainum
Oticain-Zdorovie	Phenazonum + Lidocainum
Otirelax	Phenazonum + Lidocainum
Dropleks	Phenazonum + Lidocainum
Auridexan	Decametoxinum
Oftamirin	Myramistinum



**Tabelul A1.10. Picături auriculare de origine vegetală**

Poziții	Compoziție
Aurecon Drops	Ulei de masline, ulei de mușețel, ulei de eucalipt, ulei de levănțică, ulei de lamâie, ulei de arbore de ceai.
Ceratis	Acid boric, extract din PG de salcie, extract din PG de stejar
Otolin	Extracte hidroalcoolice din: propolis, mușetel flori, busuioc, silur iarba, castan, ulei din arbore de ceai australian (Australian Tea Tree oil)
Propotid	Tinctură de propolis, dimexid, glicerină
Ear-OK Drops	Verbascum Thapsus (Mullein flower), Melaleuca alternifolia (Australian Tea Tree oil), Lavandula officinalis (Lavender), Allium sativum (Garlic)



**Fig. A1.10. Ponderea pe piața farmaceutică a preparatelor simple și combinate**

**Anexă 2. Analiza prin DSC a compatibilității substanțelor active între ele și cu excipienții pentru picăturile auriculare cu IHF+MU, CIP+EC+UVB**

**Tabelul A2.1. Rezultatele termoanalitice DSC ale substanțelor medicamentoase, excipienților și ale amestecurilor binare dintre substanțe medicamentoase, excipienți și substanțe medicamentoase cu excipienți**

Probele		Domeniul de topire/fierbere (°C)	Temperatura maximă de topire/fierbere (°C)	Entalpia de topire (J/g)
IHF		255,56-260,37	257,28	805,03
MU		310,69-314,42	310,62	525,52
PEG 400		243,32-251,81	247,63	983,0
PG		184,95-198,64	187,23	633,79
IHF/MU 1:1=m/m	IHF	236,38-239,98	237,51	450,72
	MU	277,59-300,25	294,66	110,15
IHF/PEG 400 1:1=m/m	IHF	228,06-228,76	228,43	195,0
	PEG 400	–	–	–
IHF/PG 1:1=m/m	IHF	260,99-263,87	261,75	61,34
	PG	149,66-153,73	150,37	107,31
MU/PEG 400 1:1=m/m	MU	281,51-300,07	294,62	159,25
	PEG 400	–	–	–

**Tabelul A2.2. Rezultatele termoanalitice DSC ale substanțelor medicamentoase, excipienților și ale amestecurilor binare dintre substanțe medicamentoase, excipienți și substanțe medicamentoase cu excipienți**

Probele		Domeniul de topire/fierbere (°C)	Temperatura maximă de topire/fierbere (°C)	Entalpia de topire (J/g)
CIP		140,80-149,40	145,43	149,30
EC		164,97-168,32	166,18	337,51
PEG 400		45,06-109,35	80,98	98,91
Polisorbat 20		44,21-100,69	73,48	51,18
CIP/EC 1:1=m/m	CIP	221,61-225,70	225,70	176,80
	EC	152,52-164,64	160,18	288,47
CIP/PEG 400 1:1=m/m	CIP	111,73-122,48	117,76	9,68
	PEG 400	–	–	–
CIP/Polisorbat 20 1:1=m/m	CIP	129,66-140,64	135,04	77,55
	Polisorbat 20	80,27-112,06	97,45	7,30
EC/PEG 400 1:1=m/m	EC	128,51-158,11	149,09	626,05
	PEG 400	–	–	–
EC/Polisorbat 20 1:1=m/m	EC	216,40-218,25	216,81	0,27
	Polisorbat 20	142,29-158,97	154,20	239,41

**Anexa 3. Analiza prin spectrometrie FT-IR a compatibilității substanțelor active între ele și cu excipienții pentru picăturile auriculare cu IHF+MU, CIP+EC+UVB**

**Tabelul A3.1. Analiza compatibilității spectrale FT-IR a compușilor amestecului IHF- PG**

IHF <i>Număr de undă maxima, cm<sup>-1</sup></i>		PG <i>Număr de undă maxim, cm<sup>-1</sup></i>	<i>Amestec</i> <i>Număr de undă maxim, cm<sup>-1</sup></i>	
<b>3120</b>	1219	<b>3311</b>	<b>3318</b>	1236
3061	1176	<b>2970</b>	3133	1220
2929	1140	<b>2930</b>	3121	1176
2821	1099	<b>2877</b>	<b>2971</b>	1137
1863	1077	1655	<b>2931</b>	1077
1811	1063	1456	<b>2877</b>	<b>1040</b>
1727	1025	1410	2829	1001
1707	1002	1376	1706	991
<b>1681</b>	974	1331	<b>1680</b>	974
1630	961	1288	1642	962
1608	932	1230	1607	947
<b>1557</b>	905	1136	<b>1556</b>	931
<b>1518</b>	867	1077	<b>1519</b>	867
<b>1482</b>	849	<b>1038</b>	<b>1482</b>	836
1414	836	990	1474	809
1384	809	945	1414	789
<b>1347</b>	788	921	1384	747
1307	748	837	<b>1346</b>	736
1273	736	802	1307	680
1236	681	672	1273	660
	661			

**Tabelul A3.2. Analiza compatibilității spectrale FT-IR a compușilor amestecului MU-PG**

MU <i>Număr de undă maxima, cm<sup>-1</sup></i>		PG <i>Număr de undă maxim, cm<sup>-1</sup></i>	<i>Amestec</i> <i>Număr de undă maxim, cm<sup>-1</sup></i>	
<b>3089</b>	1258	<b>3311</b>	<b>3303</b>	1336
<b>3040 a dispar</b>	1324	<b>2970</b>	<b>3093</b>	1292
<b>2989</b>	1203	<b>2930</b>	<b>2971</b>	1234
<b>2931</b>	1191	<b>2877</b>	<b>2930</b>	1192
<b>2848</b>	1165	1655	<b>2879</b>	1136
<b>2802</b>	1145	1456	<b>2804</b>	1078
2638	1097	1410	2705	<b>1038</b>
1746	1061	1376	2640	989
<b>1707</b>	1036	1331	1747	946
<b>1657</b>	986	1288	<b>1707</b>	921
<b>1638 a dispar</b>	962	1230	<b>1655</b>	875
<b>1615</b>	868	1136	<b>1615</b>	837
1534	842	1077	1533	803
1514	766	<b>1038</b>	1514	765
1448	664	990	1448	673
1434		945	1434	
1409		921	1408	
1382		837	1380	
1349		802	1348	

**Tabelul A3.3. Analiza compatibilității spectrale FT-IR a compușilor amestecului IHF-Nipagină**

IHF <i>Număr de undă maxima, cm<sup>-1</sup></i>	Nipagină <i>Număr de undă maxim, cm<sup>-1</sup></i>	<i>Amestec</i> <i>Număr de undă maxim, cm<sup>-1</sup></i>
<b>3120 Lipsa</b>	<b>3281</b>	<b>3275</b>
3061	3194	3186
2929	3032	2964
2821	2964	2819
1863	<b>1677 Lipsa</b>	1706
1811	<b>1605</b>	<b>1681</b>
1727	<b>1586</b>	<b>1606</b>
1707	<b>1512</b>	<b>1585</b>
<b>1681</b>	1456	1572
1630	<b>1432</b>	<b>1558</b>
1608	1379	<b>1516</b>
<b>1557</b>	1363	<b>1483</b>
<b>1518</b>	1313	<b>1433</b>
<b>1482</b>	1296	1414
1414	1275	1384
1384	1231	<b>1347</b>
<b>1347</b>	1191	1309
1307	1162	1273
1273	1117	1235
1236	1105	1221
1219	1008	1192
1176	955	1174
1140	848	1163
1099	803	1141
1077	770	1123
1063	696	1100
1025	673	1077
1002	658	1063
974		1026
961		1002
932		974
905		961
867		932
849		906
836		867
809		849
788		836
748		809
736		770
681		748
661		737
		682
		661

**Tabelul A3.4. Analiza compatibilității spectrale FT-IR a compusilor amestecului MU-Nipagină**

MU <i>Număr de undă maxima, cm<sup>-1</sup></i>	Nipagină <i>Număr de undă maxim, cm<sup>-1</sup></i>	Amestec <i>Număr de undă maxim, cm<sup>-1</sup></i>
<b>3089</b>	<b>3281 Lipsa</b>	<b>3090</b>
<b>3040</b>	3194	<b>3040</b>
<b>2989</b>	3032	<b>2988</b>
<b>2931</b>	2964	<b>2932</b>
<b>2848</b>	<b>1677</b>	<b>2849</b>
<b>2802</b>	<b>1605</b>	<b>2802</b>
2638	<b>1586</b>	1748
1746	<b>1512</b>	<b>1708</b>
<b>1707</b>	1456	<b>1674</b>
<b>1657 Lipsa</b>	<b>1432</b>	<b>1606</b>
<b>1638 Lipsa</b>	1379	<b>1587</b>
<b>1615</b>	1363	<b>1513</b>
1534	1313	1448
1514	1296	<b>1433</b>
1448	1275	1410
1434	1231	1382
1409	1191	1350
1382	1162	1313
1349	1117	1277
1285	1105	1232
1258	1008	1191
1324	955	1163
1203	848	1117
1191	803	1104
1165	770	1062
1145	696	1037
1097	673	1010
1061	658	987
1036		955
986		870
962		846
868		768
842		696
766		676
664		

**Tabelul A3.5. Analiza compatibilității spectrale FT-IR a compusilor amestecului EC-CIP**

<i>EC nitrat</i> <i>Număr de undă maxim, cm<sup>-1</sup></i>	<i>CIP</i> <i>Număr de undă maxim, cm<sup>-1</sup></i>	<i>Amestec</i> <i>Număr de undă maxim, cm<sup>-1</sup></i>
1414,6	1701,7	1661,8
1329,5	1622,6	1089,4
1311,1	1446,9	1043,1
1090,5	1266,3	1011,7
1011,2	<b>804,2</b>	889,5
826,9	749,9	826,9
<b>804,8</b>		<b>804,7</b>
637,9		637,5

**Anexa 4. Analiza reologică a picăturilor auriculare cu conținut de IHF+MU și  
CIP+EC+UVB**

**Tabelul A4.1. Valorile vâscozității în funcție de viteza de forfecare la 25±0,1°C (a) și la  
37±0,1°C(b) pentru picături auriculare cu IHF+MU**

RPM, tur/ min	Viscozitate, P		Viscozitate, P		Viscozitate, P		Viscozitate, P		Viscozitate, P		Viscozitate, P	
	F1		F2		F3		F4		F5		F6	
	25±0,1 <sup>0</sup> C	37±0,1 <sup>0</sup> C	25±0,1 <sup>0</sup> C	37±0,1 <sup>0</sup> C	25±0,1 <sup>0</sup> C	37±0,1 <sup>0</sup> C	25±0,1 <sup>0</sup> C	37±0,1 <sup>0</sup> C	25±0,1 <sup>0</sup> C	37±0,1 <sup>0</sup> C	25±0,1 <sup>0</sup> C	37±0,1 <sup>0</sup> C
0,3	2724,7	2698,9	2889,5	2754,1	2600,1	2511,1	2657,3	2498,2	2701,8	2564,1	2865,6	2621,3
0,5	1045	1011	1258,3	1167,2	978	901,2	982	900,1	996	989	1311	1217
0,6	783,8	767,7	975,7	961,2	635,3	597,1	645,1	598,1	667,4	659,2	986,4	975,2
1	370,6	351,8	487,1	479,2	299,5	278,7	320,1	300,8	334,6	329,1	490,5	487,2
1,5	219,9	199,9	291,1	287,9	193	177,4	204	198,1	213	211	298	287
2	147,2	134,8	197,6	191,2	131	128,9	136	129,1	145	141,8	203	198,2
2,5	114,2	110,7	155	148,1	106	104,1	110,2	107,7	112	110,4	162	158,1
3	101,7	100,1	126	120,7	88,4	84,9	93,5	90,3	98,9	96,7	110	108,9
4	93,3	90,2	101,3	99,8	79	78	81	78,1	88	86	103,6	100,8
5	56,7	55,7	76,6	75,4	48,3	46,3	52	49,2	55	53,8	78,9	76,7
6	49,4	47,9	60,9	59,2	35	33	39	38,4	41	39,7	62	60,7
10	29,6	27,9	38,9	36,9	22,3	20,1	25	24	27,4	25,8	40,3	38,7
12	22	20,4	29,5	27,8	17	15	19	17,3	20,8	19,1	31	29,3
20	14,6	12,9	18,3	17,1	11,2	10,2	12,3	10,9	13	11	20,1	19,7
30	8,8	7,9	12,7	11,7	7,3	6,7	7,9	7,5	8,1	7,4	13,4	11,9
50	5,6	5,1	7,3	6,9	4,8	3,9	5	4,7	5,2	4,9	8,9	7,4
60	4,2	4,1	5,5	5,1	3,5	3,0	3,9	3,2	4	3,7	5,7	4,9
100	3	2,9	4,4	3,9	1,8	1,6	2,6	2,1	2,9	2,2	4,8	3,9

**Tabelul A4.2. Valorile tensiunii de forfecare la diferite viteze de forfecare (25±0,10C și  
37±0,10C). pentru picături auriculare cu IHF+MU**

RPM, tur/m in	F1		F2		F3		F4		F5		F6	
	Tensiune de forfecare, P · 10 <sup>-3</sup>		Tensiune de forfecare, P · 10 <sup>-3</sup>		Tensiune de forfecare, P · 10 <sup>-3</sup>		Tensiune de forfecare, P · 10 <sup>-3</sup>		Tensiune de forfecare, P · 10 <sup>-3</sup>		Tensiune de forfecare, P · 10 <sup>-3</sup>	
	25±0,1 <sup>0</sup> C	7±0,1 <sup>0</sup> C	25±0,1 <sup>0</sup> C	37±0,1 <sup>0</sup> C	25±0,1 <sup>0</sup> C	37±0,1 <sup>0</sup> C	25±0,1 <sup>0</sup> C	37±0,1 <sup>0</sup> C	25±0,1 <sup>0</sup> C	37±0,1 <sup>0</sup> C	25±0,1 <sup>0</sup> C	37±0,1 <sup>0</sup> C
0,3	1,690,517	1,686,547	2,016,745	2,062,549	1,560,803	1,578,426	1,548,889	1,564,124	1,596,244	1,602,154	1,981,239	1,998,995
0,5	1,831,962	1,825,921	2,181,581	2,199,954	1,696,241	1,702,548	1,679,685	1,691,487	1,730,154	1,753,189	2,140,491	2,162,548
0,6	1,885,261	1,835,871	2,243,621	2,285,413	1,747,374	1,760,001	1,728,996	1,742,314	1,780,622	1,799,254	2,200,319	2,220,311
1	2,043,111	2,068,741	2,427	2,475,621	1,899,101	1,900,247	1,875,112	1,892,599	1,930,001	1,950,214	2,322,677	2,346,587
1,5	2,177,547	2,199,247	2,583,168	2,599,961	2,028,665	2,048,712	1,999,618	2,014,834	2,057,439	2,074,681	2,527,285	2,543,284
2	227,835	2,981,274	2,700,028	2,732,141	2,125,998	2,139,981	2,093,027	2,113,674	2,152,929	2,176,547	2,639,641	2,655,698
2,5	2,359,741	2,399,798	2,794,299	2,810,254	2,204,699	2,216,547	2,168,475	2,184,572	2,230,039	2,353,365	2,730,322	2,751,269
3	2,428,396	2,462,173	2,873,764	2,899,954	2,271,161	2,295,471	2,232,135	2,252,147	2,295,088	2,310,054	2,806,531	2,826,514
4	2,540,811	2,562,841	3,003,769	3,057,129	2,380,129	2,399,947	2,336,405	2,351,489	2,401,608	2,429,417	2,931,303	2,954,123
5	2,631,579	2,663,217	3,108,647	3,105,487	2,468,239	2,481,473	2,420,627	2,441,287	2,487,625	2,499,567	3,031,389	3,051,298
6	2,708,143	2,789,541	3,197,05	3,210,548	2,542,645	2,561,102	2,491,689	2,513,487	2,560,187	2,581,412	3,116,633	3,131,365
10	2,934,731	2,984,137	3,458,357	3,466,548	2,763,281	2,781,241	2,702,099	2,715,493	2,774,964	2,792,357	3,366,892	3,680,014
12	3,020,116	3,058,437	3,556,705	3,589,547	2,846,581	2,861,257	2,781,425	2,799,959	2,855,908	2,871,254	3,460,998	3,485,601
20	3,272,807	3,299,894	3,847,408	3,865,413	3,093,591	3,115,487	3,016,301	3,041,121	3,095,492	3,110,002	3,738,909	3,754,124
30	3,488,346	3,500,274	4,094,973	4,109,874	3,304,822	3,315,642	3,216,773	3,234,657	3,299,889	3,312,211	3,975,363	3,995,214
50	3,780,214	3,800,011	4,429,671	4,436,487	3,591,594	3,611,124	3,488,412	3,499,952	3,576,719	3,591,243	4,294,508	4,312,548
60	3,890,197	3,901,475	4,555,642	4,568,946	3,699,864	3,711,542	3,590,822	3,612,471	3,681,051	3,699,921	4,414,542	4,432,187
100	4,215,687	4,265,472	4,927,991	4,985,413	4,020,916	4,039,984	3,894,048	3,901,482	3,989,857	3,999,991	4,769,302	4,795,219

**Tabelul A4.3. Evaluarea statistică a rezultatelor determinării vâscozității pentru formulările cercetate de picături auriculare cu IHF+MU**

T=25							
Parametrii statistici	F-1	F-2	F-3	F-4	F-5	F-6	
n	6	6	6	6	6	6	
X	2724,533	2889,033	2600,200	2657,167	2702,250	2865,350	
95 % CI	Limita de jos	2724,262	2888,412	2600,067	2656,196	2701,545	2864,887
	Limita de sus	2724,804	2889,655	2600,333	2658,137	2702,955	2865,813
SD	0,2582	0,5922	0,1265	0,9245	0,6716	0,4416	
Me	2724,600	2889,000	2600,150	2657,200	2702,350	2865,550	
IQR	0,400	1,000	0,200	1,300	1,200	0,800	
Xmin	2724,1	2888,1	2600,1	2655,7	2701,3	2864,7	
Xmax	2724,8	2889,8	2600,4	2658,5	2702,9	2865,8	
T=37							
n	6	6	6	6	6	6	
X	2698,9100	2754,1350	2514,2783	2497,5017	2564,1883	2622,1767	
95% CI	Limita de jos	2698,8924	2753,1868	2511,0834	2496,3200	2563,5120	2621,4606
	Limita de sus	2698,9276	2755,0832	2517,4733	2498,6833	2564,8647	2622,8927
SD	0,01673	0,90352	3,04447	1,12597	0,64447	0,68234	
Me	2698,9000	2754,1350	2514,1300	2497,6900	2564,1500	2622,1750	
IQR	0,030	2,020	5,640	2,330	0,770	0,990	
Xmin	2698,90	2753,12	2511,11	2496,21	2563,13	2621,32	
Xmax	2698,94	2755,15	2519,13	.498,71	2.565,12	2623,31	

**Tabelul A4.4. Valorile vâscozității la diferite viteze de forfecare (25±0,10C și 37±0,10C) pentru formulările de picături auriculare cu CIP, EC și UVB**

RPM, tur/m in	F1		F2		F3		F4	
	Viscozitate, P		Viscozitate, P		Viscozitate, P		Viscozitate, P	
	25±0,1°C	37±0,1°C	25±0,1°C	37±0,1°C	25±0,1°C	37±0,1°C	25±0,1°C	37±0,1°C
0,3	2912,2	2721,9	3705,9	3354,1	3368,7	3011,1	2303,6	2294,2
0,5	1266,1	1089,4	1704,5	1867,2	1614,3	1001,2	1005,6	800,1
0,6	1005,8	867,7	1300,0	994,2	1235,0	707,1	745,2	498,1
1	524,4	394,1	718,8	522,2	644,5	381,7	359,6	294,1
1,5	314,9	219,8	437,7	291,9	400,2	237,4	235,8	178,1
2	220,3	134,8	313,4	209,2	282,8	133,9	156,7	118,1
2,5	167,0	110,7	239,6	153,1	219,2	119,1	130,6	100,7
3	138,2	100,1	194,0	130,7	177,6	89,9	117,4	88,3
4	105,4	90,2	142,5	99,1	133,6	82,1	71,1	69,1
5	86,1	65,7	113,9	75,2	108,6	57,3	57,6	42,2
6	70,8	49,7	93,2	59,2	88,5	46,1	47,3	35,4
10	42,6	31,5	58,9	36,9	55,5	21,1	29,1	23,9
12	35,3	21,4	47,5	27,8	44,5	16,4	22,3	16,3
20	20,2	12,4	26,8	17,1	25,0	10,2	12,8	9,8
30	12,7	7,6	17,4	11,7	16,1	7,7	7,8	6,9
50	7,7	5,3	10,2	6,9	9,9	3,7	4,8	3,9
60	6,4	4,7	8,1	5,1	8,0	3,1	4,1	3,3
100	3,6	2,7	4,7	3,9	4,7	1,8	2,1	1,6

**Tabelul A4.5. Valorile tensiunii de forfecare la diferite viteze de forfecare pentru formulările de picături auriculare cu CIP, EC și UVB**

T=25					
Parametrii statistici		F-1	F-2	F-3	F-4
n		6	6	6	6
$\bar{X}$		2924,533	3789,033	3300,200	2357,167
95 % CI	Limita de jos	2724,262	2888,412	2600,067	2656,196
	Limita de sus	2724,804	2889,655	2600,333	2658,137
SD		0,2582	0,5922	0,1265	0,9245
Me		2724,600	2889,000	2600,150	2657,200
IQR		0,400	1,000	0,200	1,300
Xmin		2724,1	2888,1	2600,1	2655,7
Xmax		2724,8	2889,8	2600,4	2658,5
T=37					
n		6	6	6	6
$\bar{X}$		2798,9100	3354,1350	3014,2783	2297,5017
95% CI	Limita de jos	2698,8924	2753,1868	2511,0834	2496,3200
	Limita de sus	2698,9276	2755,0832	2517,4733	2498,6833
SD		0,01673	0,90352	3,04447	0,92597
Me		2698,9000	2754,1350	2514,1300	2497,6900
IQR		0,030	2,020	5,640	2,330
Xmin		2698,90	2753,12	2511,11	2496,21
Xmax		2698,94	2755,15	2519,13	.498,71

**Tabelul A4.6. Evaluarea statistică a rezultatelor determinării vâscozității pentru formulările cercetate de picături auriculare cu IHF+MU**

RPM, tur/ min	F1		F2		F3		F4	
	Tensiune de forfecare		Tensiune de forfecare		Tensiune de forfecare		Tensiune de forfecare	
	25±0,1°C	37±0,1°C	25±0,1°C	37±0,1°C	25±0,1°C	37±0,1°C	25±0,1°C	37±0,1°C
0,3	1,6905	1,6825	2,0167	1,9987	1,5608	1,5521	1,5488	1,5336
0,5	1,8319	1,8298	2,1815	2,1737	1,6962	1,6842	1,6796	1,6694
0,6	1,8852	1,8756	2,2436	2,2313	1,7473	1,7364	1,7289	1,7149
1	2,0435	1,9954	2,4271	2,4119	1,8994	1,8879	1,8754	1,8669
1,5	2,1775	2,0814	2,5831	2,5773	2,0286	2,0198	1,9996	1,9847
2	2,2783	2,2617	2,7000	2,6123	2,1259	2,1171	2,0930	2,0843
2,5	2,3597	2,3461	2,7942	2,7818	2,2046	2,1943	2,1684	2,1561
3	2,4283	2,4118	2,8737	2,8654	2,2711	2,2647	2,2321	2,2212
4	2,5408	2,5397	3,0037	2,8954	2,3801	2,3774	2,3364	2,3269
5	2,6315	2,6274	3,1086	3,0149	2,4682	2,4545	2,4206	2,4119
6	2,7081	2,6948	3,1970	3,1845	2,5426	2,5336	2,4916	2,4871
10	2,9347	2,9211	3,4583	3,4419	2,7632	2,7556	2,7020	2,7001
12	3,0201	2,9964	3,5567	3,5417	2,8465	2,8327	2,7814	2,7767
20	3,2728	3,2655	3,8474	3,8331	3,0935	3,0881	3,0163	3,0009
30	3,4883	3,4771	4,0949	4,0846	3,3048	3,2654	3,2167	3,2019
50	3,7802	3,7764	4,4296	4,4113	3,5915	3,5841	3,4884	3,4772
60	3,8901	3,8874	4,5556	4,5487	3,6998	3,6859	3,5908	3,5883
100	4,2156	4,2003	4,9279	4,9147	4,0209	4,0194	3,8940	3,8843



**Tabelul A4.7. Evaluarea statistică a rezultatelor determinării pH-ului pentru formulările cercetate de picături auriculare cu IHF+MU**

Parametrii statistici	Formula 1	Formula 2	Formula 3	Formula 4	Formula 5	Formula 6	
n	6	6	6	6	6	6	
$\bar{X}$	5,8000	5,4600	5,0500	5,1000	5,1800	5,2100	
95% CI	Limita de jos	5,6037	5,3479	4,9258	5,0018	5,1245	5,1320
	Limita de sus	5,9963	5,5721	5,1742	5,1982	5,2355	5,2880
SD	0,15811	0,09028	0,10000	0,07906	0,04472	0,06285	
Me	5,8000	5,4300	5,0000	5,1000	5,1500	5,1800	
IQR	0,30	0,18	0,18	0,15	0,08	0,12	
Xmin;	5,60	5,36	4,95	5,00	5,15	5,15	
Xmax	6,00	5,56	5,20	5,20	5,25	5,30	

**Tabelul A4.8. Evaluarea statistică a rezultatelor determinării pH-ului pentru formulările cercetate de picături auriculare cu CIP+EC+UVB**

Parametrii statistici	Formula 1	Formula 2	Formula 3	Formula 4	
n	6	6	6	6	
$\bar{X}$	5,9000	6,3700	6,0200	5,3000	
95% CI	Limita de jos	5,7037	6,3026	5,9727	5,1479
	Limita de sus	6,0963	6,4374	6,0673	5,4521
SD	0,15811	0,05431	0,03808	0,12247	
Me	5,9000	6,3500	6,0000	5,3000	
IQR	0,30	0,10	0,07	0,20	
Xmin;	5,70	6,32	5,98	5,10	
Xmax	6,10	6,45	6,07	5,40	

**Anexa 5. Cedarea principiilor active din picături auriculare prin membrană semipermeabilă și membrane naturale**

**Tabelul A5.1. Rezultatele cedării MUului și IHFului din picături auriculare prin membrană semipermeabilă**

Timpul, min	IHF, C, %						MU, C, %					
	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F1	F2	F3	F4	F5	F6
5	7,95	8,34	9,34	4,39	2,75	11,07	3,39	7,28	12,37	2,37	9,34	11,37
10	12,11	13,27	9,87	7,34	5,31	12,65	8,34	9,51	12,97	45,14	19,31	24,38
15	1,43	30,28	9,87	9,21	5,94	13,17	9,27	9,27	13,64	44,98	19,21	29,07
20	8,27	54,91	12,39	9,34	9,24	56,27	41,11	33,28	21,37	46,98	20,07	30,17
30	7,29	78,27	19,31	28,36	11,88	58,24	65,34	39,21	20,94	51,27	22,09	37,27
45	0,12	89,31	19,97	42,11	29,29	54,31	77,19	64,29	26,71	50,38	13,79	29,71
60	8,77	89,67	47,19	58,19	33,19	50,97	79,14	69,31	39,33	49,37	58,37	51,37
75	8,22	90,43	58,57	61,34	58,21	50,64	80,66	71,12	41,87	55,97	58,04	62,17
90	8,21	91,72	58,47	60,77	61,17	44,94	89,24	74,27	49,19	60,74	69,87	74,30
105	8,19	92,31	60,73	58,14	66,19	49,87	91,87	84,41	54,37	58,34	66,47	99,17
120	8,11	91,72	64,17	57,12	65,01	50,37	88,27	83,27	55,19	66,12	74,94	108,07

**Tabelul A5.2. Evaluarea statistică a rezultatelor cedării IHFului din picături auriculare prin membrană semipermeabilă**

Cedere IHF membrană						
5 min						
Parametrii statistici	F-1	F-2	F-3	F-4	F-5	F-6
N	6	6	6	6	6	6
$\bar{X}$	7,9500	8,3400	9,3400	4,3900	2,7500	11,0700
95 % CI	Limita de jos	7,9412	8,3312	9,3312	4,3812	2,7412
	Limita de sus	7,9588	8,3488	9,3488	4,3988	2,7588
SD	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707
Me	7,9500	8,3400	9,3400	4,3900	2,7500	11,0700
IQR	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Xmin	7,94	8,33	9,33	4,38	2,74	11,06
Xmax	7,96	8,35	9,35	4,40	2,76	11,08
10 min						
N	6	6	6	6	6	6
$\bar{X}$	12,1100	13,2700	9,8700	7,3400	5,3100	12,6500
95% CI	Limita de jos	12,1012	13,2612	9,8612	7,3312	5,3012
	Limita de sus	12,1188	13,2788	9,8788	7,3488	5,3188
SD	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707
Me	12,1100	13,2700	9,8700	7,3400	5,3100	12,6500
IQR	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Xmin	12,10	13,26	9,86	7,33	5,30	12,64
Xmax	12,12	13,28	9,88	7,35	5,32	12,66
15 min						
N	6	6	6	6	6	6
$\bar{X}$	31,4300	30,2800	9,8760	9,2100	5,9400	13,1700
95% CI	Limita de jos	31,4212	30,2712	9,8649	9,2012	5,9312
	Limita de sus	31,4388	30,2888	9,8871	9,2188	5,9488
SD	0,00707	0,00707	0,00894	0,00707	0,00707	0,00707
Me	31,4300	30,2800	9,8700	9,2100	5,9400	13,1700
IQR	0,01	0,01	0,02	0,01	0,01	0,01
Xmin	31,42	30,27	9,87	9,20	5,93	13,16
Xmax	31,44	30,29	9,89	9,22	5,95	13,18
20 min						
N	6	6	6	6	6	6
$\bar{X}$	58,2700	54,9100	12,3900	9,3400	9,2400	56,2700
95% CI	Limita de jos	58,2612	54,9012	12,3812	9,3312	9,2312
	Limita de sus	58,2788	54,9188	12,3988	9,3488	9,2488
SD	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707
Me	58,2700	54,9100	12,3900	9,3400	9,2400	56,2700
IQR	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Xmin	58,26	54,90	12,38	9,33	9,23	56,26
Xmax	58,28	54,92	12,40	9,35	9,25	56,28

Cedare IHF membrana							
30 min							
N		6	6	6	6	6	
$\bar{X}$		77,2840	78,2700	19,3100	28,3600	11,8800	58,2400
95% CI	Limita de jos	77,2729	78,2612	19,3012	28,3512	11,8712	58,2312
	Limita de sus	77,2951	78,2788	19,3188	28,3688	11,8888	58,2488
SD		0,00894	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707
Me		77,2900	78,2700	19,3100	28,3600	11,8800	58,2400
IQR		0,02	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Xmin		77,27	78,26	19,30	28,35	11,87	58,23
Xmax		77,29	78,28	19,32	28,37	11,89	58,25
45 min							
N		6	6	6	6	6	
$\bar{X}$		90,1200	89,3100	19,9700	42,1100	29,2900	54,3100
95% CI	Limita de jos	90,1112	89,3012	19,9612	42,1012	29,2812	54,3012
	Limita de sus	90,1288	89,3188	19,9788	42,1188	29,2988	54,3188
SD		0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707
Me		90,1200	89,3100	19,9700	42,1100	29,2900	54,3100
IQR		0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Xmin		90,11	89,30	19,96	42,10	29,28	54,30
Xmax		90,13	89,32	19,98	42,12	29,30	54,32
60 min							
N		6	6	6	6	6	
$\bar{X}$		98,7700	89,6700	47,1900	58,1900	33,1900	50,9700
95% CI	Limita de jos	98,7612	89,6612	47,1812	58,1812	33,1812	50,9612
	Limita de sus	98,7788	89,6788	47,1988	58,1988	33,1988	50,9788
SD		0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707
Me		98,7700	89,6700	47,1900	58,1900	33,1900	50,9700
IQR		0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Xmin		98,76	89,66	47,18	58,18	33,18	50,96
Xmax		98,78	89,68	47,20	58,20	33,20	50,98
75 min							
N		6	6	6	6	6	
$\bar{X}$		98,2200	90,4300	58,5700	61,3400	58,2100	50,6400
95% CI	Limita de jos	98,2112	90,4212	58,5612	61,3312	58,2012	50,6312
	Limita de sus	98,2288	90,4388	58,5788	61,3488	58,2188	50,6488
SD		0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707
Me		98,2200	90,4300	58,5700	61,3400	58,2100	50,6400
IQR		0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Xmin		98,21	90,42	58,56	61,33	58,20	50,63
Xmax		98,23	90,44	58,58	61,35	58,22	50,65
105 min							
N		6	6	6	6	6	
$\bar{X}$		98,2100	91,7200	58,4700	60,7700	61,1700	44,9400
95% CI	Limita de jos	98,2012	91,7112	58,4612	60,7612	61,1612	44,9312
	Limita de sus	98,2188	91,7288	58,4788	60,7788	61,1788	44,9488
SD		0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707
Me		98,2100	91,7200	58,4700	60,7700	61,1700	44,9400
IQR		0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Xmin		98,20	91,71	58,46	60,76	61,16	44,93
Xmax		98,22	91,73	58,48	60,78	61,18	44,95
120 min							
n		6	6	6	6	6	
$\bar{X}$		98,1100	91,7200	64,1700	57,1200	65,0100	
95% CI	Limita de jos	98,1012	91,7112	64,1612	57,1112	65,0012	
	Limita de sus	98,1188	91,7288	64,1788	57,1288	65,0188	
SD		0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	
Me		98,1100	91,7200	64,1700	57,1200	65,0100	
IQR		0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	
Xmin		98,10	91,71	64,16	57,11	65,00	
Xmax		98,12	91,73	64,18	57,13	65,02	

**Tabelul A5.3. Evaluarea statistică a rezultatelor cedării MUului din picături auriculare prin membrană semipermeabilă**

Parametrii statistici		F-1	F-2	F-3	F-4	F-5	F-6
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
$\bar{Y}$		3,3900	7,2800	12,3700	2,3700	9,3400	11,3700
95% CI	Limita de jos	3,3812	7,2712	12,3612	2,3612	9,3312	11,3612
	Limita de sus	3,3988	7,2888	12,3788	2,3788	9,3488	11,3788
SD		0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707
Me		3,3900	7,2800	12,3700	2,3700	9,3400	11,3700
IQR		0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Xmin		3,38	7,27	12,36	2,36	9,33	11,36
Xmax		3,40	7,29	12,38	2,38	9,35	11,38
<b>10 min</b>							
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
$\bar{X}$		12,1100	13,2700	9,8700	7,3400	5,3100	12,6500
95% CI	Limita de jos	12,1012	13,2612	9,8612	7,3312	5,3012	12,6412
	Limita de sus	12,1188	13,2788	9,8788	7,3488	5,3188	12,6588
SD		0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707
Me		12,1100	13,2700	9,8700	7,3400	5,3100	12,6500
IQR		0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Xmin		12,10	13,26	9,86	7,33	5,30	12,64
Xmax		12,12	13,28	9,88	7,35	5,32	12,66
<b>15 min</b>							
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
$\bar{X}$		31,4300	30,2800	9,8760	9,2100	5,9400	13,1700
95% CI	Limita de jos	31,4212	30,2712	9,8649	9,2012	5,9312	13,1612
	Limita de sus	31,4388	30,2888	9,8871	9,2188	5,9488	13,1788
SD		0,00707	0,00707	0,00894	0,00707	0,00707	0,00707
Me		31,4300	30,2800	9,8700	9,2100	5,9400	13,1700
IQR		0,01	0,01	0,02	0,01	0,01	0,01
Xmin		31,42	30,27	9,87	9,20	5,93	13,16
Xmax		31,44	30,29	9,89	9,22	5,95	13,18
<b>20 min</b>							
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
$\bar{X}$		58,2700	54,9100	12,3900	9,3400	9,2400	56,2700
95% CI	Limita de jos	58,2612	54,9012	12,3812	9,3312	9,2312	56,2612
	Limita de sus	58,2788	54,9188	12,3988	9,3488	9,2488	56,2788
SD		0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707
Me		58,2700	54,9100	12,3900	9,3400	9,2400	56,2700
IQR		0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Xmin		58,26	54,90	12,38	9,33	9,23	56,26
Xmax		58,28	54,92	12,40	9,35	9,25	56,28
<b>30 min</b>							
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
$\bar{Y}$		77,2840	78,2700	19,3100	28,3600	11,8800	58,2400
95% CI	Limita de jos	77,2729	78,2612	19,3012	28,3512	11,8712	58,2312
	Limita de sus	77,2951	78,2788	19,3188	28,3688	11,8888	58,2488
SD		0,00894	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707
Me		77,2900	78,2700	19,3100	28,3600	11,8800	58,2400
IQR		0,02	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Xmin		77,27	78,26	19,30	28,35	11,87	58,23
Xmax		77,29	78,28	19,32	28,37	11,89	58,25
<b>45 min</b>							
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
$\bar{X}$		90,1200	89,3100	19,9700	42,1100	29,2900	54,3100
95% CI	Limita de jos	90,1112	89,3012	19,9612	42,1012	29,2812	54,3012
	Limita de sus	90,1288	89,3188	19,9788	42,1188	29,2988	54,3188
SD		0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707
Me		90,1200	89,3100	19,9700	42,1100	29,2900	54,3100
IQR		0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Xmin		90,11	89,30	19,96	42,10	29,28	54,30
Xmax		90,13	89,32	19,98	42,12	29,30	54,32

Cedare membrana_MU_ 5 min							
60 min							
n		6	6	6	6	6	6
$\bar{X}$		98,7700	89,6700	47,1900	58,1900	33,1900	50,9700
95% CI	Limita de jos	98,7612	89,6612	47,1812	58,1812	33,1812	50,9612
	Limita de sus	98,7788	89,6788	47,1988	58,1988	33,1988	50,9788
SD		0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,0070
Me		98,7700	89,6700	47,1900	58,1900	33,1900	50,9700
IQR		0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Xmin		98,76	89,66	47,18	58,18	33,18	50,96
Xmax		98,78	89,68	47,20	58,20	33,20	50,98
75 min							
n		6	6	6	6	6	6
$\bar{X}$		98,2200	90,4300	58,5700	61,3400	58,2100	50,6400
95% CI	Limita de jos	98,2112	90,4212	58,5612	61,3312	58,2012	50,6312
	Limita de sus	98,2288	90,4388	58,5788	61,3488	58,2188	50,6488
SD		0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707
Me		98,2200	90,4300	58,5700	61,3400	58,2100	50,6400
IQR		0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Xmin		98,21	90,42	58,56	61,33	58,20	50,63
Xmax		98,23	90,44	58,58	61,35	58,22	50,65
90 min							
n		6	6	6	6	6	6
$\bar{X}$		98,2100	91,7200	58,4700	60,7700	61,1700	44,9400
95% CI	Limita de jos	98,2012	91,7112	58,4612	60,7612	61,1612	44,9312
	Limita de sus	98,2188	91,7288	58,4788	60,7788	61,1788	44,9488
SD		0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707
Me		98,2100	91,7200	58,4700	60,7700	61,1700	44,9400
IQR		0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Xmin		98,20	91,71	58,46	60,76	61,16	44,93
Xmax		98,22	91,73	58,48	60,78	61,18	44,95
105 min							
n		6	6	6	6	6	6
$\bar{X}$		98,1900	92,3100	60,7300	58,1400	66,1900	49,8700
95% CI	Limita de jos	98,1812	92,3012	60,7212	58,1312	66,1812	49,8612
	Limita de sus	98,1988	92,3188	60,7388	58,1488	66,1988	49,8788
SD		0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707
Me		98,1900	92,3100	60,7300	58,1400	66,1900	49,8700
IQR		0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Xmin		98,18	92,30	60,72	58,13	66,18	49,86
Xmax		98,20	92,32	60,74	58,15	66,20	49,88
120 min							
n		6	6	6	6	6	6
$\bar{X}$		98,1100	91,7200	64,1700	57,1200	65,0100	-
95% CI	Limita de jos	98,1012	91,7112	64,1612	57,1112	65,0012	-
	Limita de sus	98,1188	91,7288	64,1788	57,1288	65,0188	-
SD		0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	-
Me		98,1100	91,7200	64,1700	57,1200	65,0100	-
IQR		0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	-
Xmin		98,10	91,71	64,16	57,11	65,00	-
Xmax		98,12	91,73	64,18	57,13	65,02	-

**Tabelul A5.4. Rezultatele cedării MUului și IHFului din picături auriculare prin membrană naturală: intestin de porc**

Timpul, min	IHF, C, %						MU, C, %					
	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F1	F2	F3	F4	F5	F6
5	12.37	4.37	12.37	21.38	2,75	24.33	6.77	7.38	9.47	8.33	8.01	22.39
10	12.85	21.37	9,87	22.37	5,31	23.28	6.99	8.22	11.46	29.29	19,31	24,38
15	14.84	29.23	9,87	21.39	5,94	22.74	10.27	9,27	12.79	33.78	19,21	29,07
20	47.38	46.98	12,39	29.22	9,24	46.39	44.21	33,28	28.37	50.74	22.06	30,17
30	59.74	57.73	19,31	28,36	11,88	58,24	66.66	33,64	33.9	49.28	33,91	33,27
45	79.27	66.87	19,97	42,11	29,29	54,31	79.07	64,29	30.44	5099	33.28	29,71
60	88.07	87.31	47,19	58,19	33,19	50,97	79,14	66.87	39,33	58.31	58,37	49.96
75	89.49	88.19	58,57	61,34	58,21	66.37	81.22	71,12	41,87	66.24	58,04	66.7
90	96.54	88.37	58,47	60,77	61,17	44,94	89,24	77.31	50.88	77.09	69,87	69.31
105	98.13	87.68	60,73	58,14	66,19	57.39	90.87	84,41	54,37	64.39	68.31	74.01
120	94.21	92.11	64,17	57,12	65,01	50,37	90.01	80.12	61.68	66.01	67.04	81.39

**Tabelul A5.5. Evaluarea statistică a rezultatelor cedării IHFului din picături auriculare prin membrană naturală: intestin de porc**

Cedare_int_IHF_5 min						
Parametrii statistici	F-1	F-2	F-3	F-4	F-5	F-6
n	6	6	6	6	6	6
$\bar{X}$	12,3700	4,3700	12,3700	21,3800	2,7500	24,3300
95% CI	12,3612	4,3612	12,3612	21,3712	2,7412	24,3212
Limita de jos	12,3788	4,3788	12,3788	21,3888	2,7588	24,3388
Limita de sus	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707
SD	12,3700	4,3700	12,3700	21,3800	2,7500	24,3300
Me	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
IQR	12,36	4,36	12,36	21,37	2,74	24,32
Xmin	12,38	4,38	12,38	21,39	2,76	24,34
Xmax	10 min					
n	6	6	6	6	6	6
$\bar{X}$	12,8500	21,3700	9,8700	22,3700	5,3100	23,2800
95% CI	12,8412	21,3612	9,8612	22,3612	5,3012	23,2712
Limita de jos	12,8588	21,3788	9,8788	22,3788	5,3188	23,2888
Limita de sus	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707
SD	12,8500	21,3700	9,8700	22,3700	5,3100	23,2800
Me	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
IQR	12,84	21,36	9,86	22,36	5,30	23,27
Xmin	12,86	21,38	9,88	22,38	5,32	23,29
Xmax	15 min					
n	6	6	6	6	6	6
$\bar{X}$	14,8400	29,2300	9,8700	21,3900	5,9400	22,7400
95% CI	14,8312	29,2212	9,8612	21,3812	5,9312	22,7312
Limita de jos	14,8488	29,2388	9,8788	21,3988	5,9488	22,7488
Limita de sus	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707
SD	14,8400	29,2300	9,8700	21,3900	5,9400	22,7400
Me	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
IQR	14,83	29,22	9,86	21,38	5,93	22,73
Xmin	14,85	29,24	9,88	21,40	5,95	22,75
Xmax	20 min					
n	6	6	6	6	6	6
$\bar{X}$	47,3800	46,9800	12,3900	29,2200	9,2400	46,3900
95% CI	47,3712	46,9712	12,3812	29,2112	9,2312	46,3812
Limita de jos	47,3888	46,9888	12,3988	29,2288	9,2488	46,3988
Limita de sus	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707
SD	47,3800	46,9800	12,3900	29,2200	9,2400	46,3900
Me	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
IQR	47,37	46,97	12,38	29,21	9,23	46,38
Xmin	47,39	46,99	12,40	29,23	9,25	46,40
Xmax	30 min					
n	6	6	6	6	6	6
$\bar{X}$	59,7400	57,7360	19,3100	28,3600	11,8800	58,2400

Cedare_int_IHF_5 min							
95	Limita de jos	59,7312	57,7118	19,3012	28,3512	11,8712	58,2312
%CI	Limita de sus	59,7488	57,7602	19,3188	28,3688	11,8888	58,2488
SD		0,00707	0,01949	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707
Me		59,7400	57,7300	19,3100	28,3600	11,8800	58,2400
IQR		0,01	0,03	0,01	0,01	0,01	0,01
Xmin		59,73	57,72	19,30	28,35	11,87	58,23
Xmax		59,75	57,77	19,32	28,37	11,89	58,25
45 min							
n		6	6	6	6	6	6
$\bar{X}$		79,2700	66,8700	19,9700	42,1100	29,2900	54,3100
95	Limita de jos	79,2612	66,8612	19,9612	42,1012	29,2812	54,3012
%CI	Limita de sus	79,2788	66,8788	19,9788	42,1188	29,2988	54,3188
SD		0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707
Me		79,2700	66,8700	19,9700	42,1100	29,2900	54,3100
IQR		0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Xmin		79,26	66,86	19,96	42,10	29,28	54,30
Xmax		79,28	66,88	19,98	42,12	29,30	54,32
60 min							
n		6	6	6	6	6	6
$\bar{X}$		88,0700	87,3100	47,1740	58,1900	33,1900	50,9700
95	Limita de jos	88,0612	87,3012	47,1361	58,1812	33,1812	50,9612
%CI	Limita de sus	88,0788	87,3188	47,2119	58,1988	33,1988	50,9788
SD		0,00707	0,00707	0,03050	0,00707	0,00707	0,00707
Me		88,0700	87,3100	47,1900	58,1900	33,1900	50,9700
IQR		0,01	0,01	0,04	0,01	0,01	0,01
Xmin		88,06	87,30	47,12	58,18	33,18	50,96
Xmax		88,08	87,32	47,19	58,20	33,20	50,98
75 min							
n		6	6	6	6	6	6
$\bar{X}$		89,4900	88,1900	58,5700	61,3400	58,2100	66,3700
95	Limita de jos	89,4812	88,1812	58,5612	61,3312	58,2012	66,3612
%CI	Limita de sus	89,4988	88,1988	58,5788	61,3488	58,2188	66,3788
SD		0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707
Me		89,4900	88,1900	58,5700	61,3400	58,2100	66,3700
IQR		0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Xmin		89,48	88,18	58,56	61,33	58,20	66,36
Xmax		89,50	88,20	58,58	61,35	58,22	66,38
90 min							
n		6	6	6	6	6	6
$\bar{X}$		96,5400	88,3700	58,4700	60,7700	61,1700	44,9400
95	Limita de jos	96,5312	88,3612	58,4612	60,7612	61,1612	44,9312
%CI	Limita de sus	96,5488	88,3788	58,4788	60,7788	61,1788	44,9488
SD		0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707
Me		96,5400	88,3700	58,4700	60,7700	61,1700	44,9400
IQR		0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Xmin		96,53	88,36	58,46	60,76	61,16	44,93
Xmax		96,55	88,38	58,48	60,78	61,18	44,95
105 min							
n		6	6	6	6	6	6
$\bar{X}$		98,1300	87,6800	60,7300	58,1400	66,1900	57,3900
95	Limita de jos	98,1212	87,6712	60,7212	58,1312	66,1812	57,3812
%CI	Limita de sus	98,1388	87,6888	60,7388	58,1488	66,1988	57,3988
SD		0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707
Me		98,1300	87,6800	60,7300	58,1400	66,1900	57,3900
IQR		0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Xmin		98,12	87,67	60,72	58,13	66,18	57,38
Xmax		98,14	87,69	60,74	58,15	66,20	57,40
120 min							
n		6	6	6	6	6	6
$\bar{X}$		94,2100	92,1100	64,1700	57,1200	65,0100	50,3700
95	Limita de jos	94,2012	92,1012	64,1612	57,1112	65,0012	50,3612
%CI	Limita de sus	94,2188	92,1188	64,1788	57,1288	65,0188	50,3788
SD		0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707
Me		94,2100	92,1100	64,1700	57,1200	65,0100	50,3700
IQR		0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Xmin		94,20	92,10	64,16	57,11	65,00	50,36
Xmax		94,22	92,12	64,18	57,13	65,02	50,38

**Tabelul A5.6. Evaluarea statistică a rezultatelor cedării MUului din picături auriculare prin membrană naturală: intestin de porc**

Cedere intestin MU_5 min							
Parametrii statistici	F-1	F-2	F-3	F-4	F-5	F-6	
<b>n</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	
$\bar{X}$	6,7700	7,3800	9,4700	8,3300	8,0100	22,3900	
95 % CI	Limita de jos	6,7612	7,3712	9,4612	8,3212	8,0012	22,3812
	Limita de sus	6,7788	7,3888	9,4788	8,3388	8,0188	22,3988
SD	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	
Me	6,7700	7,3800	9,4700	8,3300	8,0100	22,3900	
IQR	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	
Xmin	6,76	7,37	9,46	8,32	8,00	22,38	
Xmax	6,78	7,39	9,48	8,34	8,02	22,40	
10 min							
<b>n</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	
$\bar{X}$	6,9900	8,2200	11,4600	29,2900	19,3100	24,3800	
95 % CI	Limita de jos	6,9812	8,2112	11,4512	29,2812	19,3012	24,3712
	Limita de sus	6,9988	8,2288	11,4688	29,2988	19,3188	24,3888
SD	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	
Me	6,9900	8,2200	11,4600	29,2900	19,3100	24,3800	
IQR	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	
Xmin	6,98	8,21	11,45	29,28	19,30	24,37	
Xmax	7,00	8,23	11,47	29,30	19,32	24,39	
15 min							
<b>n</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	
$\bar{X}$	10,2700	9,2700	12,7900	33,7800	19,2100	29,0700	
95 % CI	Limita de jos	10,2612	9,2612	12,7812	33,7712	19,2012	29,0612
	Limita de sus	10,2788	9,2788	12,7988	33,7888	19,2188	29,0788
SD	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	
Me	10,2700	9,2700	12,7900	33,7800	19,2100	29,0700	
IQR	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	
Xmin	10,26	9,26	12,78	33,77	19,20	29,06	
Xmax	10,28	9,28	12,80	33,79	19,22	29,08	
20 min							
<b>n</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	
$\bar{X}$	44,2100	33,2800	28,3700	50,7400	22,0600	30,1700	
95 % CI	Limita de jos	44,2012	33,2712	28,3612	50,7312	22,0512	30,1612
	Limita de sus	44,2188	33,2888	28,3788	50,7488	22,0688	30,1788
SD	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	
Me	44,2100	33,2800	28,3700	50,7400	22,0600	30,1700	
IQR	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	
Xmin	44,20	33,27	28,36	50,73	22,05	30,16	
Xmax	44,22	33,29	28,38	50,75	22,07	30,18	
30 min							
<b>n</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	
$\bar{X}$	66,6600	33,6400	33,9000	49,2800	33,9100	33,2700	
95 % CI	Limita de jos	66,6512	33,6312	33,8912	49,2712	33,9012	33,2612
	Limita de sus	66,6688	33,6488	33,9088	49,2888	33,9188	33,2788
SD	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	
Me	66,6600	33,6400	33,9000	49,2800	33,9100	33,2700	
IQR	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	
Xmin	66,65	33,63	33,89	49,27	33,90	33,26	
Xmax	66,67	33,65	33,91	49,29	33,92	33,28	
45 min							
<b>n</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	
$\bar{X}$	79,0700	64,2900	30,4400	50,9900	33,2800	29,7100	
95 % CI	Limita de jos	79,0612	64,2812	30,4312	50,9812	33,2712	29,7012
	Limita de sus	79,0788	64,2988	30,4488	50,9988	33,2888	29,7188
SD	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	
Me	79,0700	64,2900	30,4400	50,9900	33,2800	29,7100	
IQR	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	
Xmin	79,06	64,28	30,43	50,98	33,27	29,70	



<b>Cedare_intestin_MU_5 min</b>							
<b>Xmax</b>		79,08	64,30	30,45	51,00	33,29	29,72
<b>60 min</b>							
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
$\bar{X}$		79,1400	66,8700	39,3300	58,3100	58,3700	49,9600
<b>95 % CI</b>	<b>Limita de jos</b>	79,1312	66,8612	39,3212	58,3012	58,3612	49,9512
	<b>Limita de sus</b>	79,1488	66,8788	39,3388	58,3188	58,3788	49,9688
<b>SD</b>		0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707
<b>Me</b>		79,1400	66,8700	39,3300	58,3100	58,3700	49,9600
<b>IQR</b>		0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
<b>Xmin</b>		79,13	66,86	39,32	58,30	58,36	49,95
<b>Xmax</b>		79,15	66,88	39,34	58,32	58,38	49,97
<b>75 min</b>							
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
$\bar{X}$		81,2200	66,8600	41,8700	66,2400	58,0400	66,7000
<b>95 % CI</b>	<b>Limita de jos</b>	81,2112	66,8512	41,8612	66,2312	58,0312	66,6912
	<b>Limita de sus</b>	81,2288	66,8688	41,8788	66,2488	58,0488	66,7088
<b>SD</b>		0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707
<b>Me</b>		81,2200	66,8600	41,8700	66,2400	58,0400	66,7000
<b>IQR</b>		0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
<b>Xmin</b>		81,21	66,85	41,86	66,23	58,03	66,69
<b>Xmax</b>		81,23	66,87	41,88	66,25	58,05	66,71
<b>90 min</b>							
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
$\bar{X}$		89,2400	77,3100	50,8800	77,0900	69,8700	69,3100
<b>95 % CI</b>	<b>Limita de jos</b>	89,2312	77,3012	50,8712	77,0812	69,8612	69,3012
	<b>Limita de sus</b>	89,2488	77,3188	50,8888	77,0988	69,8788	69,3188
<b>SD</b>		0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707
<b>Me</b>		89,2400	77,3100	50,8800	77,0900	69,8700	69,3100
<b>IQR</b>		0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
<b>Xmin</b>		89,23	77,30	50,87	77,08	69,86	69,30
<b>Xmax</b>		89,25	77,32	50,89	77,10	69,88	69,32
<b>105 min</b>							
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
$\bar{X}$		90,8700	84,4100	54,3700	64,3900	68,3100	74,0100
<b>95 % CI</b>	<b>Limita de jos</b>	90,8612	84,4012	54,3612	64,3812	68,3012	74,0012
	<b>Limita de sus</b>	90,8788	84,4188	54,3788	64,3988	68,3188	74,0188
<b>SD</b>		0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707
<b>Me</b>		90,8700	84,4100	54,3700	64,3900	68,3100	74,0100
<b>IQR</b>		0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
<b>Xmin</b>		90,86	84,40	54,36	64,38	68,30	74,00
<b>Xmax</b>		90,88	84,42	54,38	64,40	68,30	74,02
<b>120 min</b>							
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
$\bar{X}$		90,0100	80,1200	61,6800	66,0100	67,0400	81,3900
<b>95 % CI</b>	<b>Limita de jos</b>	90,0012	80,1112	61,6712	66,0012	67,0312	81,3812
	<b>Limita de sus</b>	90,0188	80,1288	61,6888	66,0188	67,0488	81,3988
<b>SD</b>		0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707
<b>Me</b>		90,0100	80,1200	61,6800	66,0100	67,0400	81,3900
<b>IQR</b>		0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
<b>Xmin</b>		90,00	80,11	61,67	66,00	67,03	81,38
<b>Xmax</b>		90,02	80,13	61,69	66,02	67,05	81,40

**Tabelul A5.7. Rezultatele cedării MU și IHF din picături auriculare prin membrană naturală: ureche de porc**

Timpul, min	IHF, C, %						MU, C, %					
	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F1	F2	F3	F4	F5	F6
5	9.33	2.39	3.27	22.39	2.59	17.09	3.33	5.25	2.37	3.33	3.97	12.39
10	10.64	21.37	5.29	22.38	2.97	19.27	9.28	5.96	3.99	5.69	9.67	12.48
15	15.39	29.23	5.67	21.39	3.01	20.27	9.99	9.21	5.29	7.59	14.37	12.98
20	33.28	42.01	6.38	29.22	8.38	22.97	39.57	10.27	9.37	11.27	21.21	21.31
30	50.01	43.96	29.37	28.36	9.33	44.79	67.11	29.89	27.28	29.18	25.29	29.28
45	77.58	66.87	36.38	44.87	33.28	49.68	76.99	47.17	34.29	34.39	34.69	36.34
60	79.36	56.38	39.39	49.98	33.99	50.29	77.99	49.27	39.33	48.28	39.24	44.82
75	81.12	80.14	37.99	61.34	44.37	55.37	84.27	51.28	41.87	49.34	44.21	49.39
90	83.01	80.28	58.97	59.27	58.08	55.97	85.96	55.25	50.88	59.27	46.27	56.28
105	88.27	79.39	58.37	58.14	59.37	57.39	89.31	59.28	54.37	59.27	58.21	54.39
120	90.02	79.34	64.17	66.36	66.12	54.81	90.12	58.14	62.01	61.28	51.21	59.27

**Tabelul A5.8. Evaluarea statistică a rezultatelor cedării IHF din picături auriculare prin membrană naturală: ureche de porc**

Cedare_ureche_IHF_5 min						
Parametrii statistici	F-1	F-2	F-3	F-4	F-5	F-6
n	6	6	6	6	6	6
$\bar{X}$	9,3300	2,3900	3,2700	22,3900	2,5900	17,0900
95% CI	Limita de jos 9,3212	2,3812	3,2612	22,3812	2,5812	17,0812
	Limita de sus 9,3388	2,3988	3,2788	22,3988	2,5988	17,0988
SD	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707
Me	9,3300	2,3900	3,2700	22,3900	2,5900	17,0900
IQR	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Xmin	9,32	2,38	3,26	22,38	2,58	17,08
Xmax	9,34	2,40	3,28	22,40	2,60	17,10
<b>10 min</b>						
n	6	6	6	6	6	6
$\bar{X}$	10,6400	21,3700	5,2840	22,3800	2,9700	19,2700
95% CI	Limita de jos 10,6312	21,3612	5,2729	22,3712	2,9612	19,2612
	Limita de sus 10,6488	21,3788	5,2951	22,3888	2,9788	19,2788
SD	0,00707	0,00707	0,00894	0,00707	0,00707	0,00707
Me	10,6400	21,3700	5,2900	22,3800	2,9700	19,2700
IQR	0,01	0,01	0,02	0,01	0,01	0,01
Xmin	10,63	21,36	5,27	22,37	2,96	19,26
Xmax	10,65	21,38	5,29	22,39	2,98	19,28
<b>15 min</b>						
n	6	6	6	6	6	6
$\bar{X}$	15,3900	29,2300	5,6700	21,3900	3,0100	20,2700
95% CI	Limita de jos 15,3812	29,2212	5,6612	21,3812	3,0012	20,2612
	Limita de sus 15,3988	29,2388	5,6788	21,3988	3,0188	20,2788
SD	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707
Me	15,3900	29,2300	5,6700	21,3900	3,0100	20,2700
IQR	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Xmin	15,38	29,22	5,66	21,38	3,00	20,26
Xmax	15,40	29,24	5,68	21,40	3,02	20,28
<b>20 min</b>						
n	6	6	6	6	6	6
$\bar{X}$	33,2800	42,0100	6,3800	29,2200	8,3800	22,9700
95% CI	Limita de jos 33,2712	42,0012	6,3712	29,2112	8,3712	22,9612
	Limita de sus 33,2888	42,0188	6,3888	29,2288	8,3888	22,9788
SD	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707
Me	33,2800	42,0100	6,3800	29,2200	8,3800	22,9700
IQR	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Xmin	33,27	42,00	6,37	29,21	8,37	22,96
Xmax	33,29	42,02	6,39	29,23	8,39	22,98

Cedare_uereche_IHF_5 min							
30 min							
n		6	6	6	6	6	
	$\bar{X}$	50,0100	43,9600	29,3700	28,3600	9,3300	44,7900
95% CI	Limita de jos	50,0012	43,9512	29,3612	28,3512	9,3212	44,7812
	Limita de sus	50,0188	43,9688	29,3788	28,3688	9,3388	44,7988
	SD	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707
	Me	50,0100	43,9600	29,3700	28,3600	9,3300	44,7900
	IQR	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
	Xmin	50,00	43,95	29,36	28,35	9,32	44,78
	Xmax	50,02	43,97	29,38	28,37	9,34	44,80
45 min							
n		6	6	6	6	6	
	$\bar{X}$	77,5800	66,8700	36,3800	44,8700	33,2800	49,6800
95% CI	Limita de jos	77,5712	66,8612	36,3712	44,8612	33,2712	49,6712
	Limita de sus	77,5888	66,8788	36,3888	44,8788	33,2888	49,6888
	SD	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707
	Me	77,5800	66,8700	36,3800	44,8700	33,2800	49,6800
	IQR	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
	Xmin	77,57	66,86	36,37	44,86	33,27	49,67
	Xmax	77,59	66,88	36,39	44,88	33,29	49,69
60 min							
n		6	6	6	6	6	
	$\bar{X}$	79,3600	56,3800	39,3900	49,9800	33,9900	50,2900
95% CI	Limita de jos	79,3512	56,3712	39,3812	49,9712	33,9812	50,2812
	Limita de sus	79,3688	56,3888	39,3988	49,9888	33,9988	50,2988
	SD	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707
	Me	79,3600	56,3800	39,3900	49,9800	33,9900	50,2900
	IQR	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
	Xmin	79,35	56,37	39,38	49,97	33,98	50,28
	Xmax	79,37	56,39	39,40	49,99	34,00	50,30
75 min							
n		6	6	6	6	6	
	$\bar{X}$	81,1200	80,1400	37,9900	61,3400	44,3700	55,3700
95% CI	Limita de jos	81,1112	80,1312	37,9812	61,3312	44,3612	55,3612
	Limita de sus	81,1288	80,1488	37,9988	61,3488	44,3788	55,3788
	SD	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707
	Me	81,1200	80,1400	37,9900	61,3400	44,3700	55,3700
	IQR	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
	Xmin	81,11	80,13	37,98	61,33	44,36	55,36
	Xmax	81,13	80,15	38,00	61,35	44,38	55,38
90 min							
n		6	6	6	6	6	
	$\bar{X}$	83,0100	80,2800	58,9700	59,2700	58,0800	55,9700
95% CI	Limita de jos	83,0012	80,2712	58,9612	59,2612	58,0712	55,9612
	Limita de sus	83,0188	80,2888	58,9788	59,2788	58,0888	55,9788
	SD	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707
	Me	83,0100	80,2800	58,9700	59,2700	58,0800	55,9700
	IQR	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
	Xmin	83,00	80,27	58,96	59,26	58,07	55,96
	Xmax	83,02	80,29	58,98	59,28	58,09	55,98
105 min							
n		6	6	6	6	6	
	$\bar{X}$	88,2700	79,3900	58,3700	58,1400	59,3700	57,3900
95% CI	Limita de jos	88,2612	79,3812	58,3612	58,1312	59,3612	57,3812
	Limita de sus	88,2788	79,3988	58,3788	58,1488	59,3788	57,3988
	SD	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707
	Me	88,2700	79,3900	58,3700	58,1400	59,3700	57,3900
	IQR	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
	Xmin	88,26	79,38	58,36	58,13	59,36	57,38
	Xmax	88,28	79,40	58,38	58,15	59,38	57,40
120 min							
n		6	6	6	6	6	
	$\bar{X}$	90,0200	79,3400	64,1700	66,3600	66,1200	54,8100
95% CI	Limita de jos	90,0112	79,3312	64,1612	66,3512	66,1112	54,8012
	Limita de sus	90,0288	79,3488	64,1788	66,3688	66,1288	54,8188
	SD	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707
	Me	90,0200	79,3400	64,1700	66,3600	66,1200	54,8100
	IQR	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
	Xmin	90,01	79,33	64,16	66,35	66,11	54,80
	Xmax	90,03	79,35	64,18	66,37	66,13	54,82

**Tabelul A5.9. Evaluarea statistică a rezultatelor cedării MU din picături auriculare prin membrană naturală: ureche de porc**

Cedare_ureche_MU_ 5 min							
Parametrii statistici		F-1	F-2	F-3	F-4	F-5	F-6
n		6	6	6	6	6	6
$\bar{X}$		3,3300	5,2500	2,3700	3,3300	3,9700	12,3900
95 % CI	Limita de jos	3,3212	5,2412	2,3612	3,3212	3,9612	12,3812
	Limita de sus	3,3388	5,2588	2,3788	3,3388	3,9788	12,3988
SD		0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707
Me		3,3300	5,2500	2,3700	3,3300	3,9700	12,3900
IQR		0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Xmin		3,32	5,24	2,36	3,32	3,96	12,38
Xmax		3,34	5,26	2,38	3,34	3,98	12,40
10 min							
n		6	6	6	6	6	6
$\bar{X}$		9,2800	5,9600	3,9900	5,6900	9,6700	12,4800
95 % CI	Limita de jos	9,2712	5,9512	3,9812	5,6812	9,6612	12,4712
	Limita de sus	9,2888	5,9688	3,9988	5,6988	9,6788	12,4888
SD		0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707
Me		9,2800	5,9600	3,9900	5,6900	9,6700	12,4800
IQR		0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Xmin		9,27	5,95	3,98	5,68	9,66	12,47
Xmax		9,29	5,97	4,00	5,70	9,68	12,49
15 min							
n		6	6	6	6	6	6
$\bar{X}$		9,9900	9,2100	5,2900	7,5900	14,3700	12,9800
95 % CI	Limita de jos	9,9812	9,2012	5,2812	7,5812	14,3612	12,9712
	Limita de sus	9,9988	9,2188	5,2988	7,5988	14,3788	12,9888
SD		0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707
Me		9,9900	9,2100	5,2900	7,5900	14,3700	12,9800
IQR		0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Xmin		9,98	9,20	5,28	7,58	14,36	12,97
Xmax		10,00	9,22	5,30	7,60	14,38	12,97
20 min							
n		6	6	6	6	6	6
$\bar{X}$		39,5700	10,2700	9,3720	11,2720	21,2100	21,3080
95 % CI	Limita de jos	39,5612	10,2612	9,3584	11,2584	21,2012	21,3024
	Limita de sus	39,5788	10,2788	9,3856	11,2856	21,2188	21,3136
SD		0,00707	0,00707	0,01095	0,01095	0,00707	0,00447
Me		39,5700	10,2700	9,3700	11,2700	21,2100	21,3100
IQR		0,01	0,01	0,02	0,02	0,01	0,01
Xmin		39,56	10,26	9,36	11,26	21,20	21,30
Xmax		39,58	10,28	9,39	11,29	21,22	21,31
30 min							
n		6	6	6	6	6	6
$\bar{X}$		67,1100	29,8900	27,2800	29,1800	25,2900	29,2800
95 % CI	Limita de jos	67,1012	29,8812	27,2712	29,1712	25,2812	29,2712
	Limita de sus	67,1188	29,8988	27,2888	29,1888	25,2988	29,2888
SD		0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707
Me		67,1100	29,8900	27,2800	29,1800	25,2900	29,2800
IQR		0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Xmin		67,10	29,88	27,27	29,17	25,28	29,27
Xmax		67,12	29,90	27,29	29,19	25,30	29,29
45 min							
n		6	6	6	6	6	6
$\bar{X}$		77,1900	64,2900	26,7100	50,3800	13,7900	29,7100
95 % CI	Limita de jos	77,1812	64,2812	26,7012	50,3712	13,7812	29,7012
	Limita de sus	77,1988	64,2988	26,7188	50,3888	13,7988	29,7188
SD		0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707
Me		77,1900	64,2900	26,7100	50,3800	13,7900	29,7100
IQR		0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01

Cedare_ureche_MU_ 5 min							
<b>Xmin</b>		77,18	64,28	26,70	50,37	13,78	29,70
<b>Xmax</b>		77,20	64,30	26,72	50,39	13,80	29,72
<b>60 min</b>							
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
$\bar{X}$		79,1400	69,3100	39,3300	49,3700	58,3700	51,3700
<b>95 % CI</b>	<b>Limita de jos</b>	79,1312	69,3012	39,3212	49,3612	58,3612	51,3612
	<b>Limita de sus</b>	79,1488	69,3188	39,3388	49,3788	58,3788	51,3788
<b>SD</b>		0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707
<b>Me</b>		79,1400	69,3100	39,3300	49,3700	58,3700	51,3700
<b>IQR</b>		0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
<b>Xmin</b>		79,13	69,30	39,32	49,36	58,36	51,36
<b>Xmax</b>		79,15	69,32	39,34	49,38	58,38	51,38
<b>75 min</b>							
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
$\bar{X}$		80,6600	71,1200	41,8700	55,9700	58,0400	62,1700
<b>95 % CI</b>	<b>Limita de jos</b>	80,6512	71,1112	41,8612	55,9612	58,0312	62,1612
	<b>Limita de sus</b>	80,6688	71,1288	41,8788	55,9788	58,0488	62,1788
<b>SD</b>		0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707
<b>Me</b>		80,6600	71,1200	41,8700	55,9700	58,0400	62,1700
<b>IQR</b>		0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
<b>Xmin</b>		80,65	71,11	41,86	55,96	58,03	62,16
<b>Xmax</b>		80,67	71,13	41,88	55,98	58,05	62,18
<b>90 min</b>							
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
$\bar{X}$		89,2400	74,2700	49,1900	60,7400	69,8700	74,3000
<b>95 % CI</b>	<b>Limita de jos</b>	89,2312	74,2612	49,1812	60,7312	69,8612	74,2912
	<b>Limita de sus</b>	89,2488	74,2788	49,1988	60,7488	69,8788	74,3088
<b>SD</b>		0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707
<b>Me</b>		89,2400	74,2700	49,1900	60,7400	69,8700	74,3000
<b>IQR</b>		0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
<b>Xmin</b>		89,23	74,26	49,18	60,73	69,86	74,29
<b>Xmax</b>		89,25	74,28	49,20	60,75	69,88	74,31
<b>105 min</b>							
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
$\bar{X}$		91,8700	84,4100	54,3700	58,3400	66,4700	99,1700
<b>95 % CI</b>	<b>Limita de jos</b>	91,8612	84,4012	54,3612	58,3312	66,4612	99,1612
	<b>Limita de sus</b>	91,8788	84,4188	54,3788	58,3488	66,4788	99,1788
<b>SD</b>		0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707	0,00707
<b>Me</b>		91,8700	84,4100	54,3700	58,3400	66,4700	99,1700
<b>IQR</b>		0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
<b>Xmin</b>		91,86	84,40	54,36	58,33	66,46	99,16
<b>Xmax</b>		91,88	84,42	54,38	58,35	66,48	99,18
<b>120 min</b>							
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
$\bar{X}$		88,2700	83,2700	55,1900	66,1220	74,9400	108,0700
<b>95 % CI</b>	<b>Limita de jos</b>	88,2612	83,2612	55,1812	66,1084	74,9312	108,0612
	<b>Limita de sus</b>	88,2788	83,2788	55,1988	66,1356	74,9488	108,0788
<b>SD</b>		0,00707	0,00707	0,00707	0,01095	0,00707	0,00707
<b>Me</b>		88,2700	83,2700	55,1900	66,1200	74,9400	108,0700
<b>IQR</b>		0,01	0,01	0,01	0,02	0,01	0,01
<b>Xmin</b>		88,26	83,26	55,18	66,11	74,93	108,06
<b>Xmax</b>		88,28	83,28	55,20	66,14	74,95	108,08

**Tabelul A5.10. Rezultatele cedării clorhidratului de CIP și nitrului de EC din picături auriculare prin membrană semipermeabilă**

Timpul, min	CIP	CIP	CIP	CIP	EC	EC	EC	EC
	F1	F2	F3	F4	F1	F2	F3	F4
5	32.25	22.73	11.54	<b>15.13</b>	24.13	59.21	36.28	<b>66.89</b>
10	33.64	23.47	15.39	<b>20.52</b>	29.24	59.88	39.27	<b>68.53</b>
15	39.26	25.84	19.01	<b>29.91</b>	31.54	64.12	41.29	<b>69.99</b>
20	39.99	31.47	28.47	<b>33.94</b>	48.14	69.13	51.07	<b>71.34</b>
20	38.24	31.74	31.12	<b>56.32</b>	49.28	69.27	69.24	<b>73.82</b>
45	38.01	30.45	46.28	<b>62.3</b>	51.37	61.58	69.84	<b>80.21</b>
60	36.12	31.76	51.37	<b>74.83</b>	52.48	61.48	69.99	<b>80.37</b>
75	35.378	30.68	52.18	<b>79.95</b>	64.38	60.39	70.27	<b>81.23</b>
90	35.69	30.01	54.06	<b>80.12</b>	63.27	60.56	70.94	<b>84.12</b>
105	36.29	30.14	55.04	<b>82.07</b>	63.01	61.01	71.84	<b>84.66</b>
120	35.98	30.56	55.01	<b>82.11</b>	60.838	60.94	70.99	<b>84.69</b>

**Tabelul A5.11. Evaluarea statistică a rezultatelor cedării clorhidratului de CIP din picături auriculare prin membrană semipermeabilă**

Cedare_CIP Membrana_ 5 min					
Parametrii statistici		F-1	F-2	F-3	F-4
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>X</b>		32,2500	22,7300	11,5400	15,1300
<b>95 %</b>	<b>Limita de jos</b>	32,2412	22,7104	11,5204	15,1104
<b>CI</b>	<b>Limita de sus</b>	32,2588	22,7496	11,5596	15,1496
<b>SD</b>		0,00707	0,01581	0,01581	0,01581
<b>Me</b>		32,2500	22,7300	11,5400	15,1300
<b>IQR</b>		0,01	0,03	0,03	0,03
<b>Xmin</b>		32,24	22,71	11,52	15,11
<b>Xmax</b>		32,26	22,75	11,56	15,15
10 min					
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>X</b>		33,6400	23,4700	15,3900	20,5200
<b>95 %</b>	<b>Limita de jos</b>	33,6204	23,4504	15,3704	20,5004
<b>CI</b>	<b>Limita de sus</b>	33,6596	23,4896	15,4096	20,5396
<b>SD</b>		0,01581	0,01581	0,01581	0,01581
<b>Me</b>		33,6400	23,4700	15,3900	20,5200
<b>IQR</b>		0,03	0,03	0,03	0,03
<b>Xmin</b>		33,62	23,45	15,37	20,50
<b>Xmax</b>		33,66	23,49	15,41	20,54
15 min					
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>X</b>		39,2600	25,8400	19,0100	29,9100
<b>95 %</b>	<b>Limita de jos</b>	39,2404	25,8204	18,9976	29,8904
<b>CI</b>	<b>Limita de sus</b>	39,2796	25,8596	19,0224	29,9296
<b>SD</b>		0,01581	0,01581	0,01000	0,01581
<b>Me</b>		39,2600	25,8400	19,0100	29,9100
<b>IQR</b>		0,03	0,03	0,02	0,03
<b>Xmin</b>		39,24	25,82	19,00	29,89
<b>Xmax</b>		39,28	25,86	19,02	29,93
20 min					
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>X</b>		39,9900	31,4700	28,4700	33,9400
<b>95 %</b>	<b>Limita de jos</b>	39,9704	31,4504	28,4612	33,9204
<b>CI</b>	<b>Limita de sus</b>	40,0096	31,4896	28,4788	33,9596

<b>Cedare_CIP Membrana_ 5 min</b>					
<b>SD</b>		0,01581	0,01581	0,00707	0,01581
<b>Me</b>		39,9900	31,4700	28,4700	33,9400
<b>IQR</b>		0,03	0,03	0,01	0,03
<b>Xmin</b>		39,97	31,45	28,46	33,92
<b>Xmax</b>		40,01	31,49	28,48	33,96
<b>30 min</b>					
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>X</b>		38,2400	31,7400	31,1200	56,3200
<b>95 %</b>	<b>Limita de jos</b>	38,2204	31,7276	31,1004	56,3004
<b>CI</b>	<b>Limita de sus</b>	38,2596	31,7524	31,1396	56,3396
<b>SD</b>		0,01581	0,01000	0,01581	0,01581
<b>Me</b>		38,2400	31,7400	31,1200	56,3200
<b>IQR</b>		0,03	0,02	0,03	0,03
<b>Xmin</b>		38,22	31,73	31,10	56,30
<b>Xmax</b>		38,26	31,75	31,14	56,34
<b>45 min</b>					
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>X</b>		38,0100	30,4500	46,2800	62,3000
<b>95 %</b>	<b>Limita de jos</b>	37,9976	30,4304	46,2604	62,2912
<b>CI</b>	<b>Limita de sus</b>	38,0224	30,4696	46,2996	62,3088
<b>SD</b>		0,01000	0,01581	0,01581	0,00707
<b>Me</b>		38,0100	30,4500	46,2800	62,3000
<b>IQR</b>		0,02	0,03	0,03	0,01
<b>Xmin</b>		38,00	30,43	46,26	62,29
<b>Xmax</b>		38,02	30,47	46,30	62,31
<b>60 min</b>					
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>X</b>		36,1200	31,7600	51,3700	74,8300
<b>95 %</b>	<b>Limita de jos</b>	36,1004	31,7476	51,3504	74,8104
<b>CI</b>	<b>Limita de sus</b>	36,1396	31,7724	51,3896	74,8496
<b>SD</b>		0,01581	0,01000	0,01581	0,01581
<b>Me</b>		36,1200	31,7600	51,3700	74,8300
<b>IQR</b>		0,03	0,02	0,03	0,03
<b>Xmin</b>		36,10	31,75	51,35	74,81
<b>Xmax</b>		36,14	31,77	51,39	74,85
<b>75 min</b>					
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>X</b>		35,3780	30,6800	52,1800	79,9500
<b>95 %</b>	<b>Limita de jos</b>	35,3459	30,6676	52,1604	79,9304
<b>CI</b>	<b>Limita de sus</b>	35,4101	30,6924	52,1996	79,9696
<b>SD</b>		0,02588	0,01000	0,01581	0,01581
<b>Me</b>		35,3800	30,6800	52,1800	79,9500
<b>IQR</b>		0,05	0,02	0,03	0,03
<b>Xmin</b>		35,34	30,67	52,16	79,93
<b>Xmax</b>		35,41	30,69	52,20	79,97
<b>90 min</b>					
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>X</b>		35,6900	30,0100	54,0600	80,1200
<b>95 %</b>	<b>Limita de jos</b>	35,6704	29,9904	54,0404	80,1004
<b>CI</b>	<b>Limita de sus</b>	35,7096	30,0296	54,0796	80,1396
<b>SD</b>		0,01581	0,01581	0,01581	0,01581
<b>Me</b>		35,6900	30,0100	54,0600	80,1200
<b>IQR</b>		0,03	0,03	0,03	0,03
<b>Xmin</b>		35,67	29,99	54,04	80,10
<b>Xmax</b>		35,71	30,03	54,08	80,14

Cedare_CIP Membrana_ 5 min					
105 min					
n		6	6	6	6
$\bar{X}$		36,2900	30,1400	55,0400	82,0700
95 % CI	Limita de jos	36,2704	30,1276	55,0204	82,0504
	Limita de sus	36,3096	30,1524	55,0596	82,0896
SD		0,01581	0,01000	0,01581	0,01581
Me		36,2900	30,1400	55,0400	82,0700
IQR		0,03	0,02	0,03	0,03
Xmin		36,27	30,13	55,02	82,05
Xmax		36,31	30,15	55,06	82,09
120 min					
n		6	6	6	6
$\bar{X}$		35,9800	30,5600	55,0100	82,1100
95 % CI	Limita de jos	35,9604	30,5404	55,0012	82,0976
	Limita de sus	35,9996	30,5796	55,0188	82,1224
SD		0,01581	0,01581	0,00707	0,01000
Me		35,9800	30,5600	55,0100	82,1100
IQR		0,03	0,03	0,01	0,02
Xmin		35,96	30,54	55,00	82,10
Xmax		36,00	30,58	55,02	82,12

Tabelul A5.12. Evaluarea statistică a rezultatelor cedării EC din picături auriculare prin membrană semipermeabilă

Cedare_EC MEMBRANA_ 5 min					
Parametrii statistici		F-1	F-2	F-3	F-4
n		6	6	6	6
$\bar{X}$		24,1300	59,2100	36,2800	66,8900
95 % CI	Limita de jos	24,1104	59,1976	36,2604	66,8812
	Limita de sus	24,1496	59,2224	36,2996	66,8988
SD		0,01581	0,01000	0,01581	0,00707
Me		24,1300	59,2100	36,2800	66,8900
IQR		0,03	0,02	0,03	0,01
Xmin		24,11	59,20	36,26	66,88
Xmax		24,15	59,22	36,30	66,90
10 min					
n		6	6	6	6
$\bar{X}$		29,2400	59,8800	39,2700	68,5300
95 % CI	Limita de jos	29,2204	59,8604	39,2504	68,5212
	Limita de sus	29,2596	59,8996	39,2896	68,5388
SD		0,01581	0,01581	0,01581	0,00707
Me		29,2400	59,8800	39,2700	68,5300
IQR		0,03	0,03	0,03	0,01
Xmin		29,22	59,86	39,25	68,52
Xmax		29,26	59,90	39,29	68,54
15 min					
n		6	6	6	6
$\bar{X}$		31,5400	64,1200	41,2900	69,9900
95 % CI	Limita de jos	31,5204	64,1004	41,2704	69,9776
	Limita de sus	31,5596	64,1396	41,3096	70,0024



<b>Cedare_EC MEMBRANA_ 5 min</b>					
<b>SD</b>		0,01581	0,01581	0,01581	0,01000
<b>Me</b>		31,5400	64,1200	41,2900	69,9900
<b>IQR</b>		0,03	0,03	0,03	0,02
<b>Xmin</b>		31,52	64,10	41,27	69,98
<b>Xmax</b>		31,56	64,14	41,31	70,00
<b>20 min</b>					
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>X</b>		48,1400	69,1300	51,0700	71,3400
<b>95 %</b>	<b>Limita de jos</b>	48,1204	69,1104	51,0504	71,3276
<b>CI</b>	<b>Limita de sus</b>	48,1596	69,1496	51,0896	71,3524
<b>SD</b>		0,01581	0,01581	0,01581	0,01000
<b>Me</b>		48,1400	69,1300	51,0700	71,3400
<b>IQR</b>		0,03	0,03	0,03	0,02
<b>Xmin</b>		48,12	69,11	51,05	71,33
<b>Xmax</b>		48,16	69,15	51,09	71,35
<b>30 min</b>					
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>X</b>		49,2800	69,2700	69,2400	73,8200
<b>95 %</b>	<b>Limita de jos</b>	49,2604	69,2504	69,2276	73,8112
<b>CI</b>	<b>Limita de sus</b>	49,2996	69,2896	69,2524	73,8288
<b>SD</b>		0,01581	0,01581	0,01000	0,00707
<b>Me</b>		49,2800	69,2700	69,2400	73,8200
<b>IQR</b>		0,03	0,03	0,02	0,01
<b>Xmin</b>		49,26	69,25	69,23	73,81
<b>Xmax</b>		49,30	69,29	69,25	73,83
<b>45 min</b>					
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>X</b>		51,3700	61,5800	69,8400	80,2100
<b>95 %</b>	<b>Limita de jos</b>	51,3504	61,5676	69,8204	80,1976
<b>CI</b>	<b>Limita de sus</b>	51,3896	61,5924	69,8596	80,2224
<b>SD</b>		0,01581	0,01000	0,01581	0,01000
<b>Me</b>		51,3700	61,5800	69,8400	80,2100
<b>IQR</b>		0,03	0,02	0,03	0,02
<b>Xmin</b>		51,35	61,57	69,82	80,20
<b>Xmax</b>		51,39	61,59	69,86	80,22
<b>60 min</b>					
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>X</b>		52,4800	61,4800	69,9900	80,3700
<b>95 %</b>	<b>Limita de jos</b>	52,4712	61,4604	69,9812	80,3504
<b>CI</b>	<b>Limita de sus</b>	52,4888	61,4996	69,9988	80,3896
<b>SD</b>		0,00707	0,01581	0,00707	0,01581
<b>Me</b>		52,4800	61,4800	69,9900	80,3700
<b>IQR</b>		0,01	0,03	0,01	0,01
<b>Xmin</b>		52,47	61,46	69,98	80,35
<b>Xmax</b>		52,49	61,50	70,00	80,39
<b>75 min</b>					
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>X</b>		64,3800	60,3900	70,2700	81,2300

<b>Cedare_EC MEMBRANA_ 5 min</b>					
<b>95 % CI</b>	<b>Limita de jos</b>	64,3604	60,3812	70,2504	81,2176
	<b>Limita de sus</b>	64,3996	60,3988	70,2896	81,2424
<b>SD</b>		0,01581	0,00707	0,01581	0,01000
<b>Me</b>		64,3800	60,3900	70,2700	81,2300
<b>IQR</b>		0,03	0,01	0,03	0,02
<b>Xmin</b>		64,36	60,38	70,25	81,22
<b>Xmax</b>		64,40	60,40	70,29	81,24
<b>90 min</b>					
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>X</b>		63,2700	60,5404	70,9400	84,1200
<b>95 % CI</b>	<b>Limita de jos</b>	63,2504	60,5404	70,9204	84,1004
	<b>Limita de sus</b>	63,2896	60,5796	70,9596	84,1396
<b>SD</b>		0,01581	0,01581	0,01581	0,01581
<b>Me</b>		63,2700	60,5404	70,9400	84,1200
<b>IQR</b>		0,03	0,03	0,03	0,03
<b>Xmin</b>		63,25	60,54	70,92	84,10
<b>Xmax</b>		63,29	60,58	70,96	84,14
<b>105 min</b>					
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>X</b>		63,0100	61,0100	71,8400	84,6600
<b>95 % CI</b>	<b>Limita de jos</b>	63,0012	60,9976	71,8204	84,6404
	<b>Limita de sus</b>	63,0188	61,0224	71,8596	84,6796
<b>SD</b>		0,00707	0,01000	0,01581	0,01581
<b>Me</b>		63,0100	61,0100	71,8400	84,6600
<b>IQR</b>		0,01	0,02	0,03	0,03
<b>Xmin</b>		63,00	61,00	71,82	84,64
<b>Xmax</b>		63,02	61,02	71,86	84,68
<b>120 min</b>					
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>X</b>		60,8380	60,9400	70,9900	84,6900
<b>95 % CI</b>	<b>Limita de jos</b>	60,8218	60,9204	70,9704	84,6704
	<b>Limita de sus</b>	60,8542	60,9596	71,0096	84,7096
<b>SD</b>		0,01304	0,01581	0,01581	0,01581
<b>Me</b>		60,8400	60,9400	70,9900	84,6900
<b>IQR</b>		0,03	0,03	0,03	0,03
<b>Xmin</b>		60,82	60,92	70,97	84,67
<b>Xmax</b>		60,85	60,96	71,01	84,71

**Tabelul A5.13. Rezultatele cedării clorhidratului de CIP și EC din picături auriculare prin membrană naturală: intestin de porc**

Timpul, min	CIP	CIP	CIP	CIP	EC	EC	EC	EC
	F1	F2	F3	F4	F1	F2	F3	F4
5	32.25	18.19	24.39	<b>15.91</b>	29.36	59.21	39.54	<b>76.17</b>
10	33.64	19.38	25.31	<b>24.03</b>	29.95	59.88	40.37	<b>76.91</b>
15	39.26	28.17	26.48	<b>31.73</b>	30.95	64.12	40.09	<b>80.16</b>
20	39.99	31.39	30.28	<b>36.78</b>	38.34	69.13	52.29	<b>83.86</b>
30	38.24	33.89	30.87	<b>45.28</b>	41.37	69.27	59.21	<b>86.63</b>
45	38.01	45.27	41.15	<b>63.00</b>	49.36	61.58	59.84	<b>87.32</b>
60	36.12	49.31	41.99	<b>74.12</b>	49.99	61.48	60.95	<b>88.01</b>
75	35.39	49.01	50.18	<b>80.35</b>	71.38	60.39	64.27	<b>89.31</b>
90	35.69	39.98	52.39	<b>81.99</b>	71.19	60.56	66.68	<b>90.08</b>
105	36.29	38.508	50.18	<b>82.68</b>	70.99	61.01	66.47	<b>90.18</b>
120	35.98	38.96	50.94	<b>83.28</b>	71.32	60.94	68.02	<b>90.67</b>

**Tabelul A5.14. Evaluarea statistică a rezultatelor cedării CIP din picături auriculare prin membrană naturală: intestin de porc**

Cedare_CIP INTESTIN_ 5 min					
Parametrii statistici		F-1	F-2	F-3	F-4
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
$\bar{X}$		32,2500	18,1900	24,3900	15,9100
<b>95 % CI</b>	Limita de jos	32,2304	18,1704	24,3812	15,8976
	Limita de sus	32,2696	18,2096	24,3988	15,9224
<b>SD</b>		0,01581	0,01581	0,00707	0,01000
<b>Me</b>		32,2500	18,1900	24,3900	15,9100
<b>IQR</b>		0,03	0,03	0,01	0,02
<b>Xmin</b>		32,23	18,17	24,38	15,90
<b>Xmax</b>		32,27	18,21	24,40	15,92
10 min					
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
$\bar{X}$		33,6400	19,3800	25,3100	24,0300
<b>95 % CI</b>	Limita de jos	33,6204	19,3604	25,3012	24,0104
	Limita de sus	33,6596	19,3996	25,3188	24,0496
<b>SD</b>		0,01581	0,01581	0,00707	0,01581
<b>Me</b>		33,6400	19,3800	25,3100	24,0300
<b>IQR</b>		0,03	0,03	0,02	0,03
<b>Xmin</b>		33,62	19,36	25,30	24,01
<b>Xmax</b>		33,66	19,40	25,32	24,05
15 min					
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
$\bar{X}$		39,2600	28,1700	26,4800	31,7300
<b>95 % CI</b>	Limita de jos	39,2476	28,1504	26,4604	31,7176
	Limita de sus	39,2724	28,1896	26,4996	31,7424
<b>SD</b>		0,01000	0,01581	0,01581	0,01000
<b>Me</b>		39,2600	28,1700	26,4800	31,7300
<b>IQR</b>		0,02	0,03	0,03	0,02
<b>Xmin</b>		39,25	28,15	26,46	31,72
<b>Xmax</b>		39,27	28,19	26,50	31,74
20 min					
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
$\bar{X}$		39,9900	31,3900	30,2800	36,7800

<b>Cedare_CIP INTESTIN_ 5 min</b>					
<b>95 % CI</b>	<b>Limita de jos</b>	39,9704	31,3704	30,2604	36,7604
	<b>Limita de sus</b>	40,0096	31,4096	30,2996	36,7996
<b>SD</b>		0,01581	0,01581	0,01581	0,01581
<b>Me</b>		39,9900	31,3900	30,2800	36,7800
<b>IQR</b>		0,03	0,03	0,03	0,03
<b>Xmin</b>		39,97	31,37	30,26	36,76
<b>Xmax</b>		40,01	31,41	30,30	36,80
<b>30 min</b>					
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>X</b>		38,2400	33,8900	30,8700	45,2800
<b>95 % CI</b>	<b>Limita de jos</b>	38,2204	33,8704	30,8504	45,2604
	<b>Limita de sus</b>	38,2596	33,9096	30,8896	45,2996
<b>SD</b>		0,01581	0,01581	0,01581	0,01581
<b>Me</b>		38,2400	33,8900	30,8700	45,2800
<b>IQR</b>		0,03	0,03	0,03	0,03
<b>Xmin</b>		38,22	33,87	30,85	45,26
<b>Xmax</b>		38,26	33,91	30,89	45,30
<b>45 min</b>					
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>X</b>		38,0100	45,2700	41,1500	63,0000
<b>95 % CI</b>	<b>Limita de jos</b>	37,9976	45,2504	41,1304	62,9804
	<b>Limita de sus</b>	38,0224	45,2896	41,1696	63,0196
<b>SD</b>		0,01000	0,01581	0,01581	0,01581
<b>Me</b>		38,0100	45,2700	41,1500	63,0000
<b>IQR</b>		0,02	0,03	0,03	0,03
<b>Xmin</b>		38,00	45,25	41,13	62,98
<b>Xmax</b>		38,02	45,29	41,17	63,02
<b>60 min</b>					
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>X</b>		36,1200	49,3100	41,9900	74,1200
<b>95 % CI</b>	<b>Limita de jos</b>	36,1004	49,2904	41,9776	74,1004
	<b>Limita de sus</b>	36,1396	49,3296	42,0024	74,1396
<b>SD</b>		0,01581	0,01581	0,01000	0,01581
<b>Me</b>		36,1200	49,3100	41,9900	74,1200
<b>IQR</b>		0,04	0,03	0,02	0,03
<b>Xmin</b>		36,10	49,29	41,98	74,10
<b>Xmax</b>		36,14	49,33	42,00	74,14
<b>75 min</b>					
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>X</b>		35,3900	49,0100	50,1800	80,3500
<b>95 % CI</b>	<b>Limita de jos</b>	35,3704	48,9904	50,1676	80,3304
	<b>Limita de sus</b>	35,4096	49,0296	50,1924	80,3696
<b>SD</b>		0,01581	0,01581	0,01000	0,01581
<b>Me</b>		35,3900	49,0100	50,1800	80,3500
<b>IQR</b>		0,03	0,03	0,02	0,03
<b>Xmin</b>		35,37	48,99	50,17	80,33
<b>Xmax</b>		35,41	49,03	50,19	80,37
<b>90 min</b>					
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>X</b>		35,6900	30,0100	54,0600	80,1200
<b>95 % CI</b>	<b>Limita de jos</b>	35,6704	29,9904	54,0404	80,1004
	<b>Limita de sus</b>	35,7096	30,0296	54,0796	80,1396

Cedare_CIP INTESTIN_ 5 min					
SD		0,01581	0,01581	0,01581	0,01581
Me		35,6900	30,0100	54,0600	80,1200
IQR		0,03	0,03	0,03	0,03
Xmin		35,67	29,99	54,04	80,10
Xmax		35,71	30,03	54,08	80,14
105 min					
n		6	6	6	6
$\bar{X}$		36,2900	30,1400	55,0400	82,0700
95 % CI	Limita de jos	36,2704	30,1276	55,0204	82,0504
	Limita de sus	36,3096	30,1524	55,0596	82,0896
SD		0,01581	0,01000	0,01581	0,01581
Me		36,2900	30,1400	55,0400	82,0700
IQR		0,03	0,02	0,03	0,03
Xmin		36,27	30,13	55,02	82,05
Xmax		36,31	30,15	55,06	82,09
120 min					
n		6	6	6	6
$\bar{X}$		35,9800	30,5600	55,0100	82,1100
95 % CI	Limita de jos	35,9604	30,5404	55,0012	82,0976
	Limita de sus	35,9996	30,5796	55,0188	82,1224
SD		0,01581	0,01581	0,00707	0,01000
Me		35,9800	30,5600	55,0100	82,1100
IQR		0,03	0,03	0,01	0,02
Xmin		35,96	30,54	55,00	82,10
Xmax		36,00	30,58	55,02	82,12

**Tabelul A5.15. Evaluarea statistică a rezultatelor cedării EC din picături auriculare prin membrană naturală: intestin de porc**

Cedare_EC INTESTIN_ 5 min					
Parametrii statistici		F-1	F-2	F-3	F-4
n		6	6	6	6
$\bar{X}$		29,3600	59,2100	39,5400	76,1700
95 % CI	Limita de jos	29,3404	59,1904	39,5276	76,1504
	Limita de sus	29,3796	59,2296	39,5524	76,1896
SD		0,01581	0,01581	0,01000	0,01581
Me		29,3600	59,2100	39,5400	76,1700
IQR		0,03	0,03	0,02	0,03
Xmin		29,34	59,19	39,53	76,15
Xmax		29,38	59,23	39,55	76,19
10 min					
n		6	6	6	6
$\bar{X}$		29,9500	59,8800	40,3700	76,9100
95 % CI	Limita de jos	29,9376	59,8604	40,3504	76,8976
	Limita de sus	29,9624	59,8996	40,3896	76,9224
SD		0,01000	0,01581	0,01581	0,01000
Me		29,9500	59,8800	40,3700	76,9100
IQR		0,02	0,03	0,03	0,02
Xmin		29,94	59,86	40,35	76,90
Xmax		29,96	59,90	40,39	76,92

Cedare_EC INTESTIN_ 5 min					
15 min					
<u>n</u>		6	6	6	6
$\bar{X}$		30,9500	64,1200	40,0900	80,1600
95 % CI	Limita de jos	30,9304	64,1004	40,0776	80,1404
	Limita de sus	30,9696	64,1396	40,1024	80,1796
SD		0,01581	0,01581	0,01000	0,01581
Me		30,9500	64,1200	40,0900	80,1600
IQR		0,03	0,03	0,02	0,03
Xmin		30,93	64,10	40,08	80,14
Xmax		30,97	64,14	40,10	80,18
20 min					
<u>n</u>		6	6	6	6
$\bar{X}$		38,3400	69,1300	52,2900	83,8600
95 % CI	Limita de jos	38,3204	69,1212	52,2704	83,8404
	Limita de sus	38,3596	69,1388	52,3096	83,8796
SD		0,01581	0,00707	0,01581	0,01581
Me		38,3400	69,1300	52,2900	83,8600
IQR		0,03	0,01	0,03	0,03
Xmin		38,32	69,12	52,27	83,84
Xmax		38,36	69,14	52,31	83,88
30 min					
<u>n</u>		6	6	6	6
$\bar{X}$		41,3700	69,2700	59,2100	86,6300
95 % CI	Limita de jos	41,3576	69,2612	59,1904	86,6104
	Limita de sus	41,3824	69,2788	59,2296	86,6496
SD		0,01000	0,00707	0,01581	0,01581
Me		41,3700	69,2700	59,2100	86,6300
IQR		0,02	0,01	0,03	0,03
Xmin		41,36	69,26	59,19	86,61
Xmax		41,38	69,28	59,23	86,65
45 min					
<u>n</u>		6	6	6	6
$\bar{X}$		49,3600	61,5800	59,8400	87,3200
95 % CI	Limita de jos	49,3404	61,5712	59,8204	87,3004
	Limita de sus	49,3796	61,5888	59,8596	87,3396
SD		0,01581	0,00707	0,01581	0,01581
Me		49,3600	61,5800	59,8400	87,3200
IQR		0,03	0,01	0,03	0,03
Xmin		49,34	61,57	59,82	87,30
Xmax		49,38	61,59	59,86	87,34
60 min					
<u>n</u>		6	6	6	6
$\bar{X}$		49,9900	61,4800	60,9500	88,0100
95 % CI	Limita de jos	49,9812	61,4604	60,9304	87,9976
	Limita de sus	49,9988	61,4996	60,9696	88,0224
SD		0,00707	0,01581	0,01581	0,01000
Me		49,9900	61,4800	60,9500	88,0100
IQR		0,01	0,03	0,03	0,02
Xmin		49,98	61,46	60,93	88,00

<b>Cedare_EC INTESTIN_ 5 min</b>					
<b>Xmax</b>		50,00	61,50	60,97	88,02
<b>75 min</b>					
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
$\bar{X}$		71,3800	60,3900	64,2700	89,3100
<b>95 % CI</b>	<b>Limita de jos</b>	71,3604	60,3704	64,2576	89,2904
	<b>Limita de sus</b>	71,3996	60,4096	64,2824	89,3296
<b>SD</b>		0,01581	0,01581	0,01000	0,01581
<b>Me</b>		71,3800	60,3900	64,2700	89,3100
<b>IQR</b>		0,03	0,03	0,02	0,03
<b>Xmin</b>		71,36	60,37	64,26	89,29
<b>Xmax</b>		71,40	60,41	64,28	89,33
<b>90 min</b>					
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
$\bar{X}$		71,1900	60,5600	66,6800	90,0800
<b>95 % CI</b>	<b>Limita de jos</b>	71,1776	60,5404	66,6676	90,0604
	<b>Limita de sus</b>	71,2024	60,5796	66,6924	90,0996
<b>SD</b>		0,01000	0,01581	0,01000	0,01581
<b>Me</b>		71,1900	60,5600	66,6800	90,0800
<b>IQR</b>		0,02	0,03	0,02	0,03
<b>Xmin</b>		71,18	60,54	66,67	90,06
<b>Xmax</b>		71,20	60,58	66,69	90,10
<b>105 min</b>					
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
$\bar{X}$		70,9900	61,0100	66,4700	90,1800
<b>95 % CI</b>	<b>Limita de jos</b>	70,9812	60,9904	66,4504	90,1676
	<b>Limita de sus</b>	70,9988	61,0296	66,4896	90,1924
<b>SD</b>		0,00707	0,01581	0,01581	0,01000
<b>Me</b>		70,9900	61,0100	66,4700	90,1800
<b>IQR</b>		0,01	0,03	0,04	0,02
<b>Xmin</b>		70,98	60,99	66,45	90,17
<b>Xmax</b>		71,00	61,03	66,49	90,19
<b>120 min</b>					
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
$\bar{X}$		71,3200	60,9400	68,0200	90,6700
<b>95 % CI</b>	<b>Limita de jos</b>	71,3004	60,9276	68,0004	90,6576
	<b>Limita de sus</b>	71,3396	60,9524	68,0396	90,6824
<b>SD</b>		0,01581	0,01000	0,01581	0,01000
<b>Me</b>		71,3200	60,9400	68,0200	90,6700
<b>IQR</b>		0,03	0,02	0,03	0,02
<b>Xmin</b>		71,30	60,93	68,00	90,66
<b>Xmax</b>		71,34	60,95	68,04	90,68

**Tabelul A5.16. Rezultatele cedării clorhidratului de CIP EC din picături auriculare prin membrană naturală: ureche de porc**

Timpul, min	CIP	CIP	CIP	CIP	EC	EC	EC	EC
	F1	F2	F3	F4	F1	F2	F3	F4
5	28.84	18.19	9.32	<b>4.53</b>	33.34	44.21	31.39	<b>39.24</b>
10	29.91	20.27	11.38	<b>14.95</b>	31.27	49.82	31.69	<b>44.28</b>
15	33.346	24.27	15.24	<b>19.31</b>	32.84	55.71	33.24	<b>51.69</b>
20	39.25	33.27	30.09	<b>24.64</b>	44.28	59.14	39.21	<b>77.12</b>
30	44.84	39.54	30.81	<b>29.59</b>	45.71	66.58	44.28	<b>77.99</b>
45	41.64	44.21	40.98	<b>41.12</b>	51.06	61.83	49.96	<b>84.31</b>
60	44.61	44.21	49.95	<b>55.95</b>	55.21	62.75	54.37	<b>84.37</b>
75	40.26	40.29	50.11	<b>69.01</b>	63.19	61.54	58.74	<b>83.27</b>
90	40.57	40.18	50.24	<b>68.12</b>	62.41	60.94	68.17	<b>84.01</b>
105	41.82	38.17	50.01	<b>69.27</b>	62.94	60.99	66.47	<b>84.39</b>
120	40.83	40.27	48.39	<b>76.39</b>	61.85	58.34	68.19	<b>83.95</b>

**Tabelul A5.17. Evaluarea statistică a rezultatelor cedării CIP din picături auriculare prin membrană naturală: ureche de porc**

Cedare_CIP URECHE_ 5 min					
Parametrii statistici		F-1	F-2	F-3	F-4
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
$\bar{X}$		28,8400	18,1900	9,3200	4,5300
95 % CI	Limita de jos	28,8204	18,1776	9,3112	4,5104
	Limita de sus	28,8596	18,2024	9,3288	4,5496
SD		0,01581	0,01000	0,00707	0,01581
Me		28,8400	18,1900	9,3200	4,5300
IQR		0,03	0,02	0,01	0,03
Xmin		28,82	18,18	9,31	4,51
Xmax		28,86	18,20	9,33	4,55
10 min					
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
$\bar{X}$		29,9100	20,2700	11,3800	14,9500
95 % CI	Limita de jos	29,9012	20,2504	11,3604	14,9412
	Limita de sus	29,9188	20,2896	11,3996	14,9588
SD		0,00707	0,01581	0,01581	0,00707
Me		29,9100	20,2700	11,3800	14,9500
IQR		0,01	0,03	0,03	0,01
Xmin		29,90	20,25	11,36	14,94
Xmax		29,92	20,29	11,40	14,96
15 min					
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
$\bar{X}$		33,3460	24,2700	15,2400	19,3100
95 % CI	Limita de jos	33,3349	24,2504	15,2204	19,2904
	Limita de sus	33,3571	24,2896	15,2596	19,3296
SD		0,00894	0,01581	0,01581	0,01581
Me		33,3400	24,2700	15,2400	19,3100
IQR		0,02	0,03	0,03	0,03
Xmin		33,34	24,25	15,22	19,29
Xmax		33,36	24,29	15,26	19,33
20 min					
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
$\bar{X}$		39,2500	33,2700	30,0900	24,6400



<b>Cedare_CIP URECHE_ 5 min</b>					
<b>95 % CI</b>	<b>Limita de jos</b>	39,2412	33,2504	30,0704	24,6312
	<b>Limita de sus</b>	39,2588	33,2896	30,1096	24,6488
<b>SD</b>		0,00707	0,01581	0,01581	0,00707
<b>Me</b>		39,2500	33,2700	30,0900	24,6400
<b>IQR</b>		0,01	0,03	0,03	0,01
<b>Xmin</b>		39,24	33,25	30,07	24,63
<b>Xmax</b>		39,26	33,29	30,11	24,65
<b>30 min</b>					
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>X</b>		44,8400	39,5400	30,8100	29,5900
<b>95 % CI</b>	<b>Limita de jos</b>	44,8204	39,5312	30,7904	29,5704
	<b>Limita de sus</b>	44,8596	39,5488	30,8296	29,6096
<b>SD</b>		0,01581	0,00707	0,01581	0,01581
<b>Me</b>		44,8400	39,5400	30,8100	29,5900
<b>IQR</b>		0,03	0,01	0,03	0,03
<b>Xmin</b>		44,82	39,53	30,79	29,57
<b>Xmax</b>		44,86	39,55	30,83	29,61
<b>45 min</b>					
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>X</b>		41,6400	44,2100	40,9800	41,1200
<b>95 % CI</b>	<b>Limita de jos</b>	41,6204	44,1904	40,9712	41,1004
	<b>Limita de sus</b>	41,6596	44,2296	40,9888	41,1396
<b>SD</b>		0,01581	0,01581	0,00707	0,01581
<b>Me</b>		41,6400	44,2100	40,9800	41,1200
<b>IQR</b>		0,03	0,03	0,01	0,03
<b>Xmin</b>		41,62	44,19	40,97	41,10
<b>Xmax</b>		41,66	44,23	40,99	41,14
<b>60 min</b>					
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>X</b>		44,6100	44,2100	49,9500	55,9500
<b>95 % CI</b>	<b>Limita de jos</b>	44,5904	44,2012	49,9304	55,9304
	<b>Limita de sus</b>	44,6296	44,2188	49,9696	55,9696
<b>SD</b>		0,01581	0,00707	0,01581	0,01581
<b>Me</b>		44,6100	44,2100	49,9500	55,9500
<b>IQR</b>		0,03	0,01	0,03	0,03
<b>Xmin</b>		44,59	44,20	49,93	55,93
<b>Xmax</b>		44,63	44,22	49,97	55,97
<b>75 min</b>					
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>X</b>		40,2600	40,2900	50,1100	69,0100
<b>95 % CI</b>	<b>Limita de jos</b>	40,2512	40,2704	50,1012	68,9904
	<b>Limita de sus</b>	40,2688	40,3096	50,1188	69,0296
<b>SD</b>		0,00707	0,01581	0,00707	0,01581
<b>Me</b>		40,2600	40,2900	50,1100	69,0100
<b>IQR</b>		0,01	0,03	0,01	0,03
<b>Xmin</b>		40,25	40,27	50,10	68,99
<b>Xmax</b>		40,27	40,31	50,12	69,03
<b>90 min</b>					
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>X</b>		40,5700	40,1800	50,2400	68,1200
<b>95 % CI</b>	<b>Limita de jos</b>	40,5504	40,1604	50,2312	68,1004
	<b>Limita de sus</b>	40,5896	40,1996	50,2488	68,1396
<b>SD</b>		0,01581	0,01581	0,00707	0,01581

<b>Cedare_CIP URECHE_ 5 min</b>					
<b>Me</b>		40,5700	40,1800	50,2400	68,1200
<b>IQR</b>		0,03	0,03	0,01	0,03
<b>Xmin</b>		40,55	40,16	50,23	68,10
<b>Xmax</b>		40,59	40,20	50,25	68,14
<b>105 min</b>					
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
$\bar{X}$		41,8200	38,1700	50,0100	69,2700
<b>95 % CI</b>	<b>Limita de jos</b>	41,8112	38,1504	49,9904	69,2504
	<b>Limita de sus</b>	41,8288	38,1896	50,0296	69,2896
<b>SD</b>		0,00707	0,01581	0,01581	0,01581
<b>Me</b>		41,8200	38,1700	50,0100	69,2700
<b>IQR</b>		0,01	0,03	0,03	0,03
<b>Xmin</b>		41,81	38,15	49,99	69,25
<b>Xmax</b>		41,83	38,19	50,03	69,29
<b>120 min</b>					
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
$\bar{X}$		40,8300	40,2700	48,3900	76,3900
<b>95 % CI</b>	<b>Limita de jos</b>	40,8104	40,2504	48,3812	76,3776
	<b>Limita de sus</b>	40,8496	40,2896	48,3988	76,4024
<b>SD</b>		0,01581	0,01581	0,00707	0,01000
<b>Me</b>		40,8300	40,2700	48,3900	76,3900
<b>IQR</b>		0,03	0,03	0,01	0,02
<b>Xmin</b>		40,81	40,25	48,38	76,38
<b>Xmax</b>		40,85	40,29	48,40	76,40

**Tabelul A5.18. Evaluarea statistică a rezultatelor cedării EC din picături auriculare prin membrană naturală: ureche de porc**

<b>Cedare_EC Ureche_ 5 min</b>					
<b>Parametrii statistici</b>		<b>F-1</b>	<b>F-2</b>	<b>F-3</b>	<b>F-4</b>
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
$\bar{X}$		33,3400	44,2100	31,3900	39,2400
<b>95 % CI</b>	<b>Limita de jos</b>	33,3204	44,1904	31,3812	39,2204
	<b>Limita de sus</b>	33,3596	44,2296	31,3988	39,2596
<b>SD</b>		0,01581	0,01581	0,00707	0,01581
<b>Me</b>		33,3400	44,2100	31,3900	39,2400
<b>IQR</b>		0,03	0,03	0,01	0,03
<b>Xmin</b>		33,32	44,19	31,38	39,22
<b>Xmax</b>		33,36	44,23	31,40	39,26
<b>10 min</b>					
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
$\bar{X}$		31,2700	49,8200	31,6900	44,2800
<b>95 % CI</b>	<b>Limita de jos</b>	31,2504	49,8004	31,6812	44,2604
	<b>Limita de sus</b>	31,2896	49,8396	31,6988	44,2996
<b>SD</b>		0,01581	0,01581	0,00707	0,01581
<b>Me</b>		31,2700	49,8200	31,6900	44,2800
<b>IQR</b>		0,03	0,03	0,01	0,03
<b>Xmin</b>		31,25	49,80	31,68	44,26
<b>Xmax</b>		31,29	49,84	31,70	44,30
<b>15 min</b>					
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
$\bar{X}$		32,8400	55,7100	33,2400	51,6900

<b>Cedare_EC Ureche_ 5 min</b>					
<b>95 %</b>	<b>Limita de jos</b>	32,8312	55,6904	33,2204	51,6704
<b>CI</b>	<b>Limita de sus</b>	32,8488	55,7296	33,2596	51,7096
<b>SD</b>		0,00707	0,01581	0,01581	0,01581
<b>Me</b>		32,8400	55,7100	33,2400	51,6900
<b>IQR</b>		0,01	0,03	0,03	0,03
<b>Xmin</b>		32,83	55,69	33,22	51,67
<b>Xmax</b>		32,85	55,73	33,26	51,71
<b>20 min</b>					
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>X</b>		44,2800	59,1400	39,2100	77,1200
<b>95 %</b>	<b>Limita de jos</b>	44,2604	59,1204	39,1904	77,1004
<b>CI</b>	<b>Limita de sus</b>	44,2996	59,1596	39,2296	77,1396
<b>SD</b>		0,01581	0,01581	0,01581	0,01581
<b>Me</b>		44,2800	59,1400	39,2100	77,1200
<b>IQR</b>		0,03	0,03	0,03	0,03
<b>Xmin</b>		44,26	59,12	39,19	77,10
<b>Xmax</b>		44,30	59,16	39,23	77,14
<b>30 min</b>					
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>X</b>		45,7100	66,5800	44,2800	77,9900
<b>95 %</b>	<b>Limita de jos</b>	45,6904	66,5604	44,2712	77,9704
<b>CI</b>	<b>Limita de sus</b>	45,7296	66,5996	44,2888	78,0096
<b>SD</b>		0,01581	0,01581	0,00707	0,01581
<b>Me</b>		45,7100	66,5800	44,2800	77,9900
<b>IQR</b>		0,03	0,03	0,01	0,03
<b>Xmin</b>		45,69	66,56	44,27	77,97
<b>Xmax</b>		45,73	66,60	44,29	78,01
<b>45 min</b>					
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>X</b>		51,0600	61,8300	49,9600	84,3100
<b>95 %</b>	<b>Limita de jos</b>	51,0404	61,8104	49,9404	84,3012
<b>CI</b>	<b>Limita de sus</b>	51,0796	61,8496	49,9796	84,3188
<b>SD</b>		0,01581	0,01581	0,01581	0,00707
<b>Me</b>		51,0600	61,8300	49,9600	84,3100
<b>IQR</b>		0,03	0,03	0,03	0,01
<b>Xmin</b>		51,04	61,81	49,94	84,30
<b>Xmax</b>		51,08	61,85	49,98	84,32
<b>60 min</b>					
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>X</b>		55,2100	62,7500	54,3700	84,3700
<b>95 %</b>	<b>Limita de jos</b>	55,1904	62,7304	54,3504	84,3504
<b>CI</b>	<b>Limita de sus</b>	55,2296	62,7696	54,3896	84,3896
<b>SD</b>		0,01581	0,01581	0,01581	0,01581
<b>Me</b>		55,2100	62,7500	54,3700	84,3700
<b>IQR</b>		0,03	0,03	0,03	0,03
<b>Xmin</b>		55,19	62,73	54,35	84,35
<b>Xmax</b>		55,23	62,77	54,39	84,39
<b>75 min</b>					
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>X</b>		63,1900	61,5400	58,7400	83,2700
<b>95 %</b>	<b>Limita de jos</b>	63,1704	61,5204	58,7204	83,2612
<b>CI</b>	<b>Limita de sus</b>	63,2096	61,5596	58,7596	83,2788

<b>Cedare_EC Ureche_ 5 min</b>					
<b>SD</b>		0,01581	0,01581	0,01581	0,00707
<b>Me</b>		63,1900	61,5400	58,7400	83,2700
<b>IQR</b>		0,03	0,03	0,03	0,01
<b>Xmin</b>		63,17	61,52	58,72	83,26
<b>Xmax</b>		63,21	61,56	58,76	83,28
<b>90 min</b>					
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>X</b>		62,4100	60,9400	68,1700	84,0100
<b>95 %</b>	<b>Limita de jos</b>	62,3904	60,9204	68,1504	84,0012
<b>CI</b>	<b>Limita de sus</b>	62,4296	60,9596	68,1896	84,0188
<b>SD</b>		0,01581	0,01581	0,01581	0,00707
<b>Me</b>		62,4100	60,9400	68,1700	84,0100
<b>IQR</b>		0,03	0,03	0,03	0,01
<b>Xmin</b>		62,39	60,92	68,15	84,00
<b>Xmax</b>		62,43	60,96	68,19	84,02
<b>105 min</b>					
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>X</b>		62,9400	60,9900	66,4700	84,3900
<b>95 %</b>	<b>Limita de jos</b>	62,9276	60,9704	66,4504	84,3704
<b>CI</b>	<b>Limita de sus</b>	62,9524	61,0096	66,4896	84,4096
<b>SD</b>		0,01000	0,01581	0,01581	0,01581
<b>Me</b>		62,9400	60,9900	66,4700	84,3900
<b>IQR</b>		0,02	0,03	0,03	0,03
<b>Xmin</b>		62,93	60,97	66,45	84,37
<b>Xmax</b>		62,95	61,01	66,49	84,41
<b>120 min</b>					
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>X</b>		61,8500	58,3400	68,1900	83,9500
<b>95 %</b>	<b>Limita de jos</b>	61,8304	58,3204	68,1704	83,9304
<b>CI</b>	<b>Limita de sus</b>	61,8696	58,3596	68,2096	83,9696
<b>SD</b>		0,01581	0,01581	0,01581	0,01581
<b>Me</b>		61,8500	58,3400	68,1900	83,9500
<b>IQR</b>		0,03	0,03	0,03	0,03
<b>Xmin</b>		61,83	58,32	68,17	83,93
<b>Xmax</b>		61,87	58,36	68,21	83,97

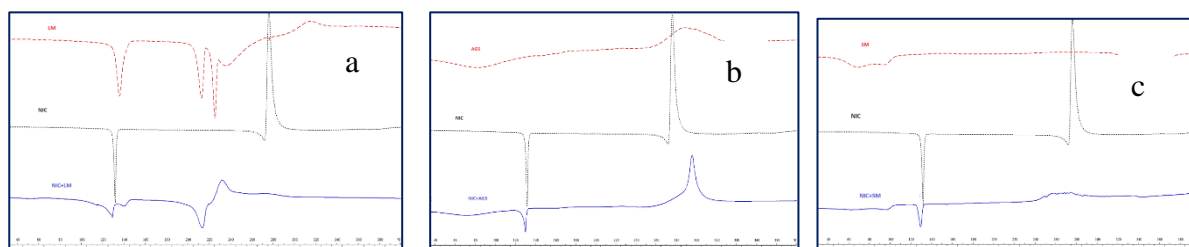
**Anexa 6. Analiza prin DSC a compatibilității substanțelor active între ele și cu excipienții pentru capsulele combinate cu NIC+PIR+EP**

**Tabelul A6.1. Probele supuse analizei calorimetrice diferențiale pentru cercetarea compatibilității NIC, PIR și EP între ele și cu excipienții pentru formularea capsulelor combinate**

<b>Substanțe active</b>	Nicergolină
	Piracetam
	Extract uscat de păducel
<b>Excipienții individuali</b>	Lactoză monohidrat
	Amidonglicolat de sodiu
	Stearat de magneziu
<b>Amestec: Substanță activă/ substanță activă (m/m)</b>	Nicergolină/Extract de păducel
	Nicergolină/Piracetam
	Piracetam/Extract de păducel
<b>Amestec m/m: Nicergolină/Excipient</b>	Nicergolină/Lactoză monohidrat
	Nicergolină/Amidonglicolat de sodiu
	Nicergolină/Stearat de magneziu
<b>Amestec: Piracetam/Excipient</b>	Piracetam/Lactoză monohidrat
	Piracetam/Amidonglicolat de sodiu
	Piracetam/Stearat de magneziu
<b>Amestec: Extract de păducel/Excipient</b>	Extract de păducel/Lactoză monohidrat
	Extract de păducel/Amidonglicolat de sodiu
	Extract de păducel/Stearat de magneziu

**Tabel A6.2. Datele termoanalitice DSC ale nicergolinei și ale nicergolinei în amestecurile fizice binare nicergolină/excipient și nicergolină/substanță active**

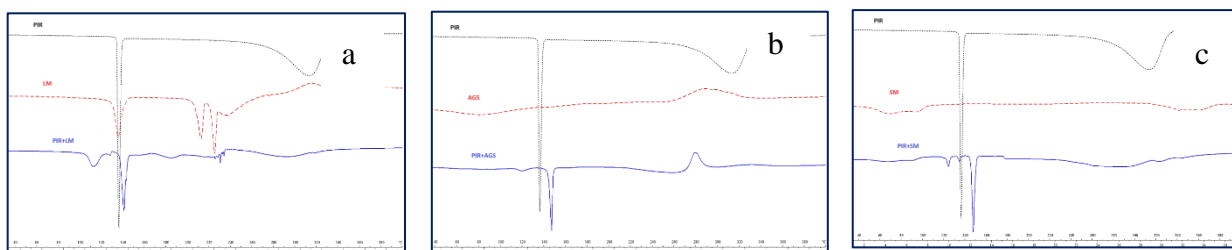
Substanța	Domeniul de topire (°C)	T <sub>topire</sub> (°C)	Entalpia de topire (mJ/g)
Nicergolină	129.69-133.20	131.47	-113.90
Lactoză monohidrat	122.95-130.67	128.89	-47.12
Amidonglicolat de sodiu	127.22-131.47	129.87	-50.21
Stearat de magneziu	125.76-131.68	129.41	-54.41
Piracetam	119.83-125.94	122.51	-94.42
Extract de păducel	123.12-129.95	127.80	-49.18



**Fig. A6.1. Termogramele DSC individuale și în amestecuri binare 1:1 (m/m) ale NIC+LM (a), NIC+AGS (b) și NIC+SM (c)**

**Tabel A6.3. Datele termoanalitice DSC ale piracetamului și ale piracetamului în amestecurile fizice binare piracetam/excipient și piracetam/substanță activă**

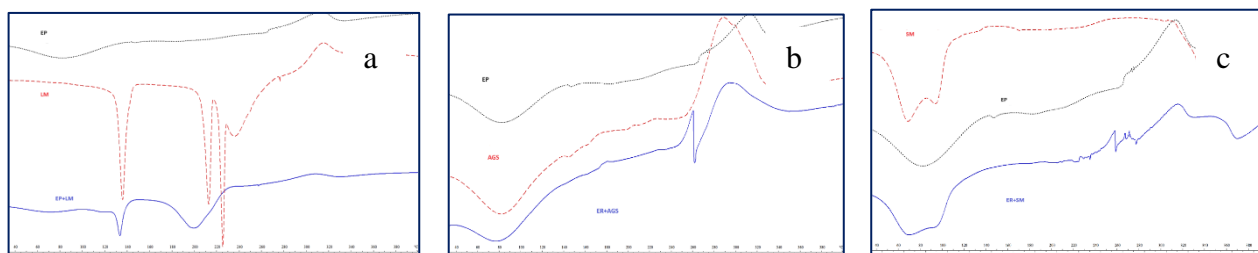
Substanța	Domeniul de topire (°C)	T <sub>topire</sub> (°C)	Entalpia de topire (mJ/g)
Piracetam	134.44-138.77	135.23	-444.17
Lactoză monohidrat	137.23-143.27	140.75	-219.08
Amidonglicolat de sodiu	144.24-148.53	146.72	-173.90
Stearat de magneziu	145.56-150.08	147.31	-201.73
Nicergolină	141.82-145.49	143.69	-166.87
Extract de păducel	128.81-145.90	137.09	-65.08



**Fig. A6.2. Termogramele DSC individuale și în amestecuri binare 1:1 (m/m) ale PIR+LM (a), PIR+AGS (b) și PIR+SM (c)**

**Tabel A6.4. Datele termoanalitice DSC ale EP și ale EP în amestecurile fizice binare EP/excipient (raport 1:1)**

Substanța	Domeniul de topire (°C)	T <sub>topire</sub> (°C)	Entalpia de topire (mJ/g)
Extract de păducel	Rutozida: 144.50-152.22	147.49	-1.10
	Vitamina B1: 168.93-198.69	184.32	-5.96
	Hiperozida și vitexina: 225.37-268.75	261.68	-16.11
Lactoză monohidrat	Rutozida: 109.58-121.95	115.63	-1.86
	Vitamina B1: -	-	-
	Hiperozida și vitexina: 256.69-258.38	257.36	-0.30
Amidonglicolat de sodiu	-	-	-
Stearat de magneziu	-	-	-



**Fig. A6.3. Termogramele DSC individuale și în amestecuri binare 1:1 (m/m) ale EP+LM (a), EP+AGS (b) și EP+SM (c)**

## Anexa 7. Cedarea NIC și PIR din capsule combinate

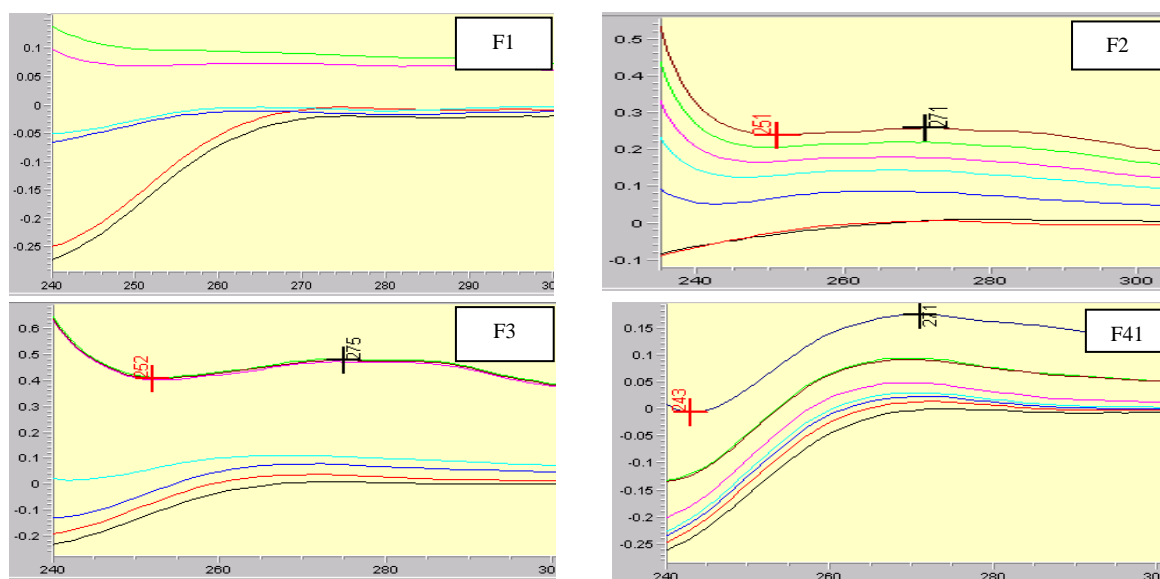


Fig. A7.1. Spectrele de absorbție ale NIC din capsule după dizolvarea în mediul acid

Tabelul A7.1. Absorbantele NIC din capsule după dizolvarea în mediul acid, determinate la diferite intervale de timp

Formulara	Timpul, min	5	10	15	20	30	45	60
F1	Abs. nicergolina $\lambda = 280 \pm 5$ nm	-	-	-	0,0186	0,15011	0,0354	0,0462
	Abs. nicergolina $\lambda = 270 \pm 1$ nm	0,006604	0,01054	0,08658	0,14432	0,18027	0,21998	0,25801
F2	Abs. extr. de păducel $\lambda = 260 \pm 1$ nm	-	-	-	0,02517	0,04247	0,0624	0,07278
	Abs. nicergolina $\lambda = 272 \pm 1$ nm	0,000696	0,00927	0,07885	0,15412	0,80528	0,83622	0,80491
F3	Abs. extr. de păducel $\lambda = 268 \pm 1$ nm	-	-	0,07885	0,02923	0,07482	0,0	0,07278
F4	Abs. nicergolina	0,000686	0,01382	0,0230	0,02976	0,04765	0,09417	0,17377

Tabelul A7.2. Evaluarea statistică a rezultatelor cedării NIC din capsule după dizolvarea în mediul acid

Cedare_NIC mediul acid_ 10 min					
Parametrii statistici		F-1	F-2	F-3	F-4
n		6	6	6	6
X		0,00240	3,29000	4,62000	20,52000
95 % CI	Limita de jos	0,00098	3,27037	4,60037	20,50037
	Limita de sus	0,00382	3,30963	4,63963	20,53963
SD		0,001140	0,015811	0,015811	0,015811
Me		0,00200	3,29000	4,62000	20,52000
IQR		0,002	0,030	0,030	0,030
Xmin		0,001	3,270	4,600	20,500
Xmax		0,004	3,310	4,640	20,540

<b>Cedare_NIC mediul acid_ 10 min</b>					
<b>15 min</b>					
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>X</b>		22,9400	43,2100	8,2400	29,9100
<b>95 % CI</b>	<b>Limita de jos</b>	22,9204	43,1976	8,2204	29,9012
	<b>Limita de sus</b>	22,9596	43,2224	8,2596	29,9188
<b>SD</b>		0,01581	0,01000	0,01581	0,00707
<b>Me</b>		22,9400	43,2100	8,2400	29,9100
<b>IQR</b>		,03	,02	,03	,01
<b>Xmin</b>		22,92	43,20	8,22	29,90
<b>Xmax</b>		22,96	43,22	8,26	29,92
<b>20 min</b>					
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>X</b>		39,2400	59,5100	24,7600	33,9400
<b>95 % CI</b>	<b>Limita de jos</b>	39,2204	59,4976	24,7404	33,9204
	<b>Limita de sus</b>	39,2596	59,5224	24,7796	33,9596
<b>SD</b>		,01581	,01000	,01581	,01581
<b>Me</b>		39,2400	59,5100	24,7600	33,9400
<b>IQR</b>		,03	,02	,03	,03
<b>Xmin</b>		39,22	59,50	24,74	33,92
<b>Xmax</b>		39,26	59,52	24,78	33,96
<b>30 min</b>					
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>X</b>		75,0100	68,8300	54,4600	56,3200
<b>95 % CI</b>	<b>Limita de jos</b>	74,9976	68,8104	54,4404	56,3112
	<b>Limita de sus</b>	75,0224	68,8496	54,4796	56,3288
<b>SD</b>		,01000	,01581	,01581	,00707
<b>Me</b>		75,0100	68,8300	54,4600	56,3200
<b>IQR</b>		,02	,03	,03	,01
<b>Xmin</b>		75,00	68,81	54,44	56,31
<b>Xmax</b>		75,02	68,85	54,48	56,33
<b>45 min</b>					
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>X</b>		79,3500	68,3040	64,0100	62,3000
<b>95 % CI</b>	<b>Limita de jos</b>	79,3304	68,2852	64,0012	62,2804
	<b>Limita de sus</b>	79,3696	68,3228	64,0188	62,3196
<b>SD</b>		,01581	,01517	,00707	,01581
<b>Me</b>		79,3500	68,3100	64,0100	62,3000
<b>IQR</b>		,03	,03	,01	,03
<b>Xmin</b>		79,33	68,28	64,00	62,28
<b>Xmax</b>		79,37	68,32	64,02	62,32
<b>60 min</b>					
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>X</b>		81,13000	66,15400	31,06000	74,83000
<b>95 % CI</b>	<b>Limita de jos</b>	81,11037	66,08453	31,05122	74,81758
	<b>Limita de sus</b>	81,14963	66,22347	31,06878	74,84242
<b>SD</b>		,015811	,055946	,007071	,010000
<b>Me</b>		81,13000	66,12000	31,06000	74,83000
<b>IQR</b>		,030	,105	,010	,020
<b>Xmin</b>		81,110	66,110	31,050	74,820
<b>Xmax</b>		81,150	66,220	31,070	74,840



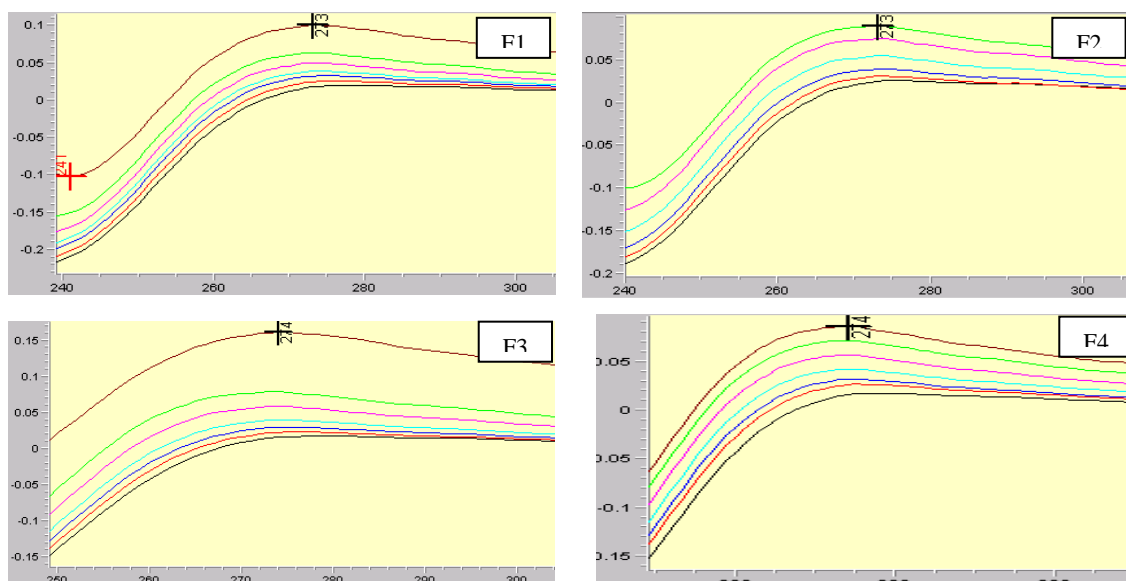


Fig. A7.2. Spectrele de absorbție ale NIC din capsule după dizolvarea în mediul neutru

Tabelul A7.3 Absorbantele NIC după dizolvarea capsulelor în mediul neutru, determinate la diferite intervale de timp

Formulara	Timpul, min	5	10	15	20	30	45	60
F1	Abs. nicergolina $\lambda = 273 \pm 1$ nm	0,019206	0,02552	0,03290	0,03876	0,04941	0,06313	0,10014
F2	Abs. nicergolina $\lambda = 273 \pm 1$ nm	-	0,02618	0,03108	0,03945	0,05475	0,07485	0,08942
F3	Abs. nicergolina $\lambda = 272 \pm 1$ nm	0,01747	0,02277	0,02984	0,04000	0,058083	0,07866	0,16108
F4	Abs. nicergolina $\lambda = 274 \pm 1$ nm	0,00890	0,0146	0,0185	0,0256	0,0360	0,0510	0,0603

Tabelul A7.4. Evaluarea statistică a rezultatelor cedării NIC din capsule după dizolvarea în mediul neutru

Cedare NIC mediul neutru_ 10 min					
Parametrii statistici		F-1	F-2	F-3	F-4
n		6	6	6	6
X		46,3800	13,0700	11,3600	7,3100
95 %	Limita de jos	46,3712	13,0504	11,3404	7,2976
	Limita de sus	46,3888	13,0896	11,3796	7,3224
SD		,00707	,01581	,01581	,01000
Me		46,3800	13,0700	11,3600	7,3100
IQR		,01	,03	,03	,02
Xmin		46,37	13,05	11,34	7,30
Xmax		46,39	13,09	11,38	7,32
15 min					
n		6	6	6	6
X		65,1400	15,5100	14,9000	9,2300
95 %	Limita de jos	65,1204	15,4904	14,8804	9,2104
	Limita de sus	65,1596	15,5296	14,9196	9,2496
SD		0,01581	0,01581	0,01581	0,01581
Me		65,1400	15,5100	14,9000	9,2300
IQR		0,03	0,03	0,03	0,03

<b>Cedare_NIC mediul neutru_ 10 min</b>					
<b>Xmin</b>		65,12	15,49	14,88	9,21
<b>Xmax</b>		65,16	15,53	14,92	9,25
<b>20 min</b>					
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
$\bar{X}$		71,0100	19,7000	20,0100	12,7800
<b>95 %</b>	<b>Limita de jos</b>	70,9976	19,6876	19,9904	12,7676
<b>CI</b>	<b>Limita de sus</b>	71,0224	19,7124	20,0296	12,7924
<b>SD</b>		,01000	,01000	,01581	,01000
<b>Me</b>		71,0100	19,7000	20,0100	12,7800
<b>IQR</b>		,02	,02	,03	,02
<b>Xmin</b>		71,00	19,69	19,99	12,77
<b>Xmax</b>		71,02	19,71	20,03	12,79
<b>30 min</b>					
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
$\bar{X}$		74,9800	27,3200	29,0100	18,0100
<b>95 %</b>	<b>Limita de jos</b>	74,9604	27,3076	28,9976	17,9904
<b>CI</b>	<b>Limita de sus</b>	74,9996	27,3324	29,0224	18,0296
<b>SD</b>		,01581	,01000	,01000	,01581
<b>Me</b>		74,9800	27,3200	29,0100	18,0100
<b>IQR</b>		,03	,02	,02	,03
<b>Xmin</b>		74,96	27,31	29,00	17,99
<b>Xmax</b>		75,00	27,33	29,02	18,03
<b>45 min</b>					
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
$\bar{X}$		75,2800	37,3500	39,2500	25,4500
<b>95 %</b>	<b>Limita de jos</b>	75,2676	37,3304	39,2412	25,4304
<b>CI</b>	<b>Limita de sus</b>	75,2924	37,3696	39,2588	25,4696
<b>SD</b>		,01000	,01581	,00707	,01581
<b>Me</b>		75,2800	37,3500	39,2500	25,4500
<b>IQR</b>		,02	,03	,01	,03
<b>Xmin</b>		75,27	37,33	39,24	25,43
<b>Xmax</b>		75,29	37,37	39,26	25,47
<b>60 min</b>					
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
$\bar{X}$		77,1200	44,6200	80,4000	30,0100
<b>95 %</b>	<b>Limita de jos</b>	77,1076	44,6004	80,3804	29,9904
<b>CI</b>	<b>Limita de sus</b>	77,1324	44,6396	80,4196	30,0296
<b>SD</b>		,01000	,01581	,01581	,01581
<b>Me</b>		77,1200	44,6200	80,4000	30,0100
<b>IQR</b>		,02	,03	,03	,03
<b>Xmin</b>		77,11	44,60	80,38	29,99
<b>Xmax</b>		77,13	44,64	80,42	30,03

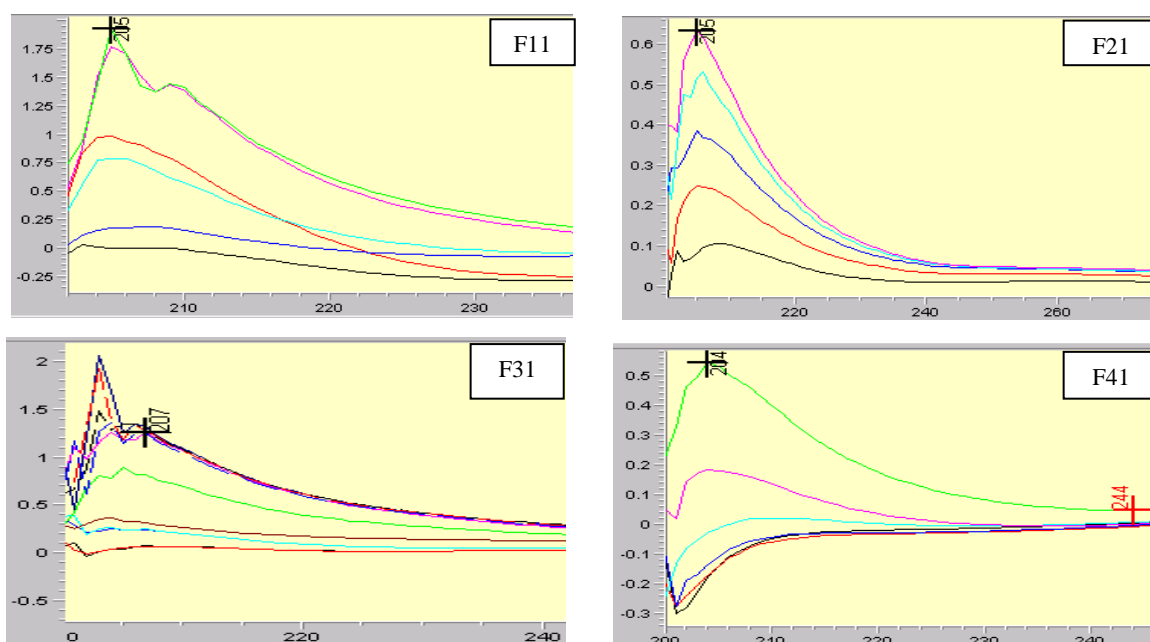


Fig. A7.3. Spectrele de absorbție ale PIR după dizolvarea capsulelor în mediu acid

Tabelul A7.5. Absorbanțele PIR după dizolvarea capsulelor în mediul acid, determinate la diferite intervale de timp

Formulara	Timpul, min	5	10	15	20	30	45	60
F1	Abs. piracetam	0,92808	1,01840	1,11690	1,2670	1,44300	1,55310	1,93140
F2	Abs. piracetam	0,84215	0,92567	1,06010	1,12600	1,30440	1,45240	1,69980
F3	Abs. piracetam	0,79460	0,91418	1,03760	1,18290	1,40360	1,68600	2,05750
F4	Abs. piracetam	1,4648	1,4976	1,6217	1,7525	2,0200	2,25900	2,40140

Tabelul A7.6. Evaluarea statistică a rezultatelor cedării PIR din capsule după dizolvarea în mediul acid

Cedare_PIR mediul acid_ 10 min					
Parametrii statistici		F-1	F-2	F-3	F-4
n		6	6	6	6
X		1,12000	0,00240	0,00320	0,00260
95 % CI	Limita de jos	1,10037	0,00032	0,00158	0,00072
	Limita de sus	1,13963	0,00448	0,00482	0,00448
SD		0,015811	0,001673	0,001304	0,001517
Me		1,12000	0,00200	0,00300	0,00200
IQR		0,030	0,003	0,003	0,003
Xmin		1,100	0,001	0,002	0,001
Xmax		1,140	0,005	0,005	0,005
15 min					
n		6	6	6	6
X		8,68000	8,46000	0,00280	0,05000

<b>Cedare_PIR mediul acid_ 10 min</b>					
<b>95 % CI</b>	<b>Limita de jos</b>	8,66037	8,44037	0,00076	0,04122
	<b>Limita de sus</b>	8,69963	8,47963	0,00484	0,05878
<b>SD</b>		,015811	,015811	0,001643	0,007071
<b>Me</b>		8,68000	8,46000	0,00200	0,05000
<b>IQR</b>		,030	,030	0,003	0,010
<b>Xmin</b>		8,660	8,440	0,001	0,040
<b>Xmax</b>		8,700	8,480	0,005	0,060
<b>20 min</b>					
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>X</b>		26,98000	14,74000	8,40000	0,11000
<b>95 % CI</b>	<b>Limita de jos</b>	26,97122	14,72037	8,38037	0,09758
	<b>Limita de sus</b>	26,98878	14,75963	8,41963	0,12242
<b>SD</b>		0,007071	0,015811	0,015811	0,010000
<b>Me</b>		26,98000	14,74000	8,40000	0,11000
<b>IQR</b>		0,010	0,030	0,030	0,020
<b>Xmin</b>		26,970	14,720	8,380	0,100
<b>Xmax</b>		26,990	14,760	8,420	0,120
<b>30 min</b>					
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>X</b>		50,95000	55,32000	9,60000	2,54000
<b>95 % CI</b>	<b>Limita de jos</b>	50,93758	55,30037	9,58037	2,52758
	<b>Limita de sus</b>	50,96242	55,33963	9,61963	2,55242
<b>SD</b>		,010000	,015811	,015811	,010000
<b>Me</b>		50,95000	55,32000	9,60000	2,54000
<b>IQR</b>		,020	,030	,030	,020
<b>Xmin</b>		50,940	55,300	9,580	2,530
<b>Xmax</b>		50,960	55,340	9,620	2,550
<b>45 min</b>					
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>X</b>		75,09000	59,23600	28,06000	21,25000
<b>95 % CI</b>	<b>Limita de jos</b>	75,08122	59,12302	28,04037	21,23758
	<b>Limita de sus</b>	75,09878	59,34898	28,07963	21,26242
<b>SD</b>		,007071	,090995	,015811	,010000
<b>Me</b>		75,09000	59,21000	28,06000	21,25000
<b>IQR</b>		,010	,165	,030	,020
<b>Xmin</b>		75,080	59,110	28,040	21,240
<b>Xmax</b>		75,100	59,330	28,080	21,260
<b>60 min</b>					
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>X</b>		84,3900	58,1960	15,6900	63,3200
<b>95 % CI</b>	<b>Limita de jos</b>	84,3704	58,1793	15,6812	63,3004
	<b>Limita de sus</b>	84,4096	58,2127	15,6988	63,3396
<b>SD</b>		,01581	,01342	,00707	,01581
<b>Me</b>		84,3900	58,1900	15,6900	63,3200
<b>IQR</b>		,03	,03	,01	,03
<b>Xmin</b>		84,37	58,18	15,68	63,30
<b>Xmax</b>		84,41	58,21	15,70	63,34

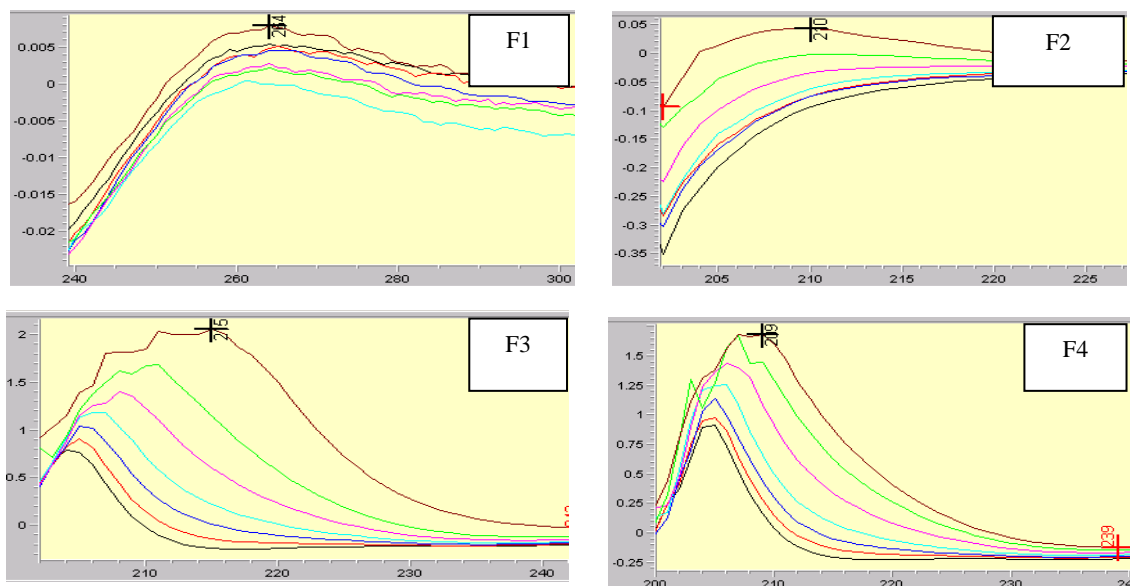


Fig. A7.4. Spectrele de absorbție ale PIR după dizolvarea capsulelor în mediul neutru.

Tabelul A7.7. Absorbnanțele PIR din capsule după dizolvarea în mediul neutru, determinate la diferite intervale de timp.

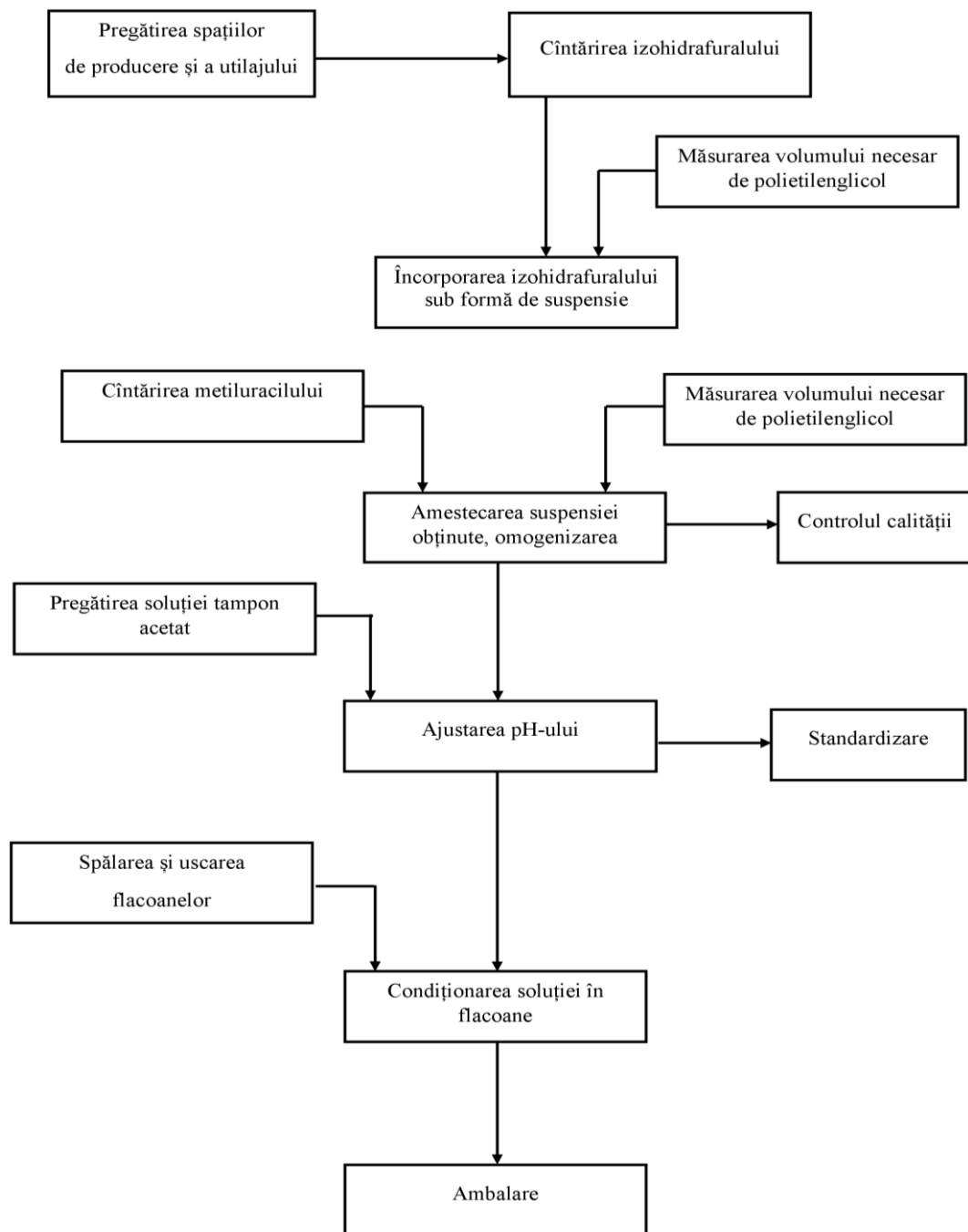
Formularea	Timpul, min	5	10	15	20	30	45	60
F1	Abs. PIR	-	0,1613	1,2460	0,18898	0,8780	1,77140	1,93070
F2	Abs. PIR	-	-	0,10640	0,24942	0,38679	0,53008	0,63254
F3	Abs. PIR	-	-	-	0,07232	0,44801	1,34710	1,26180
F4	Abs. PIR	-	-	-	-	0,021476	0,18305	0,54558

Tabelul A7.8. Evaluarea statistică a rezultatelor cedării PIR din capsule după dizolvarea în mediul neutru

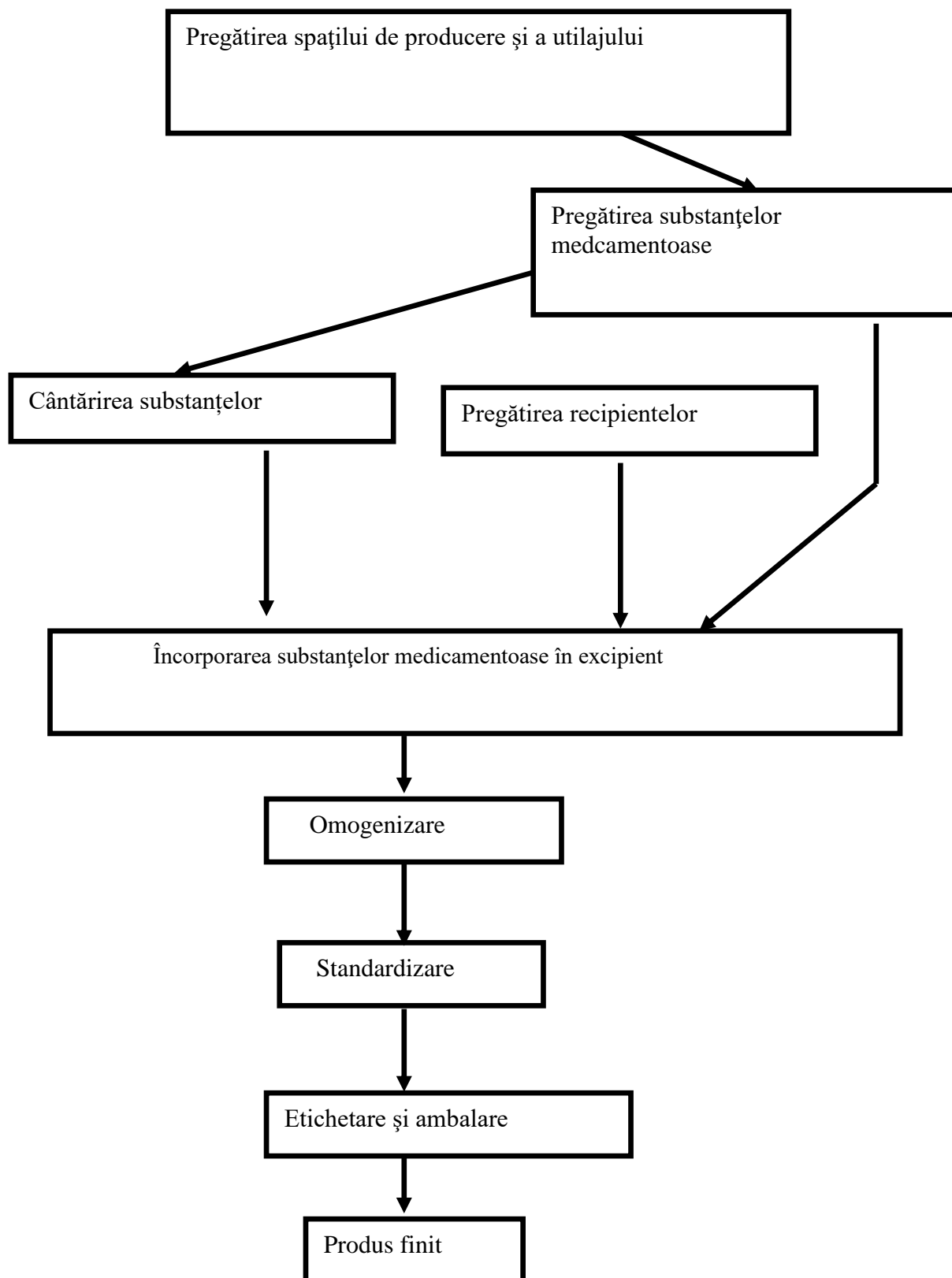
Cedare_PIR mediul neutru_ 10 min					
Parametrii statistici		F-1	F-2	F-3	F-4
n		6	6	6	6
X		38,1900	6,4500	6,3700	10,4300
95 % CI	Limita de jos	38,1704	6,4412	6,3504	10,4176
	Limita de sus	38,2096	6,4588	6,3896	10,4424
SD		,01581	,00707	,01581	,01000
Me		38,1900	6,4500	6,3700	10,4300
IQR		,03	,01	,03	,02
Xmin		38,17	6,44	6,35	10,42
Xmax		38,21	6,46	6,39	10,44
15 min					
n		6	6	6	6
X		51,3100	7,4000	7,2500	11,3100
95 % CI	Limita de jos	51,3012	7,3804	7,2376	11,2904
	Limita de sus	51,3188	7,4196	7,2624	11,3296
SD		,00707	,01581	,01000	,01581
Me		51,3100	7,4000	7,2500	11,3100
IQR		,01	,03	,02	,03
Xmin		51,30	7,38	7,24	11,29

<b>Cedare_PIR mediul neutru_ 10 min</b>					
<b>Xmax</b>		51,32	7,42	7,26	11,33
<b>20 min</b>					
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
$\bar{X}$		64,0800	7,8500	8,2500	12,2100
<b>95 % CI</b>	<b>Limita de jos</b>	64,0604	7,8304	8,2304	12,2012
	<b>Limita de sus</b>	64,0996	7,8696	8,2696	12,2188
<b>SD</b>		,01581	,01581	,01581	,00707
<b>Me</b>		64,0800	7,8500	8,2500	12,2100
<b>IQR</b>		,03	,03	,03	,01
<b>Xmin</b>		64,06	7,83	8,23	12,20
<b>Xmax</b>		64,10	7,87	8,27	12,22
<b>30 min</b>					
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
$\bar{X}$		69,3100	9,0100	9,7800	14,0700
<b>95 % CI</b>	<b>Limita de jos</b>	69,2976	8,9976	9,7604	14,0504
	<b>Limita de sus</b>	69,3224	9,0224	9,7996	14,0896
<b>SD</b>		,01000	,01000	,01581	,01581
<b>Me</b>		69,3100	9,0100	9,7800	14,0700
<b>IQR</b>		,02	,02	,03	,03
<b>Xmin</b>		69,30	9,00	9,76	14,05
<b>Xmax</b>		69,32	9,02	9,80	14,09
<b>45 min</b>					
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
$\bar{X}$		76,0200	10,1100	11,7500	15,7500
<b>95 % CI</b>	<b>Limita de jos</b>	76,0004	10,0904	11,7376	15,7304
	<b>Limita de sus</b>	76,0396	10,1296	11,7624	15,7696
<b>SD</b>		,01581	,01581	,01000	,01581
<b>Me</b>		76,0200	10,1100	11,7500	15,7500
<b>IQR</b>		,03	,03	,02	,03
<b>Xmin</b>		76,00	10,09	11,74	15,73
<b>Xmax</b>		76,04	10,13	11,76	15,77
<b>60 min</b>					
<b>n</b>		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
$\bar{X}$		76,3200	11,8500	14,3300	16,7200
<b>95 % CI</b>	<b>Limita de jos</b>	76,3004	11,8376	14,3104	16,7004
	<b>Limita de sus</b>	76,3396	11,8624	14,3496	16,7396
<b>SD</b>		,01581	,01000	,01581	,01581
<b>Me</b>		76,3200	11,8500	14,3300	16,7200
<b>IQR</b>		,03	,02	,03	,03
<b>Xmin</b>		76,30	11,84	14,31	16,70
<b>Xmax</b>		76,34	11,86	14,35	16,74

**Anexa 8. Tehnologia de preparare a formelor farmaceutice combinate: picături auriculare cu IHF+MU, CIP+EC+UVB și capsule cu NIC+PIR+EP**



**Fig. A8.1. Schema fluxului tehnologic de preparare a picăturilor auriculare cu IHF și MU**



**Fig. A8.2. Schema fluxului tehnologic de preparare a picăturilor auriculare cu CIP, EC și UVB**



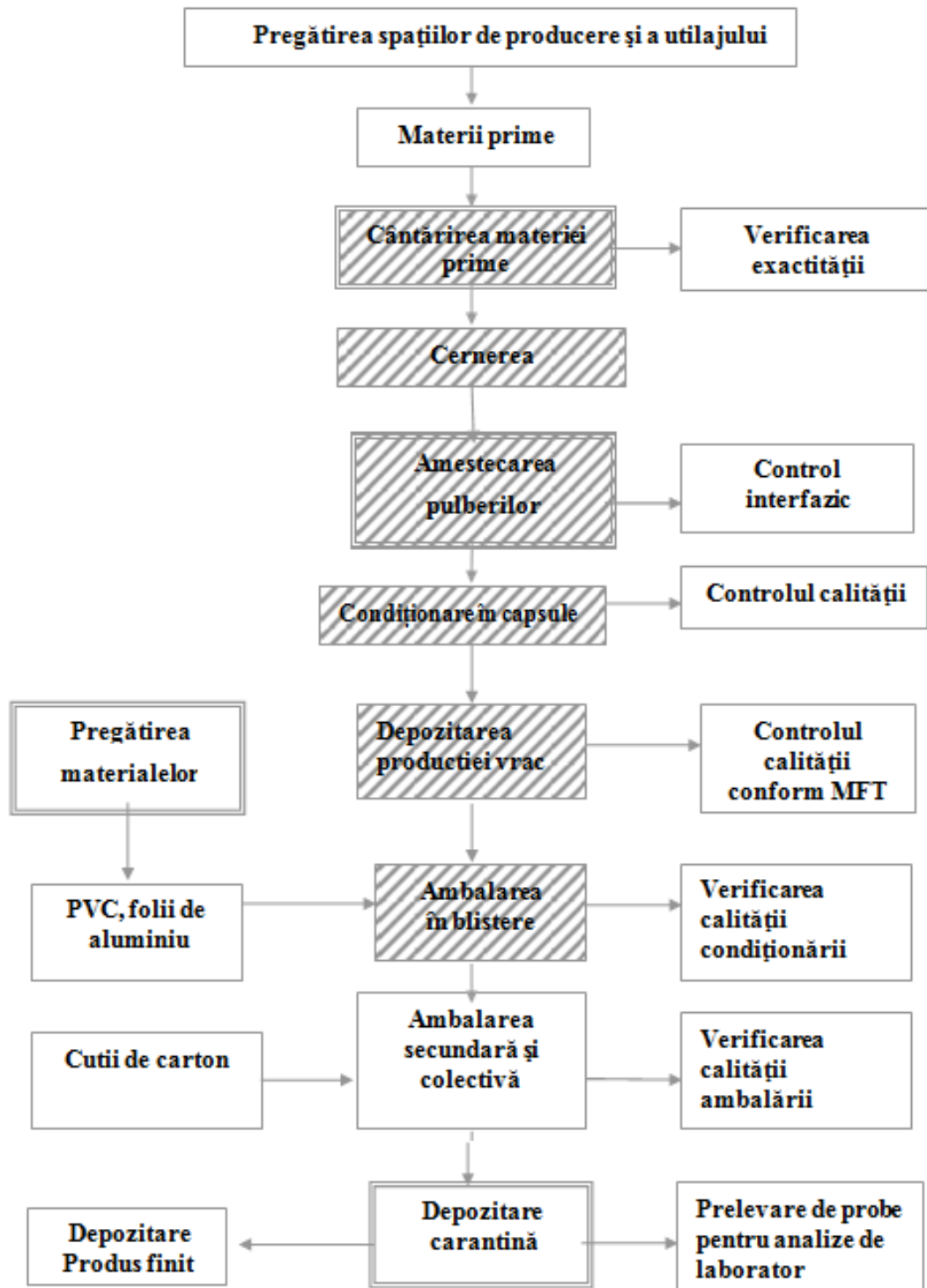
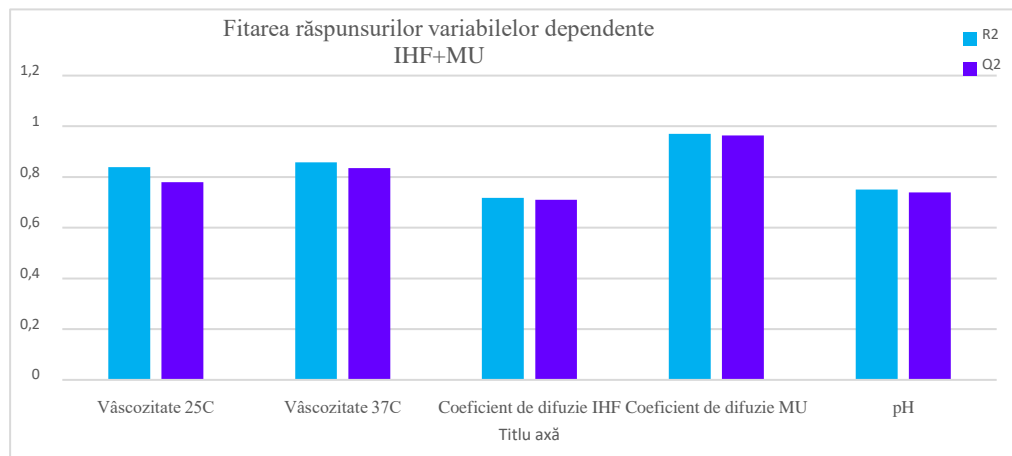


Fig. A8.3. Schema tehnologică de preparare a capsulelor operculate

**Anexa 9. Optimizarea formulărilor picăturilor auriculare combinate cu conținut de IHF și MU (cu ajutorul Design-Expert 7 Stat-Ease Software (Minneapolis, SUA))**

**Tabelul A9.1. Rezultatele obținute în urma fitării răspunsurilor variabilelor dependente în procesul optimizării picăturilor auriculare cu IHF+MU**

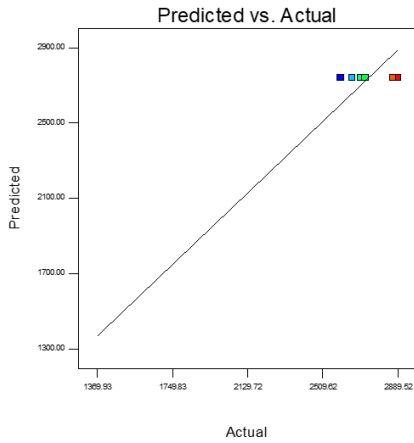
	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>R<sup>2</sup> adj.</b>	<b>Q2</b>	<b>RSD</b>	<b>N</b>
<b>Vâscozitate la 25<sup>0</sup> C</b>	0,8389	0,5973	0,7794	73,4	6
N = 6	Intercepția =	2783,49			
DF = 3					
<b>Viscosity at 37<sup>0</sup> C</b>	0,8574	0,2871	0,8357	87,06	6
N = 6	Cond. no. =	4,243			
DF = 4					
<b>Coefficient de difuzie IHF</b>	0,7173	0,9568	0,710	1,38	6
N = 6	Intercepția =	0,99			
DF = 1					
<b>Coefficient de difuzie MU</b>	0,9702	0,9503	0,9642	0,47	6
N = 6	Intercepția =	0,57			
DF = 2					
<b>pH</b>	0,7502	0,3755	0,7387	0,22	6
N = 6	Intercepția =	5,2			
DF = 3					



**Fig. A9.1. Fitarea răspunsurilor variabilelor dependente în procesul optimizării picăturilor auriculare cu IHF+MU**

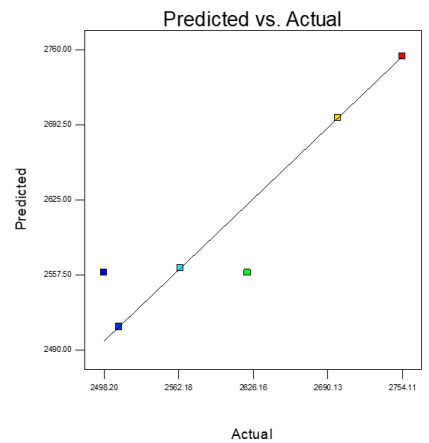
Design-Expert® Software  
Vâscozitatea 25

Color points by value of  
Vâscozitatea 25:  
2889.52  
2600.12



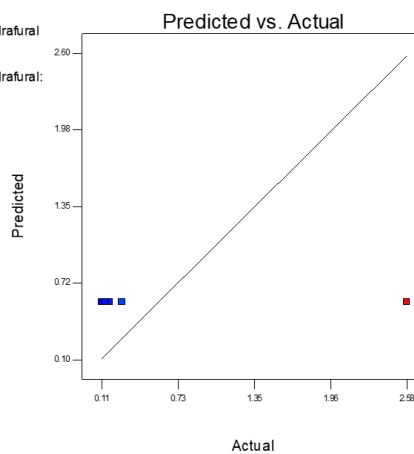
Design-Expert® Software  
Vâscozitatea 37

Color points by value of  
Vâscozitatea 37:  
2754.11  
2498.2



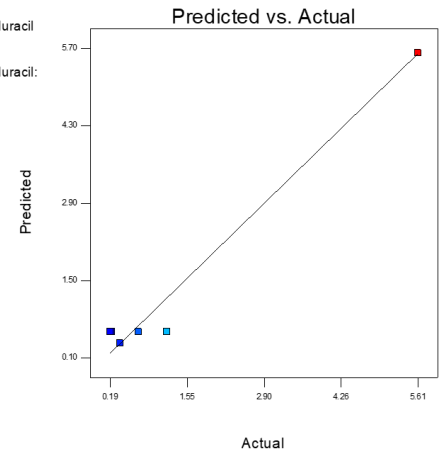
Design-Expert® Software  
Coeficientul de difuzie Izohidrafural

Color points by value of  
Coeficientul de difuzie Izohidrafural:  
2.57998  
0.11347



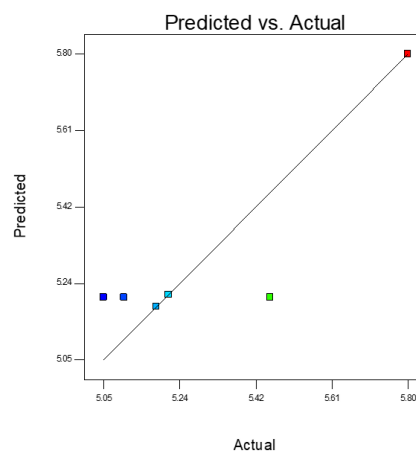
Design-Expert® Software  
Coeficientul de difuzie Metiluracil

Color points by value of  
Coeficientul de difuzie Metiluracil:  
5.61356  
0.18886



Design-Expert® Software  
pH

Color points by value of  
pH:  
5.8  
5.05



**Fig. A9.2. Graficele reziduale ale răspunsurilor obținute (Actual) față de răspunsurile precise (Predicted)**

**Tabelul A 9.2. Analiza variațiilor ANOVA pentru răspunsurile variabilelor dependente**

	Grad de libertate	Suma pătratelor	Media pătratelor (varianță)	F (coeficient Fisher)	p	Deviația standard
<b>Vâscozitatea la cea mai mică viteză de forfecare la 25°C</b>						
Total	6	55564,94	18521,65			
Total corectat	5	66235,41	22078,47			2,67
Regresie	3	9930,63	9930,63	3,47	<b>0,002316</b>	73,04
	N = 6	Q <sup>2</sup> =	0,7794			
	DF = 3	R <sup>2</sup> =	0,8389	RSD =	73,04	
		R <sup>2</sup> adj. =	0,5973			
<b>Vâscozitatea la cea mai mică viteză de forfecare la 37°C</b>						
Total	6	45579,13	11394,78			
Total corectat	5	53158,40	13289,59			3,34
Regresie	4	7579,27	7579,27	3,67	<b>0,0005395</b>	87,06
	N = 6	Q <sup>2</sup> =	0,8357			
	DF = 4	R <sup>2</sup> =	0,8574	RSD =	87,06	
		R <sup>2</sup> adj. =	0,8298			
<b>Coeficient de difuzie IHF</b>						
Total	6	1,06	0,35			
Total corectat	5	4,86	1,90			241,64
Regresie	1	0,87	0,87	0,46	<b>0,00056</b>	1,38
	N = 6	Q <sup>2</sup> =	0,7100			
	DF = 1	R <sup>2</sup> =	0,7173	RSD =	1,38	
		R <sup>2</sup> adj. =	0,9568			
<b>Coeficient de difuzie MU</b>						
Total	6	21,58	10,79			
Total corectat	5	22,25	11,125			34,17
Regresie	2	1,3584	0,9974	48,83	<b>0,0041</b>	3,28161
	N = 6	Q <sup>2</sup> =	0,9642			
	DF = 2	R <sup>2</sup> =	0,9702	RSD =	0,47	
		R <sup>2</sup> adj. =	0,9503			
<b>pH</b>						
Total	6	0,30	0,10			
Total corectat	5	0,40	0,13			4,22
Regresie	4	0,100	0,050	2,00	<b>0,0003502</b>	0,22
	N = 9	Q <sup>2</sup> =	0,7387			
	DF = 3	R <sup>2</sup> =	0,7502	RSD =	0,22	
		R <sup>2</sup> adj. =	0,3755			

**Tabelul A9.3. Influența variabilelor independente (PEG 400 și PG) ca factori de formulare asupra vâscozității**

	Term	Effect	SumSqr	% Contribtn
<b>Vâscozitate la 25°C</b>				
Require	Intercept			
Model	A-PEG 400	-96.4575	18608.1	<b>20.683</b>
Model	B-PG	-14.5475	423.26	<b>0.470455</b>
Model	AB	-106.767	22798.6	25.3407
	Lenth's ME	383.15		
	Lenth's SME	916.952		
N = 6	Q2 =	-5,5511		
DF = 6	R2 =	0,8976	RSD =	95,96
	R2 adj. =	0,2835		
<b>Vâscozitate la 37°C</b>				
Require	Intercept			
Model	A-PEG 400	-56.21	1663.34	<b>3.12902</b>
Model	B-PG	-59.94	37.0513	<b>0.0696999</b>
Model	AB	-133.79	17899.8	33.6725
	Lenth's ME	481.106		
	Lenth's SME	1271.16		
N = 6	Q2 =	-0,4400		
DF = 5	R2 =	0,8574	RSD =	87,06
	R2 adj. =	0,2871		

**Tabelul A9.4. Influența variabilelor independente (PEG 400 și PG) ca factori de formulare asupra coeficientului de difuzie**

	Term	Effect	SumSqr	% Contribtn
<b>Coeficient de difuzie IHF</b>				
Require	Intercept			
Model	A-PEG 400	1.21273	1.0899	<b>22.4223</b>
Model	B-PG	0.086405	0.598699	<b>12.3169</b>
Model	AB	0.056585	0.00320186	0.0658715
	Lenth's ME	383.15		
	Lenth's SME	23.6879		
N = 6	Q2 =	0,760		
DF = 6	R2 =	0,2173	RSD =	1,38
	R2 adj. =	-0,9568		
<b>Coeficient de difuzie MU</b>				
Require	Intercept			
Model	A-PEG 400	0.57021	6.13784	27.5883
Model	B-PG	-2.85964	3.5381	15.903
Model	AB	-2.39317	5.72726	25.7428
	Lenth's ME	18.8935		
	Lenth's SME	49.9197		
N = 6	Q2 =	0,9642		
DF = 2	R2 =	0,9702	RSD =	0,47
	R2 adj. =	0,9503		

**Tabelul A 9.5. Influența variabilelor independente (PEG 400 și PG) ca factori de formulare asupra pH-ului**

	<b>Term</b>	<b>Effect</b>	<b>SumSqr</b>	<b>% Contribtn</b>
<b>pH</b>				
Require	Intercept			
Model	A-PEG 400	-0.335	0.1944	<b>48.5272</b>
Model	B-PG	-0.22	0.114075	<b>28.476</b>
Model	AB	0.06	0.0036	0.898652
	Lenth's ME	1.53948		
	Lenth's SME	4.06755		
N = 6	Q2 =	0,7387		
DF = 6	R2 =	0,7502	RSD =	0,22
	R2 adj. =	0,3755		

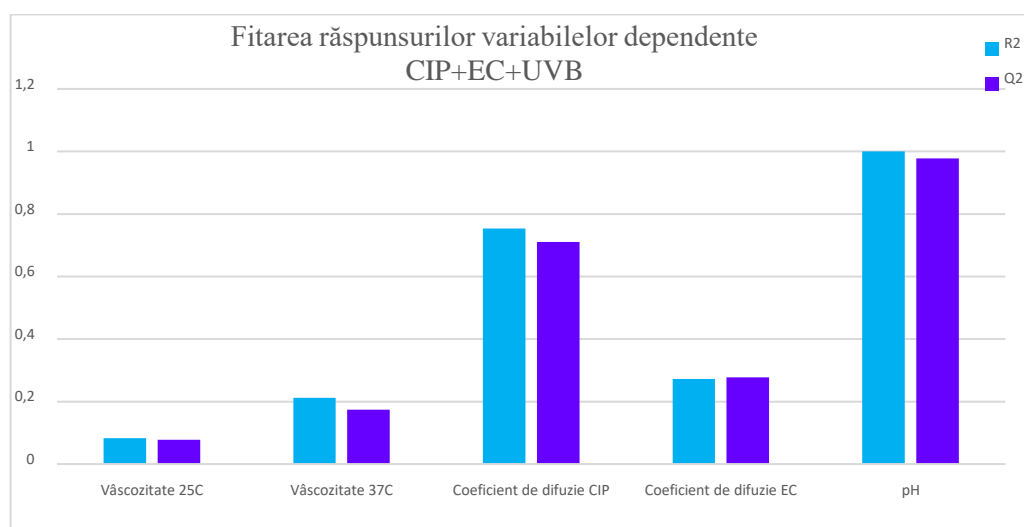
**Tabelul A 9.6. Anticiparea rezultatelor variabilelor dependente în funcție de factorii de formulare optimizați**

<b>Factor</b>	<b>Name</b>	<b>Level</b>	<b>Low Level</b>	<b>High Level</b>	<b>Std. Dev.</b>	<b>Coding</b>
<b>A</b>	<b>PEG 400</b>	<b>61.66</b>	<b>50.00</b>	<b>70.00</b>	<b>0.000</b>	<b>Actual</b>
<b>B</b>	<b>PG</b>	<b>20.88</b>	<b>10.00</b>	<b>30.00</b>	<b>0.000</b>	<b>Actual</b>
<b>Response</b>	<b>Prediction</b>	<b>SE Mean</b>	<b>95% CI low</b>	<b>95% CI high</b>	<b>SE Pred</b>	<b>95% PI low</b>
Vascozitatea 25	2752.64	241.38	-314.42	5819.69	316.45	-1268.27
Văscozitatea 37	2664.22	202.68	88.91	5239.53	265.71	-712.01
Coef.dif. IHF	0.525341	0.085	-0.56	1.61	0.11	-0.89
Coef. Dif. MU	0.139563	0.14	-1.68	1.96	0.19	-2.25
pH	5.33776	0.34	0.99	9.68	0.45	-0.36

**Anexa 10. Optimizarea formulărilor picăturilor auriculare combinate cu conținut de clorhidrat de CIP, nitrat de EC și ulei volatil de busuioc (cu ajutorul Design-Expert 7 Stat-Ease Software (Minneapolis, SUA))**

**Tabelul A10.1. Rezultatele obținute în urma fitării răspunsurilor variabilelor dependente**  
**Rezultatele fitării CIP+EC+UVB**

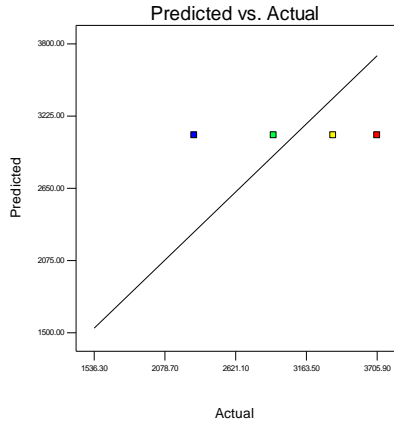
	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>R<sup>2</sup> adj.</b>	<b>Q2</b>	<b>RSD</b>	<b>N</b>
<b>Vâscozitate la 25<sup>0</sup> C</b>	0,0824	-1,7527	0,0778	607,13	4
N = 4	Intercepția =	3072,60			
DF = 3					
<b>Viscosity at 37<sup>0</sup> C</b>	0.2116	-1.3651	0,1741	690.80	4
N = 4	Intercepția =	3354.10			
DF = 3					
<b>Coeficient de difuzie CIP</b>	0.7532	0.2595	0,7100	0,13	4
N = 4	Intercepția =	0,16			
DF = 4					
<b>Coeficient de difuzie EC</b>	0.2727	0,2503	0,2777	0,11	4
N = 4	Intercepția =	0,099			
DF = 3					
<b>pH</b>	1,0000	-	0,9777	0,22	4
N = 4	Intercepția =	5,96			
DF = 3					



**Fig. 10.1. Fitarea răspunsurilor variabilelor dependente în procesul optimizării picăturilor auriculare cu CIP+EC+UVB**

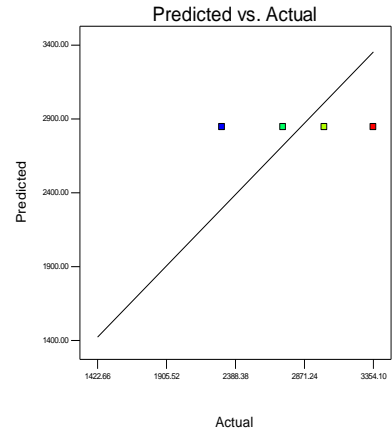
Design-Expert® Software  
Vascozitatea 25

Color points by value of  
Vascozitatea 25:  
3705.9  
2303.6



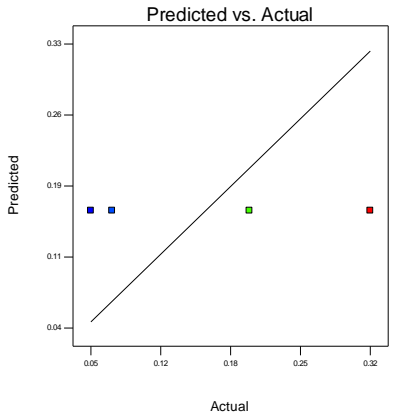
Design-Expert® Software  
Vascozitatea 37

Color points by value of  
Vascozitatea 37:  
3354.1  
2294.2



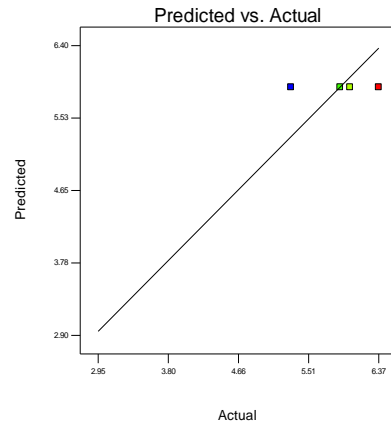
Design-Expert® Software  
Coeficientul de difuzie CIP

Color points by value of  
Coeficientul de difuzie CIP:  
0.32277  
0.04623



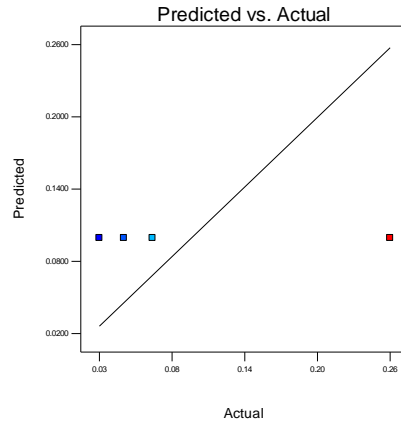
Design-Expert® Software  
pH

Color points by value of  
pH:  
6.37  
5.3



Design-Expert® Software  
Coeficientul de difuzie EC

Color points by value of  
Coeficientul de difuzie EC:  
0.25742  
0.02615



**Fig. A10.2. Graficele reziduale ale răspunsurilor obținute (Actual) față de răspunsurile prezise (Predicted)**



**Tabelul A10.2. Analiza variațiilor ANOVA pentru răspunsurile variabilelor dependente**

	Grad de libertate	Suma pătratelor	Media pătratelor (varianță)	F (coeficient Fisher)	p	Deviația standard
<b>Vâscozitatea la cea mai mică viteză de forfecare la 25°C</b>						
Total	4	3.776E+007	3.776E+007			
Total corectat	3	3.887E+007	9.717E+006			607,13
Regresie	3	1.015E+006	1.015E+006	0,045	<b>0,0009579</b>	1007,31
	N = 4	Q <sup>2</sup> =	0,0778			
	DF = 3	R <sup>2</sup> =	0,0824	RSD =	1007,31	
		R <sup>2</sup> adj. =	-1,7527			
<b>Vâscozitatea la cea mai mică viteză de forfecare la 37°C</b>						
Total	4	3.238E+007	3.238E+007			
Total corectat	3	3.299E+007	8.247E+006			690,8
Regresie	3	4.772E+005	4.772E+005	0,13	<b>0,0008879</b>	690,8
	N = 4	Q <sup>2</sup> =	0,1741			
	DF = 3	R <sup>2</sup> =	0,2116	RSD =	690,8	
		R <sup>2</sup> adj. =	-1.3651			
<b>Coefficient de difuzie CIP</b>						
Total	4	0,038	0,019			
Total corectat	3	0,05	0,012			0,11
Regresie	1	0,05	0,017	1,53	<b>0,004968</b>	0,13
	N = 4	Q <sup>2</sup> =	0,7100			
	DF = 3	R <sup>2</sup> =	0,7532	RSD =	0,13	
		R <sup>2</sup> adj. =	0,2595			
<b>Coefficient de difuzie EC</b>						
Total	4	0,034	0,011			
Total corectat	3	0,034	0,011			0,11
Regresie	3	0,034	0,011	-	<b>0,0041</b>	0,11
	N = 6	Q <sup>2</sup> =	0,2777			
	DF = 2	R <sup>2</sup> =	0,2727	RSD =	0,11	
		R <sup>2</sup> adj. =	0,2503			
<b>pH</b>						
Total	6	0,60	0,20			
Total corectat	5	0,60	0,20			0,02
Regresie	4	0000	0000	-	<b>0,000002</b>	0,02
	N = 9	Q <sup>2</sup> =	0,9777			
	DF = 3	R <sup>2</sup> =	1,000	RSD =	0,02	
		R <sup>2</sup> adj. =	-			

**Tabelul A10.3. Influența variabilelor independente (PEG 400 și Polisorbat 20) ca factori de formulare asupra vâscozității**

	Term	Effect	SumSqr	% Contribuție
<b>Vâscozitate la 25°C</b>				
Require	Intercept			
Model	A-PEG 400	79,37	534759	<b>48,358</b>
Model	Polisorbat 20	-6,086	3855,73	<b>0.348672</b>
Model	AB	-106,51	567219	51,2934
	Lenth's ME	15127,4		
	Lenth's SME	44684,5		
N = 4	Q <sup>2</sup> =	-0,7778		
DF = 3	R <sup>2</sup> =	0,0824	RSD =	1007,31
	R <sup>2</sup> adj. =	-1,7527		
<b>Vâscozitate la 37°C</b>				
Require	Intercept	3354,10		
Model	A-PEG 400	42,35	1793,52	<b>0,3001</b>
Model	Polisorbat 20	-3,2574	583,21	<b>0,0004</b>
Model	AB	-31,713	1852,01	0,0061
	Lenth's ME	7344,50		
	Lenth's SME	21701,62		
N = 6	Q <sup>2</sup> =	0,1741		
DF = 5	R <sup>2</sup> =	0.2116	RSD =	690,8
	R <sup>2</sup> adj. =	-1.3651		

**Tabelul A10.4. Influența variabilelor independente (PEG 400 și Polisorbat 20) ca factori de formulare asupra coeficientului de difuzie**

	Term	Effect	SumSqr	% Contribuție
<b>Coeficient de difuzie CIP</b>				
Require	Intercept			
Model	A-PEG 400	0.11958	0.00242803	<b>4.86542</b>
Model	B-Polisorbat 20	-0.27654	0.0425329	<b>85.2299</b>
Model	AB	-0.0994263	0.00494279	9.90466
	Lenth's ME	2.27911		
	Lenth's SME	6.73435		
N = 6	Q <sup>2</sup> =	0,710		
DF = 6	R <sup>2</sup> =	0.7532	RSD =	0,13
	R <sup>2</sup> adj. =	0.2595		
<b>Coeficient de difuzie EC</b>				
Require	Intercept	0,099		
Model	A-PEG 400	-0,085	7,186E-003	21,02
Model	B-Polisorbat 20	-0,10	0,011	31,78
Model	AB	-0,13	0,016	47,20
	Lenth's ME	1,99		
	Lenth's SME	5,87		
N = 4	Q <sup>2</sup> =	-0,7778		
DF = 3	R <sup>2</sup> =	0.2727	RSD =	0,11
	R <sup>2</sup> adj. =	0,2503		

**Tabelul A10.5. Influența variabilelor independente (PEG 400 și Polisorbat 20) ca factori de formulare asupra pH-ului**

	<b>Term</b>	<b>Effect</b>	<b>SumSqr</b>	<b>% Contribtn</b>
<b>pH</b>				
Require	Intercept	5,96		
Model	A-PEG 400	0,48	0,23	<b>37,90</b>
Model	Polisorbat 20	0,59	0,35	<b>59,47</b>
Model	AB	-0,13	0,016	2,62
	Lenth's ME	9,05		
	Lenth's SME	26,75		
N = 4	Q <sup>2</sup> =	-		
DF = 3	R <sup>2</sup> =	1,000	RSD =	0,02
	R <sup>2</sup> adj. =	-		

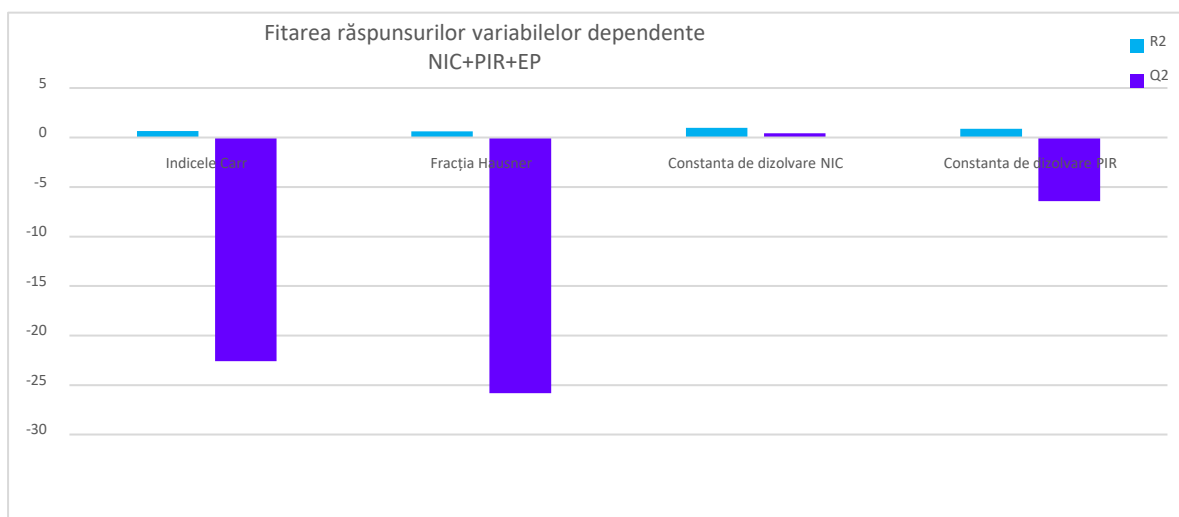
**Tabelul A10.6. Anticiparea rezultatelor variabilelor dependente în funcție de factorii de formulare optimizați**

<b>Factor</b>	<b>Name</b>	<b>Level</b>	<b>Low Level</b>	<b>High Level</b>	<b>Std. Dev.</b>	<b>Coding</b>
<b>A</b>	<b>PEG 400</b>	<b>10,68</b>	<b>5,00</b>	<b>15,00</b>	<b>0.000</b>	<b>Actual</b>
<b>B</b>	<b>Polisorbat 20</b>	<b>20.88</b>	<b>2,00</b>	<b>6,00</b>	<b>0.000</b>	<b>Actual</b>
<b>C</b>	<b>C</b>	<b>-0.93</b>	<b>-1.00</b>	<b>1.00</b>	<b>0.000</b>	<b>Actual</b>
<b>Response</b>	<b>Prediction</b>	<b>SE Mean</b>	<b>95% CI low</b>	<b>95% CI high</b>	<b>SE Pred</b>	<b>95% PI low</b>
Vascozitatea 25	3072,6	303,57	2106,51	4038,69	678,80	912,37
Vâscozitatea 37	2845,32	224,59	2130,57	3560,08	502,21	1247,08
Coef.dif. CIP	0.159863	0,064	-0.045	0,37	0.14	-0.30
Coef. Dif. EC	0,0994	0,053	-0,07	0,27	0,12	-0,28
pH	5.8975	0.22	5,19	6,61	0.5	4,31

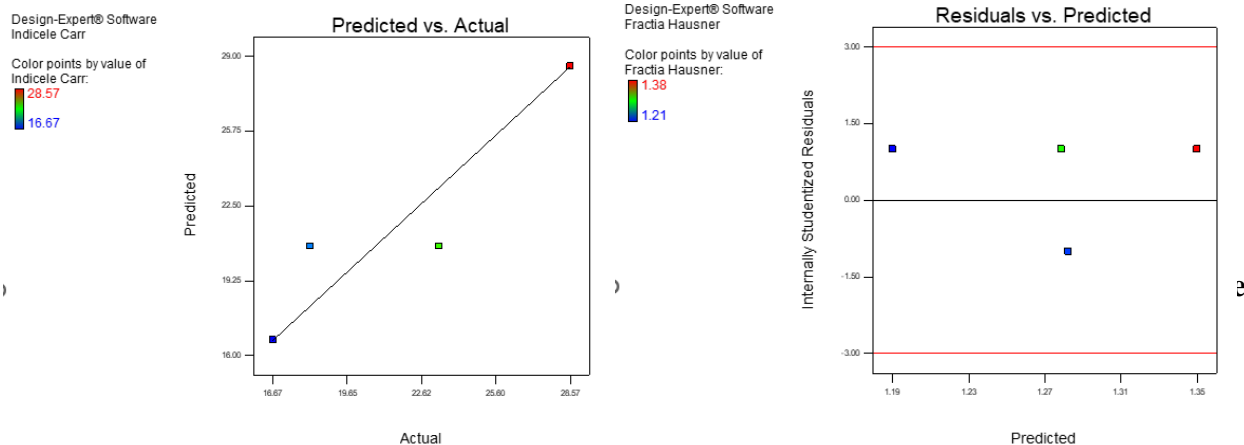
**Anexa 11. Optimizarea formulărilor capsulelor combinate cu conținut de nicergolină (NIC), piracetam (PIR) și extract de păducel (EP) (cu ajutorul Design-Expert 7 Stat-Ease Software (Minneapolis, SUA))**

**Tabelul A11.1. Rezultatele obținute în urma fitării răspunsurilor variabilelor dependente  
Rezultatele fitării NIC+PIR+EP**

	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>R<sup>2</sup> adj.</b>	<b>Q2</b>	<b>RSD</b>	<b>N</b>
<b>Indicele Carr</b>	0,6630	-0,0109	-22,5865	5,43	4
N = 4	Intercepția =	20,19			
DF = 3					
<b>Fracția Hausner</b>	0,6166	-0,1501	-25,8349	1,889	4
N = 4	Intercepția =	1,26			
DF = 4					
<b>Constanta de dizolvare NIC</b>	0,9917	0,9750	0,4169	3,589E-004	4
N = 4	Intercepția =	0,16			
DF = 3					
<b>Constanta de dizolvare PIR</b>	0,8940	0,6819	-6,4223	7,732E-003	4
N = 4	Intercepția =	0,024			
DF = 3					



**Fig. A11.1. Fitarea răspunsurilor variabilelor dependente în procesul optimizării capsulelor cu NIC+PIR+EP**



**Fig. A11.2. Graficele reziduale ale răspunsurilor obținute (Actual) față de răspunsurile prezise (Predicted)**

**Tabelul A11.2. Analiza variațiilor ANOVA pentru răspunsurile variabilelor dependente**

	Grad de libertate	Suma pătratelor	Media pătratelor (varianță)	F (coeficient Fisher)	p	Deviația standard
<b>Indicele Carr</b>						
Total	4	58,05	29,02			
Total corectat	2	87,54	39,12			5,43
Regresie		29,50	29,50	0,98	<b>0,005805</b>	5,43
	N = 4	Q <sup>2</sup> =	-22,5865			
	DF = 2	R <sup>2</sup> =	0,6630	RSD =	5,43	
		R <sup>2</sup> adj. =	-0,0109			
<b>Fractia Hausner</b>						
Total	4	0,012	5,820E-003			
Total corectat	3	0,019	8,271E-003			0,085
Regresie	3	7,236E-003	7,236E-003	0,80	<b>0,0056192</b>	0,085
	N = 4	Q <sup>2</sup> =	-25,8349			
	DF = 3	R <sup>2</sup> =	0,6166	RSD =	0,085	
		R <sup>2</sup> adj. =	-0,1501			
<b>Constanta de dizolvare NIC</b>						
Total	4	1,533E-005	7,667E-006			
Total corectat	3	1,546E-005	7,872E-006			3,589E-004
Regresie	1	1,288E-007	1,288E-007	59,52	<b>0,000913</b>	3,589E-004
	N = 4	Q <sup>2</sup> =	0,4169			
	DF = 3	R <sup>2</sup> =	0,9917	RSD =	3,589E-004	
		R <sup>2</sup> adj. =	0,9750			
<b>Constanta de dizolvare PIR</b>						
Total	4	5,041E-004	2,520E-004			
Total corectat	3	5,638E-004	7,872E-006			7,732E-003
Regresie	3	5,979E-005	5,979E-005	4,22	<b>0,003256</b>	7,732E-003
	N = 6	Q <sup>2</sup> =	-6,4223			
	DF = 2	R <sup>2</sup> =	0,8940	RSD =	7,732E-003	
		R <sup>2</sup> adj. =	0,6819			

**Tabelul A11.3. Influența variabilelor independente (lactoză monohidrat și stearat de magneziu) ca factori de formulare asupra parametrilor tehnologici: indicele Carr și fracția Hausner**

	Term	Effect	SumSqr	% Contribuție
<b>Indicele Carr</b>				
Require	Intercept	2076		
Model	Lactoză monohidrat	-1,51	16,40	<b>18,73</b>
Model	Stearat de magneziu	-6,66	57,41	<b>65,58</b>
Model	AB	5,24	13,73	37,06
	Lenth's ME	99,87		
	Lenth's SME	295,10		
N = 4	Q <sup>2</sup> =	-22,5865		
DF = 2	R <sup>2</sup> =	0,6630	RSD =	5,43
	R <sup>2</sup> adj. =	-0,0109		
<b>Fracția Hausner</b>				
Require	Intercept	1,3		
Model	Lactoză monohidrat	-1.000E-002	5.000E-005	<b>0,68</b>
Model	Stearat de magneziu	-0,090	4.050E-003	<b>55,48</b>
Model	AB	0,080	3.200E	43.84
	Lenth's ME	1,52		
	Lenth's SME	4,51		
N = 4	Q <sup>2</sup> =	-25,8349		
DF = 3	R <sup>2</sup> =	0,6166	RSD =	0,085
	R <sup>2</sup> adj. =	-0,1501		

**Tabelul A11.4. Influența variabilelor independente (lactoză monohidrat și stearat de magneziu) ca factori de formulare asupra constantelor de dizolvare a NIC și PIR**







	Term	Effect	SumSqr	% Contribuție
<b>Constanta de dizolvare NIC</b>				
Require	Intercept			
Model	A-Lactoză monohidrat	0,29	0,043	<b>45,32</b>
Model	B-Stearat de magneziu	0,32	0,051	<b>54,44</b>
Model	AB	0,021	2,290E-004	0,24
	Lenth's ME	5,56		
	Lenth's SME	16,43		
N = 4	Q <sup>2</sup> =	0,4169		
DF = 3	R <sup>2</sup> =	0,9917	RSD =	3,589E-004
	R <sup>2</sup> adj. =	0,9750		
<b>Constanta de dizolvare PIR</b>				
Require	Intercept	0,016		
Model	A-Lactoză monohidrat	-2,050E-003	2,101E-006	<b>16,34</b>
Model	B-Stearat de magneziu	3,450E-003	5,951E-006	<b>46,29</b>
Model	AB	3,100E-003	4,805E-006	37,37
	Lenth's ME	0,059		
	Lenth's SME	0,17		
N = 4	Q <sup>2</sup> =	-6,4223		
DF = 3	R <sup>2</sup> =	0,8940	RSD =	7,732E-003
	R <sup>2</sup> adj. =	0,6819		

**Tabelul A11.5. Anticiparea rezultatelor variabilelor dependente în funcție de factorii de formulare optimizați**

<b>Factor</b>	<b>Name</b>	<b>Level</b>	<b>Low Level</b>	<b>High Level</b>	<b>Std. Dev.</b>	<b>Coding</b>
<b>A</b>	<b>Lactoză monohidrat</b>	<b>47,74</b>	<b>46,00</b>	<b>50,00</b>	<b>0.000</b>	<b>Actual</b>
<b>B</b>	<b>Stearat de magneziu</b>	<b>0,46</b>	<b>0,40</b>	<b>0,60</b>	<b>0.000</b>	<b>Actual</b>
<b>Response</b>	<b>Prediction</b>	<b>SE Mean</b>	<b>95% CI low</b>	<b>95% CI high</b>	<b>SE Pred</b>	<b>95% PI low</b>
Indicele Carr	23,8397	3,33	-16,31	68,28	4,93	-36,70
Fracția Hausner	1,3085	0,038	0,78	1,75	0,084	0,20
Const. de diz. NIC	0,060388	0,107347	8,618E-003	-2,156E-003	0,22	0,017
Const. de diz. PIR	0,0156898	0,053	-	-	-	-


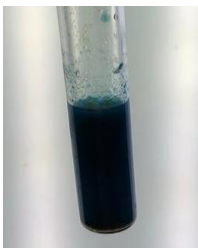
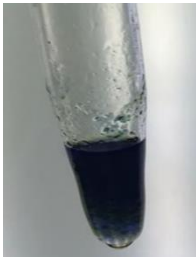
## Anexa 12. Analiza picăturilor auriculare combinate cu IHF și MU

Tabelul A12.1. Efectul analitic al reacțiilor de identificare pentru IHF

Denumirea probei	Reacția cu soluție de bază	Reacția cu soluție de N,N-dimetilformamidă
<i>IHF</i>	 Colorație roșie-brună	 Colorație oranj cu fluorescență
<i>Amestec mecanic (1:1)</i>	 Colorație brună	 Colorație galbenă
<i>Picături auriculare</i>	 Colorație galben-oranj	 Colorație gălbuie



**Tabelul A12.2. Efectul analitic al reacțiilor de identificare pentru MU**

Denumirea probei	Reacția de formare a compușilor complecși cu soluție alcoolică de $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$
<i>MU</i>	<p>Colorație albastră</p> 
<i>Amestec mecanic (1:1)</i>	<p>Colorație albastră-închisă</p> 
<i>Picături auriculare</i>	<p>Colorație albastră-verzuie</p> 

**Tabelul A12.3. Rezultatele evaluării statistice primare a metodei spectrofometrice de dozare. IHF și MU din picături auriculare prin metoda spectrofotometrie UV-VIS**

Dozare UV-VIS_IHF			
Parametrii statistici	Seria 1	Seria 2	Seria 3
N	6	6	6
$\bar{y}$	0,0510100	0,0513383	0,0514200
95 %			
CI	Limita de jos	0,0505427	0,0510047
	Limita de sus	0,0514773	0,0516720
SD	0,00044529	0,00031796	0,00050466
Me	0,0511450	0,0511550	0,0516200
IQR	0,00038	0,00055	0,00032
Xmin	0,05011	0,05112	0,05039
Xmax	0,05128	0,05186	0,05164
P>0,05		0,147	
Dozare UV-VIS_MU			
N	6	6	6
$\bar{y}$	1,9969967	1,9963617	1,9971750
95%			
CI	Limita de jos	1,9844983	1,9895249
	Limita de sus	2,0094950	2,0031984
SD	0,01190958	0,00651471	0,00496131
Me	1,9933250	1,9941050	1,9956000
IQR	0,02477	0,00504	0,00752
Xmin	1,98444	1,99225	1,99331
Xmax	2,01183	2,00956	2,00601
P>0,05		0,911	

**Tabelul A12.4. Rezultatele acurateții metodei HPLC de dozare a IHF și MU din picături auriculare în procesul de validare a metodei**

Nivel de concentrație, %		Număr de determinări	Concentrația teoretică a probei, μg/ml	Aria picului	Concentration determinată, μg/ml	% recuperare	Media, % RSD
IHF	80	1	8	1287464.11	7.98	99.33	100.11
		2	8	1289905.64	7.99	99.67	
		3	8	1299085.86	8.04	101.33	1,07
	100	1	10	1695451.00	10.00	100.00	100.00
		2	10	1695449.01	10.00	100.00	
		3	10	1695459.41	10.00	100.00	0.000
	120	1	12	2095255.76	11.99	99.86	99.29
		2	12	2090355.37	11.97	99.57	
		3	12	2074029.30	11.89	98.43	0.57
MU	80	1	320	22678499.61	319.71	99.76	98.55
		2	320	22573079.80	318.20	98.50	
		3	320	22480531.64	316.88	97.40	0.80
	100	1	400	28249278.01	399.43	99.72	99.72
		2	400	28250149.12	399.44	99.72	
		3	400	28250098.37	399.44	99.72	0.00
	120	1	480	33919956.31	480.57	100.20	99.55
		2	480	33641474.81	476.59	98.78	
		3	480	33814742.41	479.07	99.67	0.72

Note: RSD – Abaterea relativă standard

**Tabelul A12.5. Rezultatele determinării repeatabilității metodei HPLC de dozare a IHF și MU din picături auriculare în procesul de validare a metodei**

Nr.	Timp de retenție, min		Aria picului		Concentrație, %	
	IHF	MU	IHF	MU	IHF	MU
1	4.353	3.527	1522219	28260214	0.05394	2.00420
2	4.353	3.526	1512397	28359871	0.05359	2.01127
3	4.345	3.521	1520117	28099658	0.05387	1.99282
4	4.338	3.513	1510048	28162578	0.05351	1.99728
5	4.342	3.518	1521877	28352178	0.05393	2.01073
6	4.347	3.525	1534892	28642587	0.05439	2.03132
Media	4.346	3.522	1520258.33	28312847.70	0.05390	2.00790
RSD, %	0.138	0.154	0.578	0.676	0.578	0.676

**Tabelul A12.6. Rezultatele determinărilor preciziei intermediare în testul de validare a metodei HPLC de dozare a IHF și MU din picături auriculare în procesul de validare a metodei**

No.	Ziua 1				Ziua 2							
	Timp de retenție, min		Aria picului		Concentrație, %		Timp de retenție, min		Aria picului		Concentrație, %	
	IHF	MU	IHF	MU	IHF	MU	IHF	MU	IHF	MU	IHF	MU
1	4.353	3.527	1522219	28260214	0.05394	2.00420	4.356	3.528	1521289	28258971	0.05391	2.00412
2	4.353	3.526	1512397	28359871	0.05359	2.01127	4.353	3.526	1551578	28365214	0.05498	2.01165
3	4.345	3.521	1520117	28099658	0.05387	1.99282	4.344	3.523	1520001	28095641	0.05386	1.99253
4	4.338	3.513	1510048	28162578	0.05351	1.99728	4.337	3.511	1525697	28150018	0.05406	1.99639
5	4.342	3.518	1521877	28352178	0.05393	2.01073	4.342	3.517	1523149	28363578	0.05397	2.01154
6	4.347	3.525	1534892	28642587	0.05439	2.03132	4.347	3.525	1527741	28636398	0.05414	2.03088
Media	4.346	3.522	1520258	28312847	0.05390	2.00790	4.346	3.522	1528242	28311636	0.0542	2.0079
RSD %	0.138	0.154	0.578	0.676	0.578	0.676	0.138	0.154	0.771	0.682	0.771	0.682

**Tabelul A12.7. Resultatele determinării robusteții metodei HPLC de dozare a IHF și MU din picături auriculare în procesul de validare a metodei**

Parametrii variabili	Timp de retenție, min		Aria picului		Concentrație, %		
	IHF	MU	IHF	MU	IHF	MU	
Viteza fazei mobile 0.5 ml/min	4.352	3.528	1524852	28260559	0.05403	1.93766	
Viteza fazei mobile 0.7 ml/min	4.402	3.587	1527310	28354859	0.05412	1.94412	
Metanol: apă 58.8:41.2	4.345	3.522	1520148	28082949	0.05387	1.92548	
Metanol: apă 61.2:38.8	4.337	3.514	1545991	28158859	0.05478	1.93068	
Temperatura Coloanei 25 <sup>0</sup> C	4.34	3.517	1524811	28378227	0.05403	1.94572	
Temperatura Coloanei 35 <sup>0</sup> C	4.348	3.524	1548709	28846585	0.05488	1.97784	
Valori medii	$\bar{X}$	4.354	3.532	1.53E+06	2.83E+07	0.05429	1.94358
Deviația standard	S <sup>2</sup>	5.82E-04	7.51E-04	1.48E+08	7.26E+10	1.86E-07	3.41E-04
	S	0.024	0.027	12166.964	269523.310	0.00043	0.01848
Deviația standard relativă	RSD	0.554	0.776	0.794	0.951	0.794	0.951

**Tabelul A12.8. Evaluarea statistică a rezultatelor dozării HPLC a IHF și MU din picături auriculare**

HPLC IHF			
Parametrii statistici	Seria 1	Seria 2	Seria 3
N	6	6	6
$\bar{X}$	0,0540833	0,0541667	0,0541533
95 % CI	Limita de jos Limita de sus	0,0535559 0,0544998	0,0538336 0,0545914
SD	0,0005	0,0003	0,0004
Me	0,0542500	0,0540750	0,0540150
IQR	0,0010	0,0003	0,0005
Xmin	0,05345	0,05387	0,05498
Xmax	0,05466	0,05478	0,05498
P>0,05			
HPLC MU			
N	6	6	6
$\bar{X}$	2,012050000	2,007996667	2,007851667
95% CI	Limita de jos Limita de sus	2,003129693 2,022760503	1,993232830 0,022228428
SD	0,009	0,01406	0,0137
Me	2,010640000	2,007575000	2,007830000
IQR	0,01428	0,02103	0,02103
Xmin	2,000500000	1,991630000	1,992530000
Xmax	2,02470000	2,031610000	2.038350000
P>0,05		0,805	

### Anexa 13. Analiza picăturilor auriculare cu CIP, EC și UVB

Tabelul A13.1. Efectele analitice ale reacțiilor chimice de culoare la identificarea CIP și EC

Reagent Denumirea probei	Sol. FeCl <sub>3</sub>	Sol. CuSO <sub>4</sub>	Reactiv Dragendorf	Reactiv Mayer	Reactiv Lugol	Acid picric	Sol. Difenilamină
<b>Efecte analitice</b>							
<i>Clorhidrat de CIP</i>	roșu brun	albastru deschis					
<i>Nitrat de EC</i>			galben-portocaliu	Precipitat alb	Roșu	galben	albastru
<i>Amestec mecanic (1:1)</i>	roșu brun	albastru deschis	galben-portocaliu	Precipitat alb	Roșu	galben	albastru
<i>Picături auriculare</i>	roșu brun	albastru deschis	galben-portocaliu	Precipitat alb	Roșu	galben	albastru

Tabelul A13.2. Rezultatele analizei prin CSS a substanțelor individuale din picăturile auriculare cu CIP, EC și UVB pentru stabilirea sistemului de dezvoltare

Faza mobilă	Metoda de revelare/detecție	Clorhidrat de CIP	Nitrat de EC
<i>Hexan:CHCl<sub>3</sub>:MeOH:N H<sub>3</sub>-25% 60:30:10:1</i>	Se pulverizează cu soluție de iod în cloroform	Spoturi împrăștiat. Rf=0,1	Spot nedeterminat
<i>CHCl<sub>3</sub>:MeOH:NH<sub>3</sub>- 25% 43:43:14</i>	Examinare în UV la lungimea de undă 330 nm	Spot nedeterminat	Spoturi neregulat. Rf=0,1
<i>Acetonitril: NH<sub>3</sub>-25%: MeOH: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 10:20:40:40</i>	Examinare în UV la lungimea de undă 254 nm	Spoturi slab conturate Rf =0,6	Spoturi slab conturate Rf=0,85
<i>Metanol:Acetonitril 50:50</i>	Examinare în UV la lungimea de undă 254 nm	Spoturi bine conturate Rf =0,33	Spoturi bine conturate, Migrarea Ecului prea rapidă Rf=0,92
<i>Metanol:Acetonitril 30:70</i>	Examinare în UV la lungimea de undă 254 nm	Spoturi bine conturate Rf =0,32	Spoturi bine conturate. Migrarea Ecului prea rapidă Rf=0,92
<i>Metanol:Acetonitril 40:60</i>	Examinare în UV la lungimea de undă 254 nm; Se pulverizează cu soluție de reactiv Dragendorf	Spoturi bine conturate, <b>Rf =0,32</b>	Spoturi bine conturate, separae bună <b>Rf=0,77</b>
<i>CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:Metanol2:Propa nol:NH<sub>3</sub>-25% 4:4:5:2</i>	Examinare în UV la lungimea de undă 254 nm	Spot determinat Rf =0,47	Spot nedeterminat
<i>CHCl<sub>2</sub>:Metanol:2- Propanol:NH<sub>3</sub>-25% 2:2:5:2</i>	Examinare în UV la lungimea de undă 254 nm	Spot determinat Rf =0,62	Spot nedeterminat
<i>CHCl<sub>3</sub>:Metanol:2- Propanol:NH<sub>3</sub>-25% 4:2:5:1</i>	Examinare în UV la lungimea de undă 254 nm	Spot slab conturat Rf =0,14	Spot nedeterminat

**Tabelul A13.3. Componentele de bază a uleiului volatil de busuioc determinate prin spectrometrie de masă**

m/z	Intensitatea relativă, %									
	camfor	linalool	$\alpha$ -bergamotin	eugenol	metilcavicol	eucaliptol	limonen	pinen	cincol	fenchon
163,17					75	98			21	
204,37	26				33					
239,31		16		12						43
253,31		65					18	62		
255,40		100					24			
265,31				53	20					
283,36	18		47							
325,33							17		12	
393,29		100	29		26	62			59	
401,29			21			100		12		
401,33		98								
429,30		57	11		50					
437,35		48			41					
471,37		69		34			10			
525,41	15				49					14
581,41		24				36		39		

**Tabelul A13.4. Calcularea regresiei liniare prin metoda celor mai mici pătrate pentru CIP în procesul de validare a metodei spectrofotometrice de dozare a picăturilor auriculare combinate cu CIP, EC și UVB**

	$X_{ij}$ C, $\mu\text{g/ml}$	$Y_{ij}$ , A	$X_{ij} - X_{med}$	$(X_{ij} - X_{med})^2$	$Y_{ij} - Y_{med}$	$(Y_{ij} - Y_{med})^2$	$(X_{ij} - X_{med}) * (Y_{ij} - Y_{med})$		
1	0	0	0	0	0	0	0	$X^2_{med}$	256.000
	5	0.52904	-11.000	121.000	-1.179	1.4	12.967	<b>Deviatia standard DS</b>	9.618
	10	0.97784	-6.000	36.000	-0.730	0.53	4.380	<b>Covariatia, S<sub>XY</sub></b>	
	15	1.5094	-1	1	-0.198	0.04	0	$r^2$	10.7641
	20	2.1067	4.000	16.000	0.399	0.16	1.596	<b>Panta, a</b>	0.9971
	30	3.42	14.000	196.000	1.708	2.92	23.916	<b>Interceptia b</b>	0.1164
	$X_{med} =$	$Y_{med} =$		<b>Suma =</b>		<b>Suma =</b>	<b>Suma =</b>		
	<b>16.000</b>	<b>1.708</b>		<b>370.000</b>		<b>5.04</b>	<b>43.056</b>		
2	0	0.0000	0	0	0	0	0	$X^2_{med}$	256.000
	5	0.5288	-11.000	121.000	-1.189	1.4	13.074	<b>Deviatia standard DS</b>	9.618
	10	0.9819	-6.000	36.000	-0.736	0.54	4.413	<b>Covariatia, S<sub>XY</sub></b>	
	15	1.5101	-1	1	-0.207	0.04	0	$r^2$	10.9655
	20	2.0847	4.000	16.000	0.367	0.13	1.469	<b>Panta, a</b>	0.9958
	30	3.4815	14.000	196.000	1.764	3.11	24.698	<b>Interceptia b</b>	0.1185
	$X_{med} =$	$Y_{med} =$		<b>Suma =</b>		<b>Suma =</b>	<b>Suma =</b>		
	<b>16.000</b>	<b>1.717</b>		<b>370.000</b>		<b>5.24</b>	<b>43.862</b>		
3	0	0	0	0	0	0	0	$X^2_{med}$	256.000
	5	0.5274	-11.000	121.000	-1.186	1.4	13.045	<b>Deviatia standard DS</b>	9.618
	10	0.9802	-6.000	36.000	-0.733	0.54	4.399	<b>Covariatia, S<sub>XY</sub></b>	
	15	1.5089	-1	1	-0.204	0.04	0	$r^2$	10.9269
	20	2.0801	4.000	16.000	0.367	0.13	1.467	<b>Panta, a</b>	0.9959
	30	3.4699	14.000	196.000	1.757	3.09	24.592	<b>Interceptia b</b>	0.1181
	$X_{med} =$	$Y_{med} =$		<b>Suma =</b>		<b>Suma =</b>	<b>Suma =</b>		
	<b>16.000</b>	<b>1.713</b>		<b>370.000</b>		<b>5.21</b>	<b>43.708</b>		

**Tabelul A13.5. Calcularea regresiei liniare prin metoda celor mai mici pătrate pentru EC în procesul de validare a metodei spectrofotometrice de dozare a picăturilor auriculare combinate cu CIP, EC și UVB**

	X <sub>ij</sub> C, µg/ml	Y <sub>ij</sub> , A	X <sub>ij</sub> - X <sub>med</sub>	(X <sub>ij</sub> - X <sub>med</sub> ) <sup>2</sup>	Y <sub>ij</sub> - Y <sub>med</sub>	(Y <sub>ij</sub> - Y <sub>med</sub> ) <sup>2</sup>	(X <sub>ij</sub> - X <sub>med</sub> )* (Y <sub>ij</sub> - Y <sub>med</sub> )		
<b>1</b>	0	0	0	0	0	0	0	<b>X<sup>2</sup><sub>med</sub></b>	1764.000
	10	0.2258	-32.000	1024.000	-0.851	0.7	27.230	<b>Deviatia</b>	28.636
	20	0.58355	-22.000	484.000	-0.493	0.24	10.850	<b>standard DS</b>	
	40	1.1189	-2	4	0.042	0.00	0	<b>Covariatia, S<sub>XY</sub></b>	19.68643
	60	1.5129	18.000	324.000	0.436	0.19	7.851	<b>r<sup>2</sup></b>	0.9952
	80	1.94250	38.000	1444.000	0.866	0.75	32.899	<b>Panta, a</b>	0.02401
	X <sub>med</sub> =	Y <sub>med</sub> =		Suma =		Suma =	Suma =	<b>Interceptia b</b>	0.06840
	<b>42.000</b>	<b>1.077</b>		<b>3280.000</b>		<b>1.91</b>	<b>78.746</b>		
<b>2</b>	0	0	0	0	0	0	0	<b>X<sup>2</sup><sub>med</sub></b>	1764.000
	10	0.23140	-32.000	1024.000	-0.849	0.7	27.180	<b>Deviatia</b>	28.63564
	20	0.58950	-22.000	484.000	-0.491	0.24	10.808	<b>standard DS</b>	
	40	1.12010	-2	4	0.039	0.00	0	<b>Covariatia, S<sub>XY</sub></b>	19.67510
	60	1.51360	18.000	324.000	0.433	0.19	7.791	<b>r<sup>2</sup></b>	0.99540
	80	1.94920	38.000	1444.000	0.868	0.75	33.001	<b>Panta, a</b>	0.02399
	X <sub>med</sub> =	Y <sub>med</sub> =		Suma =		Suma =	Suma =	<b>Interceptia b</b>	0.07301
	<b>42.000</b>	<b>1.081</b>		<b>3280.000</b>		<b>1.91</b>	<b>78.700</b>		
<b>3</b>	0	0	0	0	0	0	0	<b>X<sup>2</sup><sub>med</sub></b>	1764.000
	10	0.2145	-32.000	1024.000	-0.848	0.7	27.144	<b>Deviatia</b>	28.63564
	20	0.5648	-22.000	484.000	-0.498	0.25	10.955	<b>standard DS</b>	
	40	1.1084	-2	4	0.046	0.00	0	<b>Covariatia, S<sub>XY</sub></b>	19.66935
	60	1.50	18.000	324.000	0.438	0.19	7.878	<b>r<sup>2</sup></b>	0.99512
	80	1.93	38.000	1444.000	0.863	0.74	32.792	<b>Panta, a</b>	0.02399
	X <sub>med</sub> =	Y <sub>med</sub> =		Suma =		Suma =	Suma =	<b>Interceptia b</b>	0.05531
	<b>42.000</b>	<b>1.063</b>		<b>3280.000</b>		<b>1.91</b>	<b>78.677</b>		

**Tabelul A13.6. Valorile SD a intercepției și media pantei drepte de regresie pentru calcularea LOD și LOQ a ciprofloxacinei în procesul de validare a metodei spectrofotometrice de dozare a picăturilor auriculare combinate cu CIP, EC și UVB**

CIP	S <sub>x</sub>	r <sup>2</sup>	a	b
	10.7641	0.9971	0.1164	0.1544
	10.9655	0.9958	0.1185	0.1793
	10.9269	0.9959	0.1181	0.1768
<b>Media</b>	<b>10.8855</b>	<b>0.996267</b>	<b>0.117666667</b>	<b>0.170166667</b>
S <sup>2</sup>	0.0114		0.000001	0.000188
SD	0.106892282		0.00112	0.01371
<b>RSD</b>	<b>0.981969429</b>		<b>0.947633353</b>	<b>8.057647848</b>

**Tabelul 13.7. Valorile SD a intercepției și media pantei drepte de regresie pentru calcularea LOD și LOQ a ECului în procesul de validare a metodei spectrofotometrice de dozare a picăturilor auriculare combinate cu CIP, EC și UVB**

	S <sub>x</sub>	r <sup>2</sup>	A	b
	19.68643	0.9952	0.02401	0.0684
	19.63564	0.9954	0.02399	0.07301
	19.66935	0.99512	0.02399	0.05531
<b>Media</b>	<b>19.66380667</b>	<b>0.99524</b>	<b>0.023996667</b>	<b>0.065573333</b>
S <sup>2</sup>	0.00067		0.00000	0.00008
S	0.025844776		0.00001	0.00918
<b>RSD</b>	<b>0.131433227</b>		<b>0.048119206</b>	<b>14.00313407</b>

**Tabelul A13.8. Rezultatele statistice obținute la determinarea exactității ciprofloxacinei în procesul de validare a metodei spectrofotometrice de dozare a picăturilor auriculare combinate cu CIP, EC și UVB**

A	Ct		Cp	Ca	Ct	R, %	
0.9778	7.95	<b>80%</b>	5	3	7.95	98.33	
0.9819	7.98		5	3	7.98	99.33	
0.9802	7.97		5	3	7.97	99.00	
1.2089	10.00	<b>100%</b>	5	5	10	100.00	
1.2078	9.99		5	5	9.99	99.80	
1.2071	9.98		5	5	9.98	99.60	
1.4289	11.95	<b>120%</b>	5	7	11.95	99.29	
1.4301	11.96		5	7	11.96	99.43	
1.4311	11.97		5	7	11.97	99.57	
	A 80%		A 100%			A 120%	
	0.9778		1.2089			1.4289	
	0.9819		1.2078			1.4301	
	0.9802		1.2071			1.4311	
<b>Media</b>	<b>0.979967</b>		<b>Media</b>	<b>1.207933</b>		<b>Media</b>	<b>1.430033</b>
S2	0.0	S2	0.0	S2	0.0		
S	0.00206	S	0.000907	S	0.001102		
<b>RSD</b>	<b>0.210205</b>		<b>RSD</b>	<b>0.075118</b>		<b>RSD</b>	<b>0.077027</b>

Notă: A – absorbanta; Cp - concentrația probei fără adaos, µg/ml; Ca - concentrația adaosului standard, µg/ml; Ct - concentrația totală a probei împreună cu adaos, µg/ml; R - randamentul recuperării, % ( $R = [(C_t - C_p)/C_a] * 100\%$ )

**Tabelul A13.9. Rezultatele statistice obținute la determinarea exactității Ecului în procesul de validare a metodei spectrofotometrice de dozare a picăturilor auriculare combinate cu CIP, EC și UVB**

A	Ct		Cp	Ca	Ct	R, %	
0.1548	8.03	<b>80%</b>	5	3	8.03	101.00	
0.1551	8.04		5	3	8.04	101.33	
0.1568	8.11		5	3	8.11	103.67	
0.2054	10.10	<b>100%</b>	5	5	10.1	102.00	
0.2023	9.97		5	5	9.97	99.40	
0.2034	10.02		5	5	10.02	100.40	
0.2514	11.98	<b>120%</b>	5	7	11.98	99.71	
0.2524	12.02		5	7	12.02	100.29	
0.2518	11.99		5	7	11.99	99.86	
	A 80%		A 100%			A 120%	
	0.1548		0.2054			0.2514	
	0.1551		0.2023			0.2524	
	0.1568		0.2034			0.2518	
<b>Media</b>	<b>0.155567</b>		<b>Media</b>	<b>0.2037</b>		<b>Media</b>	<b>0.251867</b>
S2	0.0	S2	0.0	S2	0.0		
S	0.001079	S	0.001572	S	0.000503		
<b>RSD</b>	<b>0.693323</b>		<b>RSD</b>	<b>0.771538</b>		<b>RSD</b>	<b>0.199837</b>

Notă: A – absorbanta; Cp - concentrația probei fără adaos, µg/ml; Ca - concentrația adaosului standard, µg/ml; Ct - concentrația totală a probei împreună cu adaos, µg/ml; R - randamentul recuperării, % ( $R = [(C_t - C_p)/C_a] * 100\%$ )

**Tabelul A13.10. Rezultatele determinării preciziei la dozarea ciprofloxacinei în procesul de validare a metodei spectrofotometrice de dozare a picăturilor auriculare combinate cu CIP, EC și UVB**

	CIP	Repetabilitatea CIP		Precizia intermedie CIP									
		Picături F4_S 01	Picături F4_S 02	Picături F4_S 03	Picături F4_S 01	Picături F4_S 02	Picături F4_S 03	A	C, g	A	C, g	A	C, g
		A	C, g	A	C, g	A	C, g	A	C, g	A	C, g	A	C, g
		0.04103	0.05011	0.04127	0.05041	0.04087	0.04992	0.04107	0.05016	0.04128	0.05042	0.04088	0.04993
		0.04112	0.05022	0.04118	0.05030	0.04097	0.05004	0.04108	0.05017	0.04131	0.05046	0.04087	0.04992
		0.04109	0.05019	0.04108	0.05017	0.04088	0.04993	0.04107	0.05016	0.0413	0.05044	0.04074	0.04976
		0.04101	0.05009	0.04101	0.05009	0.04079	0.04982	0.04104	0.05013	0.04128	0.05042	0.04091	0.04997
		0.04111	0.05021	0.04184	0.05110	0.04099	0.05006	0.04101	0.05009	0.04117	0.05028	0.04099	0.05006
		0.04107	0.05016	0.04104	0.05013	0.04086	0.04991	0.0411	0.05020	0.04119	0.05031	0.04099	0.05006
<b>Numărul de măsurări</b>	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
<b>Valoarea medie</b>	$\bar{X}$	0.04107	0.05016	0.04124	0.05037	0.04089	0.04995	0.04106	0.05015	0.04126	0.05039	0.04090	0.04995
<b>Abaterea standard</b>	S <sup>2</sup>	0.000000	0.000000	0.0000001	0.00000014	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000
	S	4.4E-05	0.00005	0.000311	0.000380	7.4E-05	9.1E-05	3.2E-05	3.89E-05	6E-05	7.3E-05	9.3E-05	0.000113
<b>Abaterea medie pătratică</b>	$S_{\bar{X}}$	1.8E-05	0.00002	0.000127	0.0001550	3E-05	3.7E-05	1.3E-05	1.59E-05	2.4E-05	3E-05	3.8E-05	4.63E-05
<b>Deviația standard relativă</b>	RSD	0.10715	0.10715	0.753659	0.7536593	0.18212	0.18212	0.07765	0.077652	0.14442	0.14442	0.22711	0.227109
<b>Probabilitate</b>	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
<b>Coeficientul Student</b>	t	2.57058	2.5706	2.5706	2.5705818	2.57058	2.57058	2.57058	2.570582	2.57058	2.57058	2.57058	2.570582
<b>Interval de încredere</b>	$\bar{X} \pm \Delta\bar{X}$	4.6E-05	0.00006	0.00033	0.00040	0.00008	0.00010	0.00003	0.00004	0.00006	0.00008	0.00010	0.00012
<b>Rezultatul final</b>		0.04112	0.05022	0.04156	0.05076	0.04097	0.05004	0.04110	0.05019	0.04132	0.05046	0.04099	0.05007
	$\bar{X} - \Delta\bar{X}$	0.0410	0.0501	0.0409	0.0500	0.0408	0.0499	0.0410	0.0501	0.0412	0.0503	0.0408	0.0498

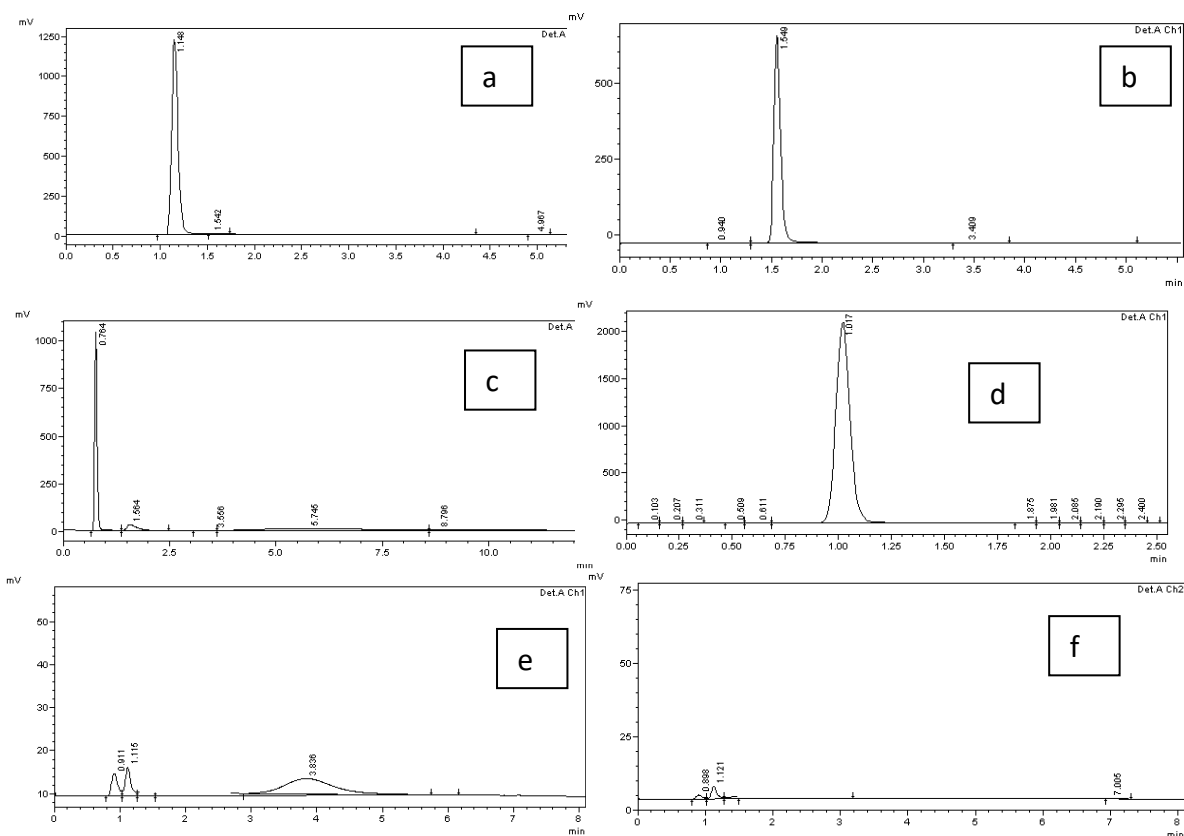


**Tabelul A13.11. Rezultatele determinării preciziei la dozarea Ecului în procesul de validare a metodei spectrofotometrice de dozare a picăturilor auriculare combinate cu CIP, EC și UVB**

		Repetabilitatea						Precizia intermediară					
		Picături F4_ S 01		Picături F4_ S 02		Picături F4_ S 03		Picături F4_ S 01		Picături F4_ S 02		Picături F4_ S 03	
		A	C, g	A	C, g	A	C, g	A	C, g	A	C, g	A	C, g
		1.24080	0.05145	1.24013	0.05143	1.23954	0.05140	1.23954	0.05140	1.23478	0.05120	1.23374	0.05116
		1.24101	0.05146	1.24001	0.05142	1.23915	0.05139	1.23891	0.05138	1.23424	0.05118	1.23349	0.05115
		1.24014	0.05143	1.24002	0.05142	1.23910	0.05138	1.23854	0.05136	1.23497	0.05121	1.23341	0.05115
		1.24054	0.05144	1.23998	0.05142	1.23901	0.05138	1.23745	0.05132	1.23399	0.05117	1.23354	0.05115
		1.24084	0.05146	1.23987	0.05142	1.23901	0.05138	1.23548	0.05123	1.23389	0.05117	1.23319	0.05114
		1.24073	0.05145	1.23976	0.05141	1.23891	0.05138	1.23512	0.05122	1.23374	0.05116	1.23319	0.05114
Numărul de măsurări	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
Valoarea medie	$\bar{X}$	1.24068	0.05145	1.23996	0.05142	1.23912	0.05138	1.23751	0.05132	1.23427	0.05118	1.23343	0.05115
Abaterea standard	S <sup>2</sup>	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000003	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000
	S	0.0003	0.00001	0.000128	0.000005	0.00022	9.2E-06	0.00184	7.64E-05	0.0005	2.1E-05	0.00021	8.84E-06
Abaterea medie pătratică	$S_{\bar{X}}$	0.00012	0.00001	5.22E-05	0.0000022	9.1E-05	3.8E-06	0.00075	3.12E-05	0.0002	8.5E-06	8.7E-05	3.61E-06
Deviația standard relativă	RSD	0.02451	0.02451	0.010317	0.0103167	0.0179	0.0179	0.14891	0.148907	0.04059	0.04059	0.01729	0.017288
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
Coefficientul Student	t	2.57058	2.5706	2.5706	2.5705818	2.57058	2.57058	2.57058	2.570582	2.57058	2.57058	2.57058	2.570582
Interval de încredere	$\Delta\bar{X}$	0.00032	0.00001	0.00013	0.00001	0.00023	0.00001	0.00193	0.00008	0.00053	0.00002	0.00022	0.00001
Rezultatul final	$\bar{X} + \Delta\bar{X}$	1.24100	0.05146	1.24010	0.05143	1.23935	0.05139	1.23944	0.05140	1.23479	0.05121	1.23365	0.05116
	$\bar{X} - \Delta\bar{X}$	1.2404	0.0514	1.2398	0.0514	1.2389	0.0514	1.2356	0.0512	1.2337	0.0512	1.2332	0.0511

**Tabelul A13.12. Evaluarea statistică a rezultatelor dozării CIP și EC în picături auriculare prin metoda spectrofotometrică UV-Vis**

UV_VIS CIP				
Parametrii statistici		Seria 1	Seria 2	Seria 3
n		6	6	6
$\bar{X}$		0,2006567	0,2014650	0,2004517
95 % CI	Limita de jos	0,2004328	0,1998725	0,2001949
	Limita de sus	0,2008805	0,2030575	0,2007084
SD		0,00021332	0,0015174	0,00024466
Me		0,2007000	0,2009450	0,2004500
IQR		0,00043	0,2009450	0,00045
Xmin		0,20036	0,20036	0,20016
Xmax		0,20089	0,20441	0,20072
P>0,05		0,117		
UV-Vis EC				
n		6	6	6
$\bar{X}$		0,2003647	0,2001522	0,2004419
95% CI	Limita de jos	0,1998725	0,2001949	0,2004328
	Limita de sus	0,2030575	0,2007084	0,2008805
SD		0,00021332	0,0015174	0,00024466
Me		0,2005100	0,2001954	0,2004421
IQR		0,000428	0,2009452	0,000448
Xmin		0,20037	0,20037	0,20015
Xmax		0,20088	0,20450	0,20073
P>0,05		0,120		



**Fig. A13.1. Cromatogramele soluțiilor standard de CIP (a, 280 nm), EC (b, 225 nm), probă (c, 280 nm, CIP), probă (d, 225 nm, EC), placebo 225 nm (e) și placebo 280 nm (f) pe faza mobilă CH<sub>3</sub>OH:ACN (40:60)**

**Tabelul A13.13. Rezultatele dozării CIP în procesul de validare a metodei HPLC de dozare a picăturilor auriculare combinate cu CIP, EC și UVB**

t, min	S	C, g	t, min	S	C, g	t, min	S	C, g
0.78	4199997	0.19627	0.77	4199987	0.19627	0.76	4200004	0.19627
0.77	4268749	0.19948	0.76	4210006	0.19674	0.780	4199994	0.19627
0.78	4249872	0.19860	0.76	4199991	0.19627	0.77	4199971	0.19627
0.76	4199874	0.19626	0.77	4210678	0.19677	0.770	4200067	0.19627
0.76	4199997	0.19627	0.76	4208971	0.19669	0.78	4206831	0.19659
0.76	4232479	0.19779	0.76	4258712	0.19901	0.76	4199987	0.19627
	seria 1		seria 2			seria 3		

**Tabelul 13.14. Rezultatele dozării EC în procesul de validare a metodei HPLC de dozare a picăturilor auriculare combinate cu CIP, EC și UVB**

t, min	S	C, g	t, min	S	C, g	t, min	S	C, g
1.04	3137941	0.20065	1.04	3136489	0.20054	0.76	3138912	0.20072
1.04	3149343	0.20146	1.04	3145987	0.20122	0.78	3140014	0.20079
1.04	3109202	0.19861	1.03	3135879	0.20050	0.77	3140005	0.20079
1.03	3155277	0.20188	1.04	3129998	0.20008	0.77	3138457	0.20068
1.03	3134987	0.20044	1.04	313789	0.00035	0.78	3150027	0.20150
1.04	3148245	0.20138	1.03	3156019	0.20193	0.76	3134028	0.20037
	seria 1		seria 2			seria 3		

**Tabelul A13.15. Evaluarea statistică a rezultatelor dozării prin metoda HPLC a picăturilor auriculare cu CIP, Ec și UVB**

<b>HPLC CIP</b>					
<b>Parametrii statistici</b>		<b>Seria 1</b>	<b>Seria 2</b>	<b>Seria 3</b>	
N		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	
$\bar{X}$		0,1974434	0,1969557	0,1963210	
<b>95 %</b> <b>CI</b>	<b>Limita de jos</b>	0,1959771	0,1958722	0,1961843	
	<b>Limita de sus</b>	0,1989097	0,1980393	0,1964577	
SD		0,0013972	0,0010325	0,0001324	
Me		0,1970265	0,1967110	0,1962676	
IQR		0,00255	0,00106	0,00008	
Xmin		0,19626	0,19627	0,19627	
Xmax		0,19948	0,19901	0,19659	
P>0,05		0,348			
<b>HPLC EC</b>					
N		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	
$\bar{X}$		0,2007367	0,2000542	0,2008083	
<b>95%</b> <b>CI</b>	<b>Limita de jos</b>	0,1995072	0,2000542	0,2004169	
	<b>Limita de sus</b>	0,2019661	0,2014858	0,2011997	
SD		0,0011715	0,0006821	0,00037296	
Me		0,2010150	0,2005200	0,2007550	
IQR		0,002	0,001	0,0004	
Xmin		0,19861	0,20008	0,20037	
Xmax		0,20188	0,20193	0,20150	
P>0,05		0,751			

**Tabelul A13.16. Evaluarea statistică a rezultatelor dozării prin metoda GC a UVB din picăturile auriculare cu CIP, Ec și UV**

<b>Dozare UV-VIS UVB picături auriculare</b>					
<b>Parametrii statistici</b>		<b>Seria 1</b>	<b>Seria 2</b>	<b>Seria 3</b>	<b>Media</b>
N		<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	
$\bar{X}$		7,34267	7,36383	7,33767	7,3480
<b>95 %</b> <b>CI</b>	<b>Limita de jos</b>	7,33004	7,31654	7,31997	
	<b>Limita de sus</b>	7,35529	7,41113	7,35536	
SD		0,012	0,045	0,017	0,0247
Me		7,33800	7,37350	7,33750	
IQR		0,025	0,053	0,030	0,0360
Xmin		7,332	7,276	7,312	
Xmax		7,358	7,399	7,356	
P>0,05		0,065			

## Anexa 14. Analiza capsulelor combinate cu NIC, PIR și EP

Tabelul A14.1. Efectele analitice ale reacțiilor chimice de culoare la identificarea NIC și PIR

Reagent Denumirea probei	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> conc	Sol. 10% NaOH	Reactiv Dragendorf	Reactiv Mayer	Reactiv Lugol	Acid picric
<i>Nicergolină</i>	Colorație albastră		Colorație galben- portocalie	Precipitat alb	Colorație roșie	Colorație galbenă
<i>Piracetam</i>		Miros de amoniac				
<i>Amestec mecanic (1:1)</i>	Colorație albastră	Miros de amoniac	Colorație galben- portocalie	Precipitat alb	Colorație roșie	Colorație galbenă
<i>Capsule</i>	Colorație roșu brun	Miros de amoniac	Colorație galben- brună	Precipitat alb	Colorație roșie- brună	Colorație galbenă

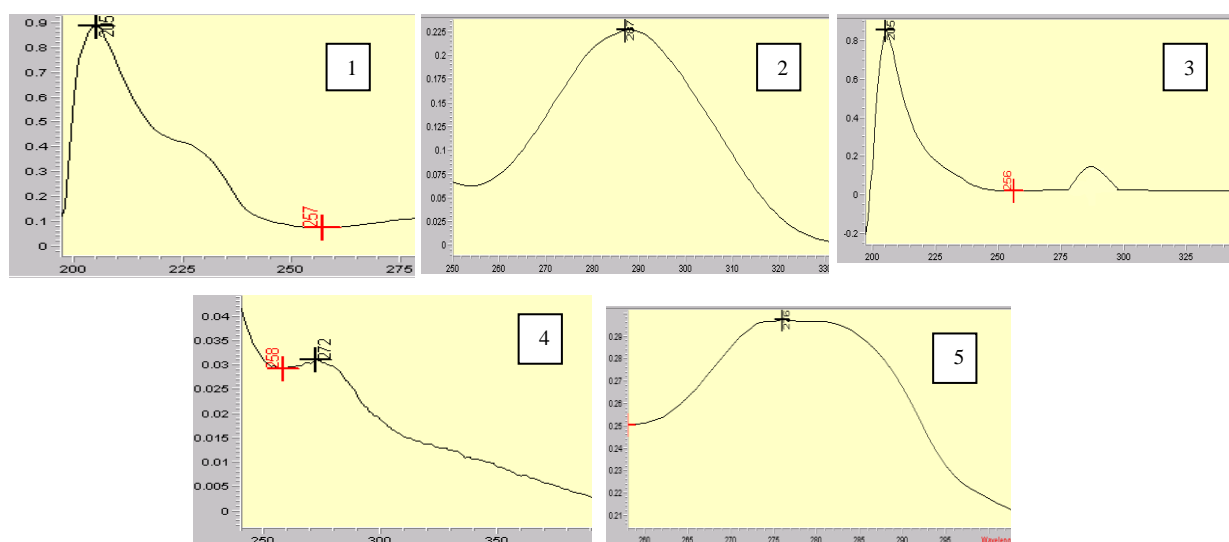


Fig. A14.1. Spectrele de absorbție ale soluțiilor: standard de PIR (1) și de NIC (2), probă din capsule combinate (3), placebo (4) și EP (solvent: soluție metanolică de HCl 0.1 M.)

Tabelul A14.2. Evaluarea conținutului de NIC și PIR în diferiți solvenți în procesul de selectare a solvenților pentru elaborarea metodei spectrofotometrice UV-VIS

Solventul	Substanța	Nicergolină			Piracetam		
		A	C,%		A	C,%	
<i>C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH 96%</i>		0,82253	97,92	-			×
<i>Fază mobilă (ACN- CH<sub>3</sub>OH- Tampon fosfat)</i>		0,74303	101,83	+			×
<i>Soluție metanolică HCL 0.1 M</i>		0,80635	101,1	+	0,33413	99,46	+
<i>HCL 0,1M</i>				×	0,39056	90,49	-

Notă: "+"- substanța este solubilă și corespunde după parametri cantitativi în solventul dat  
 "-"- substanța este solubilă, dar nu corespunde după parametri cantitativi în solventul dat  
 "×"- substanța nu prezintă maxim de absorbție în solventul dat

**Tabelul A14.3. Rezultatele dozării prin spectrofotometrie UV-Vis a NIC și PIR din capsule combinate**

	Seria 1		Seria 2		Seria 3
A	C, g	A	C, g	A	C, g
NIC					
0.20351	0.00464	0.202306	0.00461	0.20211	0.00461
0.19999	0.00456	0.203605	0.00464	0.203	0.00463
0.20205	0.00460	0.202434	0.00461	0.20156	0.00459
0.20189	0.00460	0.201327	0.00459	0.20042	0.00457
0.20090	0.00458	0.20073	0.00457	0.19993	0.00456
0.20137	0.00459	0.198052	0.00451	0.19915	0.00454
PIR					
0.85123	0.20001	0.84999	0.19972	0.85124	0.20002
0.85247	0.20030	0.84998	0.19972	0.85101	0.19996
0.85675	0.20131	0.85097	0.19995	0.85174	0.20013
0.84999	0.19972	0.84879	0.19944	0.84999	0.19972
0.85012	0.19975	0.84798	0.19925	0.85174	0.20013
0.85135	0.20004	0.85115	0.19999	0.84998	0.19972

**Tabelul A14.4. Evaluarea statistică a rezultatelor dozării prin metoda spectrofotometrică UV-Vis a NIC și PIR din capsulele combinate**

UV-VIS NIC				
Parametrii statistici		Seria 1	Seria 2	Seria 3
n		6	6	6
$\bar{X}$		0,0045950	0,0045883	0,0045833
95 % CI	Limita de jos	0,0045670	0,0045412	0,0045484
	Limita de sus	0,0046230	0,0046355	0,0046182
SD		0,0000267	0,00004491	0,00003327
Me		0,0045950	0,0046000	0,0045800
IQR		0,00004	0,00006	0,00006
Xmin		0,00456	0,00451	0,00454
Xmax		0,00464	0,00464	0,00463
P>0,05		0,872		
UV-VIS PIR				
n		6	6	6
$\bar{Y}$		0,2001883	0,1996783	0,1999467
95% CI	Limita de jos	0,1995700	0,1993761	0,1997500
	Limita de sus	0,2008067	0,1999806	0,2001433
SD		0,00058922	0,00028799	0,00018737
Me		0,2000250	0,1997200	0,1999900
IQR		0,00081	0,00057	0,00041
Xmin		0,19972	0,19999	0,19972
Xmax		0,20131	0,19999	0,20013
P>0,05		0,065		

**Tabelul A14.5. Calcularea regresiei liniare prin metoda celor mai mici pătrate pentru piracetam în procesul validării metodei spectrofotometrice UV-Vis de dozare a capsulelor combinate cu NIC, PIR și EP**

Nr. serie	X <sub>ij</sub> C, μg/ml	Y <sub>ij</sub> , A	X <sub>ij</sub> - X <sub>med</sub>	(X <sub>ij</sub> - X <sub>med</sub> ) <sup>2</sup>	Y <sub>ij</sub> - Y <sub>med</sub>	(Y <sub>ij</sub> - Y <sub>med</sub> ) <sup>2</sup>	(X <sub>ij</sub> - X <sub>med</sub> )* (Y <sub>ij</sub> - Y <sub>med</sub> )	Parametri	Valori
1	0	0	0	0	0	0	0	X <sup>2</sup> <sub>med</sub>	475.240
	5	0.20548	-16.800	282.240	-0.522	0.3	8.764	Deviația	14.360
	10	0.3725	-11.800	139.240	-0.355	0.13	4.185	standard DS	
	24	0.80966	2	5	0.082	0.01	0	Covariația,S <sub>XY</sub>	6.2685
	30	0.97769	8.200	67.240	0.251	0.06	2.054	r <sup>2</sup>	0.9997
	40	1.27	18.200	331.240	0.543	0.30	9.889	Panta, a	0.0304
	X <sub>med</sub> =	Y <sub>med</sub> =		Suma =		Suma =	Suma =	Intercepția b	0.0644
<b>21.800</b>	<b>0.727</b>		<b>824.800</b>		<b>0.76</b>	<b>25.074</b>			
2	0	0.0000	0	0	0	0	0	X <sup>2</sup> <sub>med</sub>	475.240
	5	0.2047	-16.800	282.240	-0.519	0.3	8.723	Deviația	14.360
	10	0.3698	-11.800	139.240	-0.354	0.13	4.178	standard DS	
	24	0.8051	2	5	0.081	0.01	0	Covariația,S <sub>XY</sub>	6.2590
	30	0.9699	8.200	67.240	0.246	0.06	2.017	r <sup>2</sup>	0.9998
	40	1.2700	18.200	331.240	0.546	0.30	9.939	Panta, a	0.0304
	X <sub>med</sub> =	Y <sub>med</sub> =		Suma =		Suma =	Suma =	Intercepția b	0.0622
<b>21.800</b>	<b>0.724</b>		<b>824.800</b>		<b>0.76</b>	<b>25.036</b>			
3	0	0	0	0	0	0	0	X <sup>2</sup> <sub>med</sub>	475.240
	5	0.2061	-16.800	282.240	-0.530	0.3	8.911	Deviația	14.360
	10	0.3654	-11.800	139.240	-0.371	0.14	4.379	standard DS	
	24	0.8254	2	5	0.089	0.01	0	Covariația,S <sub>XY</sub>	6.4211
	30	0.9957	8.200	67.240	0.259	0.07	2.125	r <sup>2</sup>	0.9996
	40	1.2900	18.200	331.240	0.553	0.31	10.073	Panta, a	0.0311
	X <sub>med</sub> =	Y <sub>med</sub> =		Suma =		Suma =	Suma =	Intercepția b	0.0577
<b>21.800</b>	<b>0.737</b>		<b>824.800</b>		<b>0.80</b>	<b>25.684</b>			

**Tabelul A14.6. Calcularea regresiei liniare prin metoda celor mai mici pătrate pentru nicergolină în procesul validării metodei spectrofotometrice UV-Vis de dozare a capsulelor combinate cu NIC, PIR și EP**

Nr. serie	X <sub>ij</sub> C, μg/ml	Y <sub>ij</sub> , A	X <sub>ij</sub> - X <sub>med</sub>	(X <sub>ij</sub> - X <sub>med</sub> ) <sup>2</sup>	Y <sub>ij</sub> - Y <sub>med</sub>	(Y <sub>ij</sub> - Y <sub>med</sub> ) <sup>2</sup>	(X <sub>ij</sub> - X <sub>med</sub> )* (Y <sub>ij</sub> - Y <sub>med</sub> )	Parametri	Valori
1	0	0	0	0	0	0	0	X <sup>2</sup> <sub>med</sub>	256.000
	5	0.097136	-11.000	121.000	-0.218	0.0	2.401	Deviația	9.618
	10	0.19684	-6.000	36.000	-0.119	0.01	0.711	standard DS	
	15	0.29209	-1	1	-0.023	0.00	0	Covariația,S <sub>XY</sub>	1.83272
	20	0.39998	4.000	16.000	0.085	0.01	0.338	r <sup>2</sup>	0.9998
	30	0.59090	14.000	196.000	0.276	0.08	3.857	Panta, a	0.01981
	X <sub>med</sub> =	Y <sub>med</sub> =		Suma =		Suma =	Suma =	Intercepția b	-0.00162
<b>16.000</b>	<b>0.315</b>		<b>370.000</b>		<b>0.15</b>	<b>7.331</b>			
2	0	0	0	0	0	0	0	X <sup>2</sup> <sub>med</sub>	256.000
	5	0.07568	-11.000	121.000	-0.225	0.1	2.479	Deviația	9.61769
	10	0.18671	-6.000	36.000	-0.114	0.01	0.686	standard DS	
	15	0.27591	-1	1	-0.025	0.00	0	Covariația,S <sub>XY</sub>	1.86333
	20	0.38527	4.000	16.000	0.084	0.01	0.337	r <sup>2</sup>	0.99968
	30	0.58149	14.000	196.000	0.280	0.08	3.927	Panta, a	0.02014
	X <sub>med</sub> =	Y <sub>med</sub> =		Suma =		Suma =	Suma =	Intercepția b	-0.02129
<b>16.000</b>	<b>0.301</b>		<b>370.000</b>		<b>0.15</b>	<b>7.453</b>			
3	0	0	0	0	0	0	0	X <sup>2</sup> <sub>med</sub>	256.000
	5	0.08248	-11.000	121.000	-0.223	0.0	2.457	Deviația	9.61769
	10	0.17562	-6.000	36.000	-0.130	0.02	0.781	standard DS	
	15	0.299541	-1	1	-0.006	0.00	0	Covariația,S <sub>XY</sub>	1.87195
	20	0.39	4.000	16.000	0.079	0.01	0.318	r <sup>2</sup>	0.99907
	30	0.59	14.000	196.000	0.280	0.08	3.926	Panta, a	0.02024
	X <sub>med</sub> =	Y <sub>med</sub> =		Suma =		Suma =	Suma =	Intercepția b	-0.01798
<b>16.000</b>	<b>0.306</b>		<b>370.000</b>		<b>0.15</b>	<b>7.488</b>			

**Tabelul A14.7. Valorile SD a intercepției și media pantei drepte de regresie pentru calcularea LOD și LOQ a piracetamului în procesul validării metodei spectrofotometrice UV-Vis de dozare a capsulelor combinate cu NIC, PIR și EP**

Piracetam	<i>Sx</i>	<i>r2</i>	<i>A</i>	<i>B</i>
	6.2685	0.9997	0.0304	0.0644
	6.259	0.9998	0.0304	0.0622
	6.4211	0.9996	0.0311	0.0577
<b>Media</b>	<b>6.3162</b>	<b>0.9997</b>	<b>0.030633333</b>	<b>0.061433333</b>
S2	0.0083		0.000000	0.000012
S	0.09097016		0.00040	<b>0.00342</b>
<b>RSD</b>	<b>1.440267248</b>		<b>1.319298765</b>	<b>5.559135546</b>

**Tabelula 14.8. Valorile SD a intercepției și media pantei drepte de regresie pentru calcularea LOD și LOQ a nicergolinei în procesul validării metodei spectrofotometrice UV-Vis de dozare a capsulelor combinate cu NIC, PIR și EP**

Nicergolină	<i>Sx</i>	<i>r2</i>	<i>A</i>	<i>B</i>
	1.83272	0.9998	0.01981	0.00162
	1.86333	0.99968	0.02014	0.02129
	1.87195	0.99907	0.02024	0.01798
<b>Media</b>	<b>1.856</b>	<b>0.999517</b>	<b>0.020063333</b>	<b>0.01363</b>
S2	0.00043		0.00000	0.00011
S	0.020616617		0.00023	<b>0.01053</b>
<b>RSD</b>	<b>1.11080911</b>		<b>1.121541042</b>	<b>77.26935957</b>

**Tabelul A14.9 Rezultatele statistice obținute la determinarea exactității piracetamului. în procesul validării metodei spectrofotometrice UV-Vis de dozare a capsulelor combinate cu NIC, PIR și EP**

A	Ct		Cp	Ca	Ct	R, %	
0.1814	8.09	<b>80%</b>	5	3	8.09	103.00	
0.1802	8.05		5	3	8.05	101.67	
0.1795	8.02		5	3	8.02	100.67	
0.2391	9.98	<b>100%</b>	5	5	9.98	99.60	
0.2396	10.00		5	5	10	100.00	
0.2394	9.99		5	5	9.99	99.80	
0.3021	12.06	<b>120%</b>	5	7	12.06	100.86	
0.3009	12.02		5	7	12.02	100.29	
0.2989	11.95		5	7	11.95	99.29	
	<b>A 80%</b>			<b>A 100%</b>		<b>A 120%</b>	
	0.1814			0.2391		0.3021	
	0.1802			0.2396		0.3009	
	0.1795			0.2394		0.2989	
<b>Media</b>	<b>0.180367</b>		<b>Media</b>	<b>0.239367</b>		<b>Media</b>	<b>0.300633</b>
S2	0.0		S2	0.0		S2	0.0
S	0.000961		S	0.000252		S	0.001617
<b>RSD</b>	<b>0.532749</b>		<b>RSD</b>	<b>0.105136</b>		<b>RSD</b>	<b>0.537725</b>

**Tabelul A14.10. Rezultatele statistice obținute la determinarea exactității nicergolinei în procesul validării metodei spectrofotometrice UV-Vis de dozare a capsulelor combinate cu NIC, PIR și EP**

A	Ct		Cp	Ca	Ct	R, %	
0.1548	7.90	80%	5	3	7.9	96.67	
0.1551	7.91		5	3	7.91	97.00	
0.1568	8.00		5	3	8	100.00	
0.1975	10.06	100%	5	5	10.06	101.20	
0.1968	10.02		5	5	10.02	100.40	
0.1969	10.03		5	5	10.03	100.60	
0.2354	11.97	120%	5	7	11.97	99.57	
0.2365	12.03		5	7	12.03	100.43	
0.2359	11.99		5	7	11.99	99.86	
	<b>A 80%</b>			<b>A 100%</b>		<b>A 120%</b>	
	0.1548			0.1975		0.2354	
	0.1551			0.1968		0.2365	
	0.1568			0.1969		0.2359	
<b>Media</b>	<b>0.155567</b>		<b>Media</b>	<b>0.197067</b>		<b>Media</b>	<b>0.235933</b>
S2	0.0		S2	0.0		S2	0.0
S	0.001079		S	0.000379		S	0.000551
<b>RSD</b>	<b>0.693323</b>		<b>RSD</b>	<b>0.192115</b>		<b>RSD</b>	<b>0.233438</b>

Notă: A – absorbanța; Cp - concentrația probei fără adaos, µg/ml; Ca - concentrația adaosului standard, µg/ml; Ct - concentrația totală a probei împreună cu adaos, µg/ml; R - randamentul recuperării, % ( $R = [(C_t - C_p)/C_a] \cdot 100\%$ )

**Tabelul A14.11. Repetabilitatea și precizia intermediară pentru Piracetam în procesul validării metodei spectrofotometrice UV-Vis de dozare a capsulelor combinate cu NIC, PIR și EP**

	Repetabilitatea Piracetam						Precizia intermediară Piracetam					
	Capsule F1_ S 01		Capsule F1_ S 02		Capsule F1_ S 03		Capsule F1_ S 01		Capsule F1_ S 02		Capsule F1_ S 03	
	A	C, g	A	C, g	A	C, g	A	C, g	A	C, g	A	C, g
0.85565	0.20105	0.85149	0.20007	0.85129	0.20003	0.85123	0.20001	0.84999	0.19972	0.85124	0.20002	
0.85354	0.20056	0.85167	0.20012	0.85256	0.20033	0.85247	0.20030	0.84998	0.19972	0.85101	0.19996	
0.85398	0.20066	0.85311	0.20045	0.85179	0.20014	0.85675	0.20131	0.85097	0.19995	0.85174	0.20013	
0.85298	0.20042	0.85371	0.20060	0.85274	0.20037	0.84999	0.19972	0.84879	0.19944	0.84999	0.19972	
0.85099	0.19996	0.85294	0.20041	0.85248	0.20031	0.85012	0.19975	0.84798	0.19925	0.85174	0.20013	
0.85098	0.19995	0.85199	0.20019	0.85157	0.20009	0.85135	0.20004	0.85115	0.19999	0.84998	0.19972	
<b>Numărul de măsurări</b>	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
<b>Valoarea medie</b>	0.85302	0.20043	0.85249	0.20031	0.85207	0.20021	0.85199	0.20019	0.84981	0.19968	0.85095	0.19995
<b>Abaterea standard</b>	0.000003	0.000000	0.0000008	0.0000004	0.000000	0.000000	0.000006	0.000003	0.000002	0.000000	0.000001	0.000000
	0.00181	0.00043	0.000894	0.000210	0.0006	0.00014	0.0025	0.000589	0.00123	0.00029	0.0008	0.000188
<b>Abaterea medie pătratică</b>	0.00074	0.00017	0.000365	0.0000858	0.00024	5.7E-05	0.00102	0.00024	0.0005	0.00012	0.00033	7.67E-05
<b>Deviația standard relativă</b>	0.21227	0.21227	0.104888	0.1048879	0.0703	0.0703	0.294	0.294004	0.145	0.145	0.09399	0.093989
<b>Probabilitate</b>	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95
<b>Coefficientul Student</b>	2.57058	2.5706	2.5706	2.5705818	2.57058	2.57058	2.57058	2.570582	2.57058	2.57058	2.57058	2.570582
<b>Interval de încredere</b>	0.0019	0.00045	0.00094	0.00022	0.00063	0.00015	0.00263	0.00062	0.00129	0.00030	0.00084	0.00020
<b>Rezultatul final</b>	0.85492	0.20088	0.85342	0.20053	0.85270	0.20036	0.85461	0.20081	0.85110	0.19998	0.85179	0.20014
	0.8511	0.2000	0.8515	0.2001	0.8514	0.2001	0.8494	0.1996	0.8485	0.1994	0.8501	0.1998



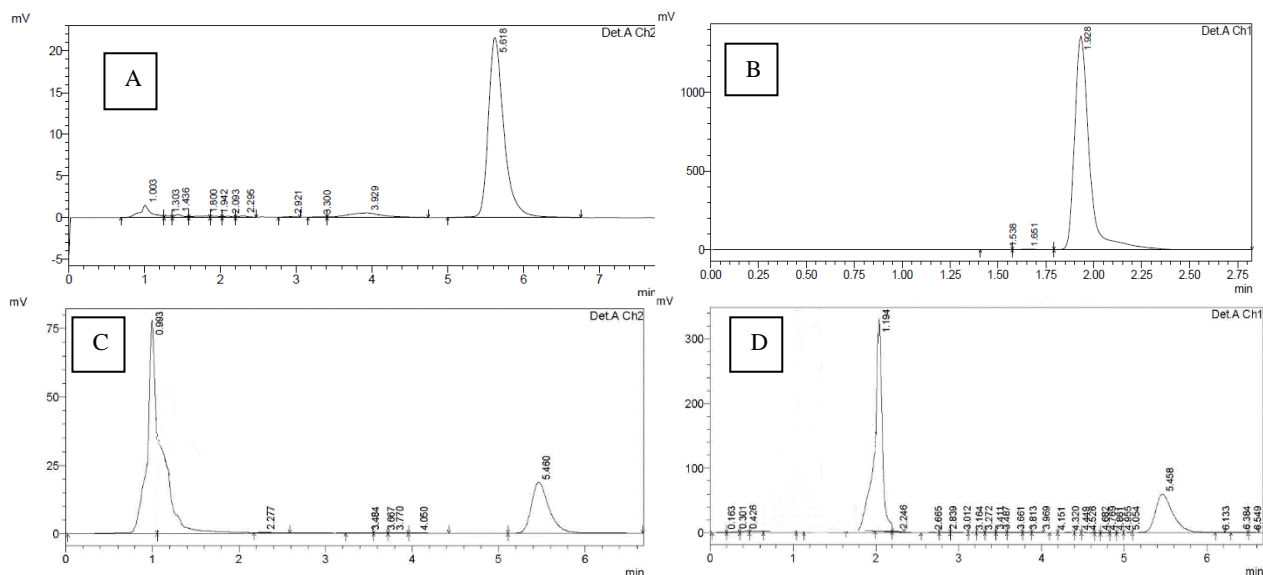
**Tabelul A14.12. Repetabilitatea și precizia intermediară pentru Nicergolină în procesul validării metodei spectrofotometrice UV-Vis de dozare a capsulelor combinate cu NIC, PIR și EP**

Repetabilitatea Nicergolină						Precizia intermediară Nicergolină					
Capsule F1_ S 01		Capsule F1_ S 02		Capsule F1_ S 03		Capsule F1_ S 01		Capsule F1_ S 02		Capsule F1_ S 03	
A	C, g	A	C, g	A	C, g	A	C, g	A	C, g	A	C, g
0.20351	0.00464	0.20242	0.00461	0.20306	0.00463	0.204265	0.00461	0.202306	0.00461	0.20211	0.00461
0.19999	0.00456	0.20006	0.00456	0.20166	0.00460	0.200435	0.00457	0.203605	0.00464	0.203	0.00463
0.20205	0.00460	0.20215	0.00461	0.20144	0.00459	0.201431	0.00459	0.202434	0.00461	0.20156	0.00459
0.20189	0.00460	0.20185	0.00460	0.19807	0.00451	0.200936	0.00458	0.201327	0.00459	0.20042	0.00457
0.20090	0.00458	0.20057	0.00457	0.20031	0.00456	0.20093	0.00458	0.20073	0.00457	0.19993	0.00456
0.20137	0.00459	0.20257	0.00462	0.20151	0.00459	0.19805	0.00451	0.198052	0.00451	0.19915	0.00454

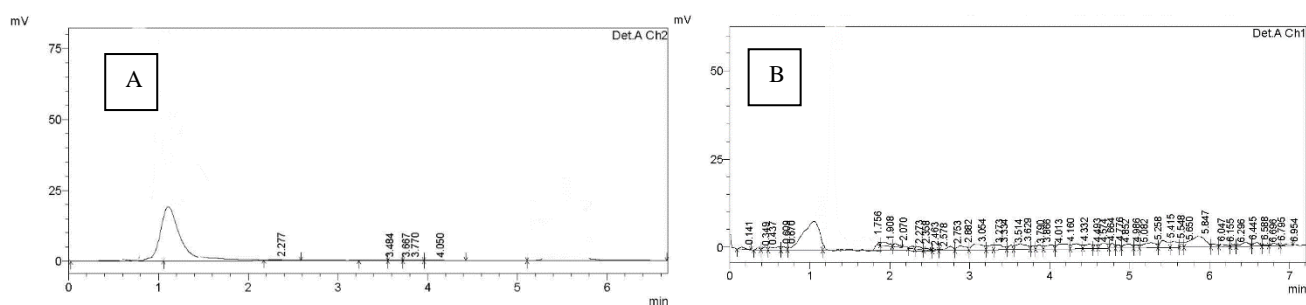
Numărul de măsurări	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
Valoarea medie	0.20162	0.00459	0.20160	0.00459	0.20101	0.00458	0.20101	0.00457	0.20141	0.00459	0.20103	0.00458
Abaterea standard	0.000001	0.000000	0.0000011	0.00000000	0.000003	0.000000	0.000004	0.0000000	0.000004	0.000000	0.000002	0.000000
	0.00119	0.00003	0.00104	0.000024	0.00168	3.8E-05	0.00199	3.27E-05	0.00192	4.4E-05	0.00145	3.29E-05
Abaterea medie pătratică	0.00049	0.00001	0.000425	0.0000097	0.00069	1.6E-05	0.00081	1.34E-05	0.00078	1.8E-05	0.00059	1.34E-05
Deviația standard relativă	<b>0.58969</b>	<b>0.58969</b>	<b>0.515995</b>	<b>0.5159948</b>	<b>0.8382</b>	<b>0.8382</b>	<b>0.99191</b>	<b>0.715644</b>	<b>0.95284</b>	<b>0.95284</b>	<b>0.71896</b>	<b>0.718961</b>
Probabilitate	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95
Coefficientul Student	2.57058	2.5706	2.5706	2.5705818	2.57058	2.57058	2.57058	2.570582	2.57058	2.57058	2.57058	2.570582
Interval de încredere	0.00125	0.00003	0.00109	0.00002	0.00177	0.00004	0.00209	0.00003	0.00201	0.00005	0.00152	0.00003
Rezultatul final	0.20287	0.00462	0.20270	0.00462	0.20278	0.00462	0.20310	0.00461	0.20342	0.00464	0.20255	0.00462
	0.2004	0.0046	0.2005	0.0046	0.1992	0.0045	0.1989	0.0045	0.1994	0.0045	0.1995	0.0045

**Tabelul A14.13 Determinarea robusteții în procesul validării metodei spectrofotometrice UV-Vis de dozare a capsulelor combinate cu NIC, PIR și EP**

	Piracetam			Nicergolina		
	203 nm	205 nm	207 nm	280 nm	282 nm	284 nm
	0.85099	0.85247	0.85565	0.46128	0.46205	0.46201
	0.85114	0.85152	0.85489	0.46119	0.4627	0.46174
	0.85087	0.85089	0.85546	0.46208	0.46201	0.46189
<b>Media</b>	<b>0.851</b>	<b>0.85162667</b>	<b>0.85533333</b>	<b>0.46151667</b>	<b>0.462253333</b>	<b>0.46188</b>
S2	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000
<b>S</b>	<b>0.000135</b>	<b>0.000795</b>	<b>0.000396</b>	<b>0.000490</b>	<b>0.000387</b>	<b>0.000135</b>
<b>RSD</b>	<b>0.015896</b>	<b>0.09339568</b>	<b>0.04624122</b>	<b>0.10615694</b>	<b>0.083794175</b>	<b>0.02928845</b>



**Fig. A14.2. Cromatogramele soluțiilor standard și probă: NIC (A, 288 nm) și PIR (B, 220 nm) la 288 nm (NIC, C) și 220 nm (PIR, D)**



**Fig. A14.3. Cromatogramele soluției placebo (excipienți din capsule combinate) la 288 nm (A) și 220 nm (B)**

**Tabelul A14.14. Rezultatele acurateții metodei de dozare a NIC și PIR din capsule**

	Nivel de concentrație, %	Număr de determinări	Concentrația teoretică a probei, $\mu\text{g/ml}$	Concentrația determinată, $\mu\text{g/ml}$	% recuperare	Media, % RSD
NIC	80	1	14,4	14,39	99,93	99,95
		2	14,4	14,38	99,86	
		3	14,4	14,41	100,07	
	100	1	18	18,01	100,06	100,02
		2	18	18,00	100,00	
		3	18	18,00	100,00	
	120	1	21,6	21,61	100,05	100,00
		2	21,6	21,60	100,00	
		3	21,6	21,59	99,95	
PIR	80	1	640	639,98	99,99	99,99
		2	640	639,99	99,99	
		3	640	640,01	100,00	
	100	1	800	800,01	100,00	100,00
		2	800	800,01	100,00	
		3	800	800,02	100,00	
	120	1	960	960,02	100,00	100,00
		2	960	960,03	100,00	
		3	960	960,01	100,00	

**Tabelul A14.15. Rezultatele determinării repeatabilității metodei HPLC de dozare a NIC și PIR din capsule**

Nr.	Timp de retenție, min		Aria picului		Concentrație, %	
	PIR	NIC	PIR	NIC	PIR	NIC
1	1,911	5,611	5792065	877637	0,2004167	0,0045450
2	1,912	5,611	5823759	893003	0,2001548	0,0045217
3	1,911	5,612	5813698	911549	0,2001845	0,0045712
4	1,912	5,611	5742695	895612	0,2000987	0,0045214
5	1,911	5,611	5805746	882479	0,2001479	0,0045001
6	1,911	5,612	5846971	900175	0,2001212	0,0045814
Media	1,911	5,611	5799548	896547	0,2001087	0,0045218
RSD, %	0.138	0.154	0.578	0.676	0.578	0.676

**Tabelul A14.16. Rezultatele determinărilor preciziei intermediare în testul de validare a metodei HPLC de dozare a NIC și PIR din capsule**

No.	Ziua 1						Ziua 2					
	Timp de retenție, min		Aria picului		Concentrație, %		Timp de retenție, min		Aria picului		Concentrație, %	
	NIC	PIR	NIC	PIR	NIC	PIR	NIC	PIR	NIC	PIR	NIC	PIR
1	5,611	1,911	877637	5792065	0,0045450	0,2004167	5,611	1,911	877637	5792065	0,0045450	0,2004167
2	5,611	1,912	893003	5823759	0,0045217	0,2001548	3,526	4,353	893003	5823759	0,0045217	0,2001548
3	5,612	1,911	911549	5813698	0,0045712	0,2001845	3,521	4,345	911549	5813698	0,0045712	0,2001845
4	5,611	1,912	895612	5742695	0,0045214	0,2000987	3,513	4,338	895612	5742695	0,0045214	0,2000987
5	5,611	1,911	882479	5805746	0,0045001	0,2001479	3,518	4,342	882479	5805746	0,0045001	0,2001479
6	5,612	1,911	900175	5846971	0,0045814	0,2001212	3,525	4,347	900175	5846971	0,0045814	0,2001212
Media	5,611	1,911	896547	5799548	0,0045218	0,2001087	3,522	4,346	896547	5799548	0,0045218	0,2001087
RSD %	0.154	0.138	0.676	0.578	0.676	0.578	0.154	0.138	0.676	0.578	0.676	0.578

**Tabelul A14.17. Rezultatele determinării robusteții metodei HPLC de dozare a NIC și PIR din capsule**

Parametrii variabili	Timp de retenție, min		Aria picului		Concentrație, %		
	NIC	PIR	NIC	PIR	NIC	PIR	
Viteza fazei mobile 0.5 ml/min	5,611	1,911	877637	5792065	0,0045450	0,2004167	
Viteza fazei mobile 0.7 ml/min	5,611	1,912	893003	5823759	0,0045217	0,2001548	
ACN: Metanol: tampon 40,5:34,5:25	5,612	1,911	911549	5813698	0,0045712	0,2001845	
ACN: Metanol: tampon 39,5:35,5:25	5,611	1,912	895612	5742695	0,0045214	0,2000987	
Temperatura Coloanei 25 <sup>o</sup> C	5,611	1,911	882479	5805746	0,0045001	0,2001479	
Temperatura Coloanei 35 <sup>o</sup> C	5,611	1,911	900175	5846971	0,0045481	0,2000187	
Valori medii	$\bar{X}$	5,611	1,911	1.53E+06	2.83E+07	0,0045429	0,2001841
Deviația standard	S <sup>2</sup>	5.82E-04	7.51E-04	1.48E+08	7.26E+10	1.86E-07	3.41E-04
	S	0.024	0.027	12166.964	269523.310	0.00043	0.01848
Deviația standard relativă	RSD	0,154	0,776	0,794	0,951	0,794	0,951

**Tabelul A14.18. Evaluarea statistică a rezultatelor dozării prin metoda HPLC a NIC și PIR din capsulele**

HPLC NIC				
Parametrii statistici	Seria 1	Seria 2	Seria 3	
N	6	6	6	
$\bar{X}$	0,0045450	0,0045180	0,0045250	
95 % CI	Limita de jos	0,0045042	0,0045044	0,0044948
	Limita de sus	0,0045858	0,0045316	0,0045552
SD	0,00003886	0,00001095	0,00002881	
Me	0,0045400	0,0045100	0,0045150	
IQR	0,00008	0,00002	0,00006	
Xmin	0,00451	0,00451	0,00450	
Xmax	0,00459	0,00453	0,00457	
P>0,05	0,486			

HPLC PIR				
N		6	6	6
$\bar{X}$		0,2003650	0,2004167	0,2005433
95% CI	Limita de jos	0,2002811	0,2002918	0,2003018
	Limita de sus	0,2004489	0,2005415	0,2007849
SD		0,00007994	0,0001189	0,00023019
Me		0,2003800	0,2003900	0,2004550
IQR		0,00012	0,00016	0,00045
Xmin		0,20023	0,20028	0,20032
Xmax		0,20045	0,20063	0,20088
P>0,05		0,256		

**Tabelul A14.19. Rezultatele determinării concentrației flavonozidelor (recalcul la ritin) în extract de păducel substanță farmaceutică**

S	C, %	t <sub>R, min</sub>	S	C, %	t <sub>R, min</sub>	S	C, %
<b>600350</b>	0.58531	5.67	<b>601470</b>	0.58640	5.67	<b>600745</b>	0.58570
<b>605750</b>	0.59058	5.67	<b>601671</b>	0.58660	5.67	<b>600578</b>	0.58553
<b>601250</b>	0.58619	5.67	<b>600981</b>	0.58593	5.67	<b>600452</b>	0.58541
<b>600874</b>	0.58582	5.67	<b>600992</b>	0.58594	5.67	<b>600449</b>	0.58541
<b>601257</b>	0.58620	5.67	<b>600879</b>	0.58583	5.67	<b>600227</b>	0.58519
<b>600654</b>	0.58561	5.67	<b>601224</b>	0.58616	5.67	<b>600895</b>	0.58584
Media	<b>0.58662</b>			<b>0.58614</b>			<b>0.58551</b>
seria 1			seria 2			seria 3	

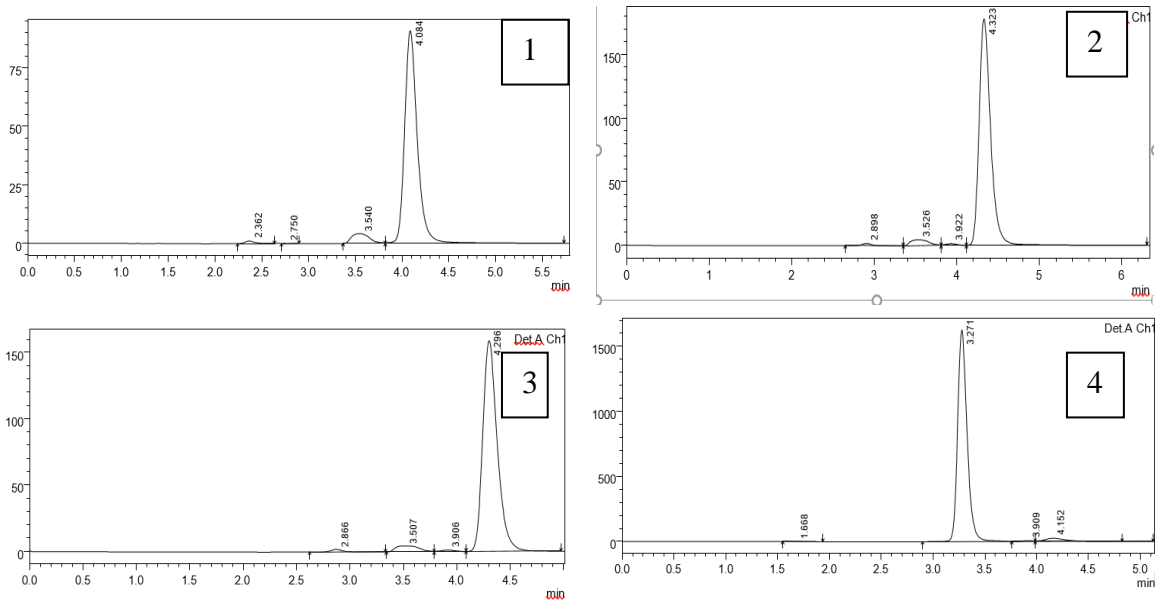
**Tabelul A14.20. Rezultatele determinării concentrației flavonozidelor (recalcul la ritin) în capsule combinate cu NIC, PIR și EP**

t <sub>R, min</sub>	S	C, %	t <sub>R, min</sub>	S	C, %	t <sub>R, min</sub>	S	C, %	
5.41	180821.75	0.51355	5.41	186254.32	0.52897	5.41	184995.27	0.52540	
5.41	184357.00	0.52359	5.41	184257.11	0.52330	5.41	184699.37	0.52456	
5.41	186565.00	0.52986	5.41	186481.01	0.52962	5.41	184771.09	0.52476	
5.41	186453.00	0.52954	5.41	184799.00	0.52484	5.41	185997.12	0.52824	
5.41	180491.37	0.51261	5.41	184541.24	0.52411	5.41	184997.27	0.52540	
5.41	180741.71	0.51332	5.41	186328.87	0.52919	5.41	184974.19	0.52534	
	Media capsule	<b>0.52041</b>			<b>0.52667</b>			<b>0.52562</b>	<b>0.52423</b>
	Seria 1			seria 2			seria 3		
	Media extract	<b>0.52115</b>			<b>0.52689</b>			<b>0.52587</b>	<b>0.52463</b>

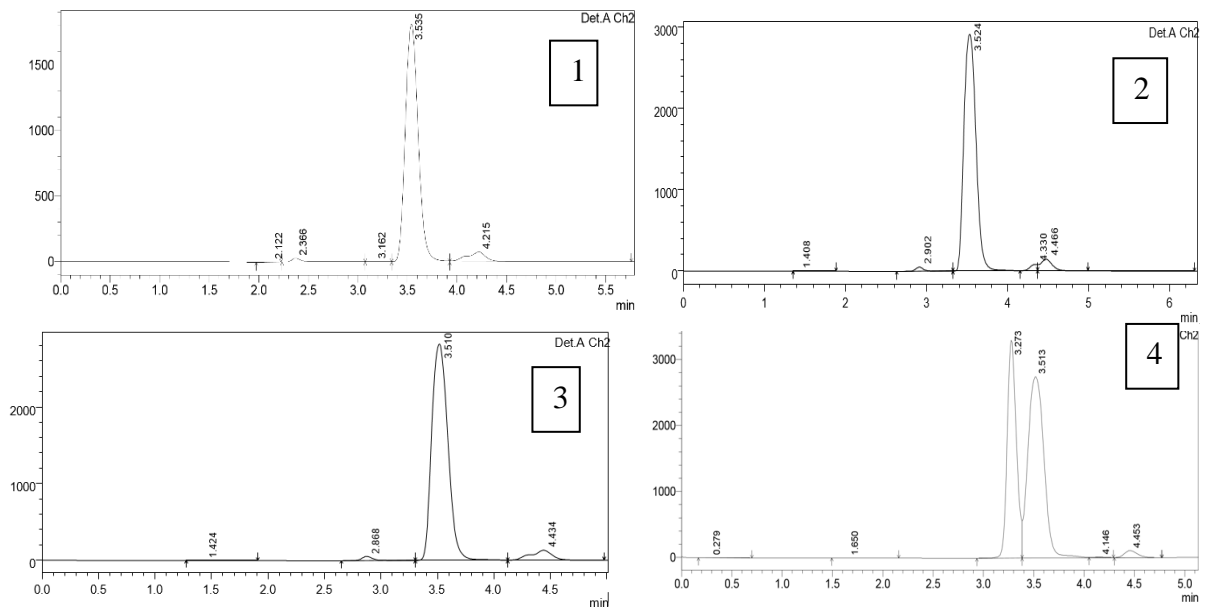
**Tabelul A14.21. Evaluarea statistică a rezultatelor dozării prin metoda HPLC a extractului de păducel (flavonozide în recalcul la rutozidă) din capsulele combinat**

HPLC RU (%)_EXTRACT DE PĂDUCEL ÎN CAPSULE			
Parametrii statistici	Seria 1	Seria 2	Seria 3
n	6	6	6
$\bar{X}$	0,5204117	0,5266717	0,5256167
95% CI	Limita de jos	0,5117459	0,5236445
	Limita de sus	0,5290775	0,5296988
SD	0,00825760	0,00288452	0,00133437
Me	0,5185700	0,5269050	0,5253700
IQR	0,01648	0,00539	0,00140
Xmin	0,51261	0,52330	0,52456
Xmax	0,52986	0,52962	0,52824
P>0,05	0,519		

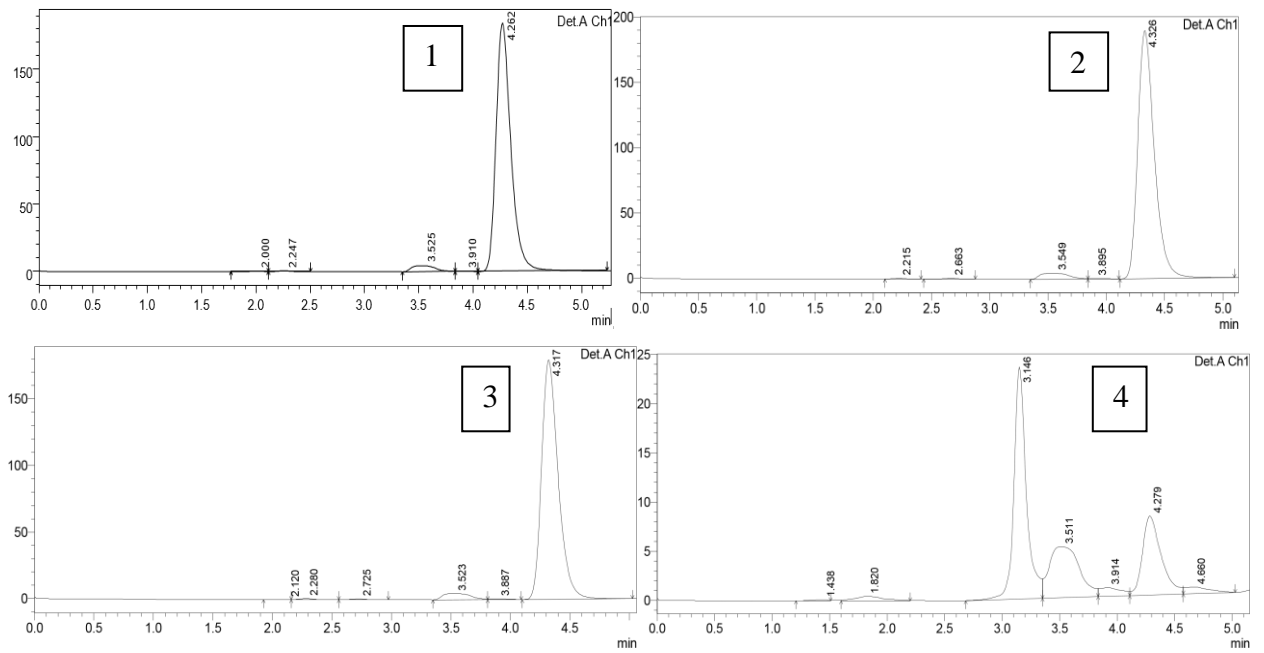
**Anexa 15. Stabilitatea și standardizarea produselor farmaceutice combinate: picături auriculare cu IHF și MU, picături auriculare cu CIP, EC și UVB și capsule cu NIC, PIR și EP**



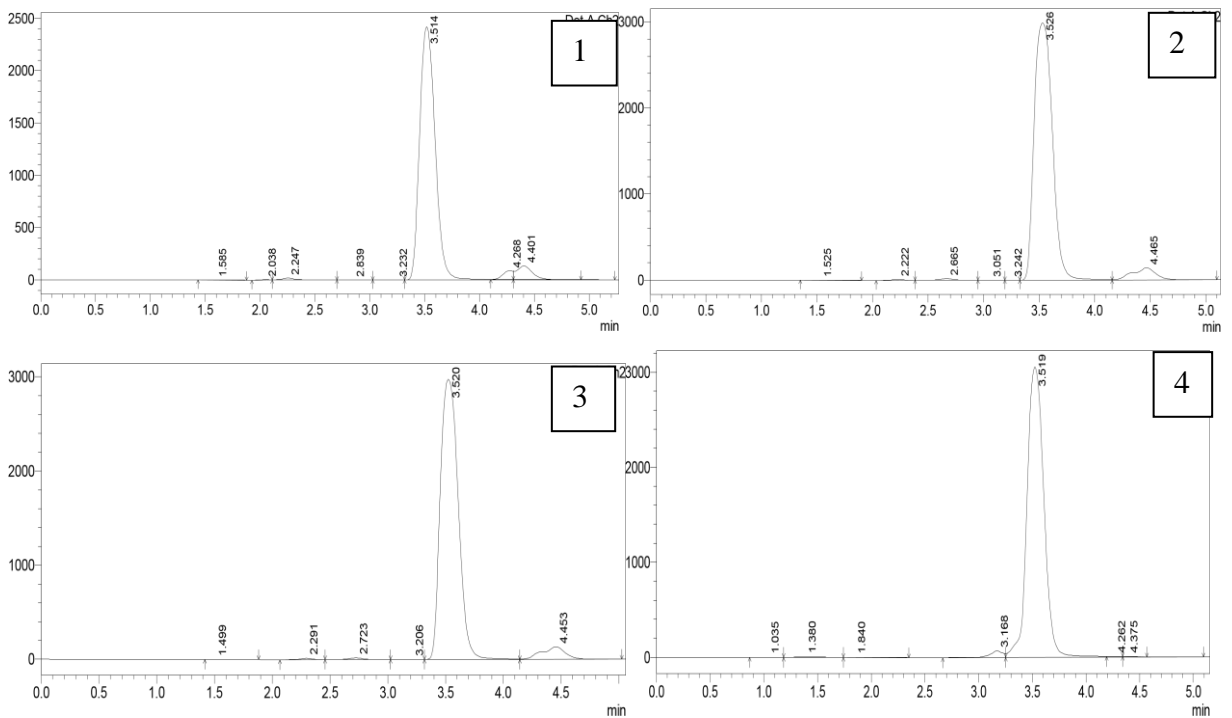
**Fig. A15.1. Cromatogramele IHF din soluția probă din forma farmaceutică supusa stresului hidrolitic acid la 0 ore (1), 3 ore (2), 24 ore (3) si 48 ore (4) în procesul de cercetare a stabilității picăturilor auriculare cu IHF și MU**



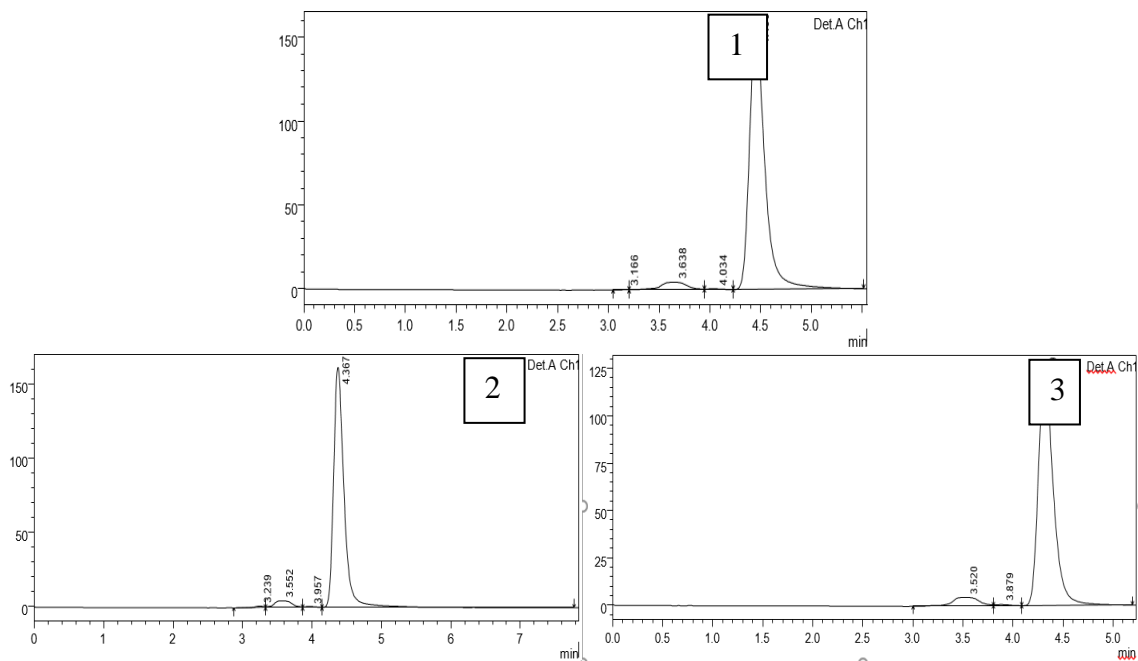
**Fig. A15.2. Cromatogramele MUului din forma farmaceutica supusa stresului hidrolitic acid la 0 ore (1), 3 ore (2), 24 ore (3) si 48 ore (4).**



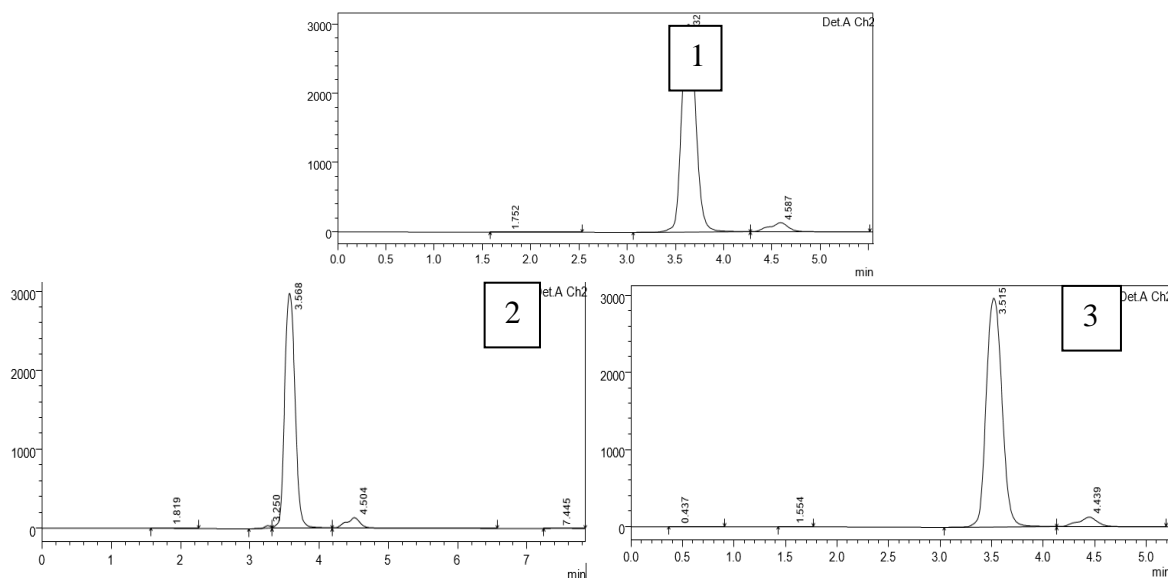
**Fig. A15.3. Cromatogramele IHF din forma farmaceutica supusa stresului hidrolitic bazic la: 0 ore (1), 3 ore (2), 24 ore (3) si 48 ore (4).**



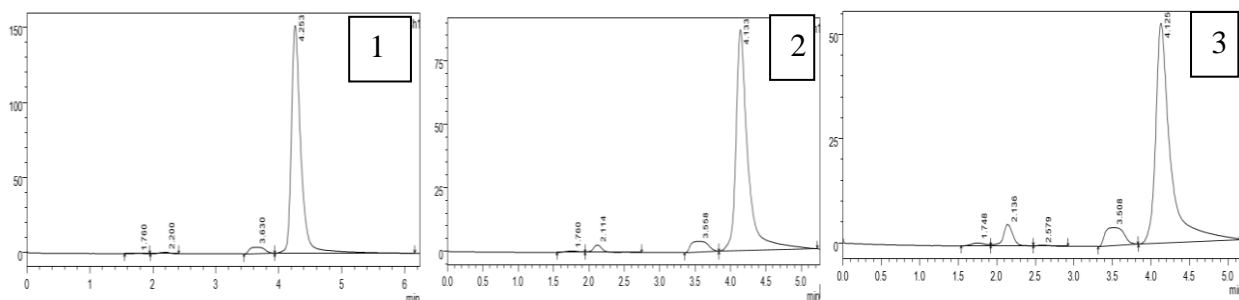
**Fig. A15.4. Cromatogramele MU din forma farmaceutica supusa stresului hidrolitic bazic la: 0 ore (1), 3 ore (2), 24 ore (3) si 48 ore (4).**



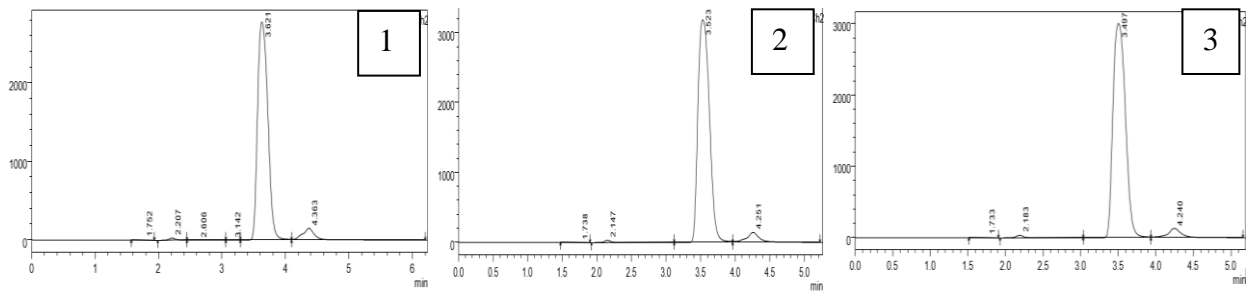
**Fig. A15.5. Cromatogramele IHFului din forma farmaceutica supusa stresului oxidativ la: 0 ore (1), 3 ore (2), 24 ore (3).**



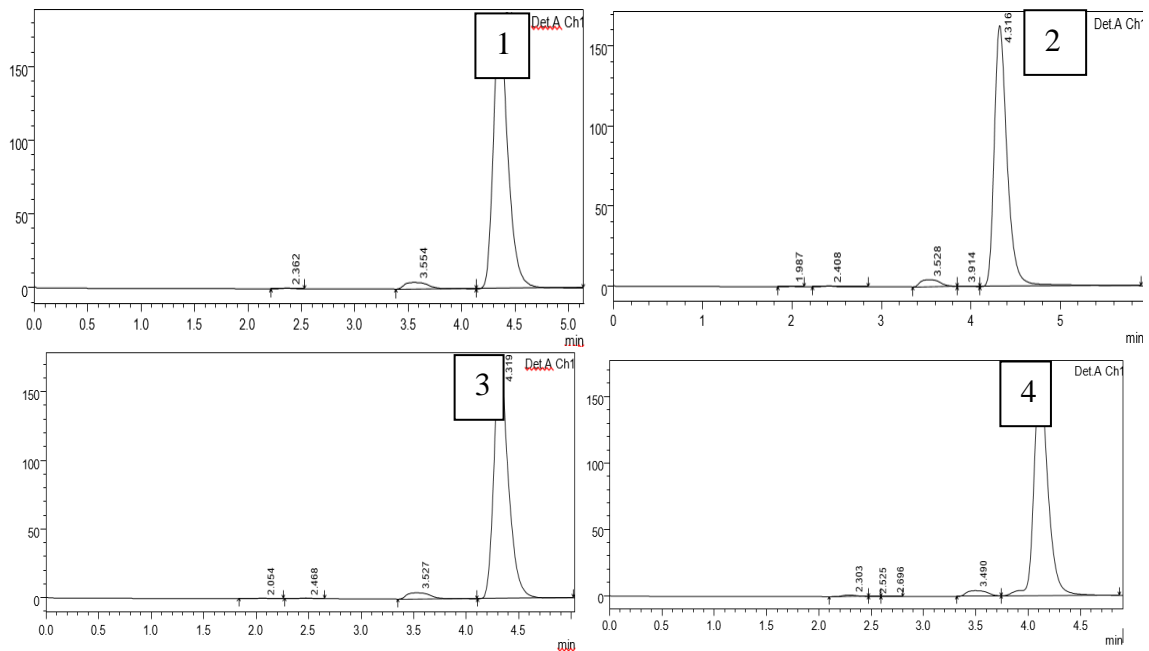
**Fig. A15.6. Cromatogramele MUului din forma farmaceutica supusa stresului oxidativ la: 0 ore (1), 3 ore (2), 24 ore (3)**



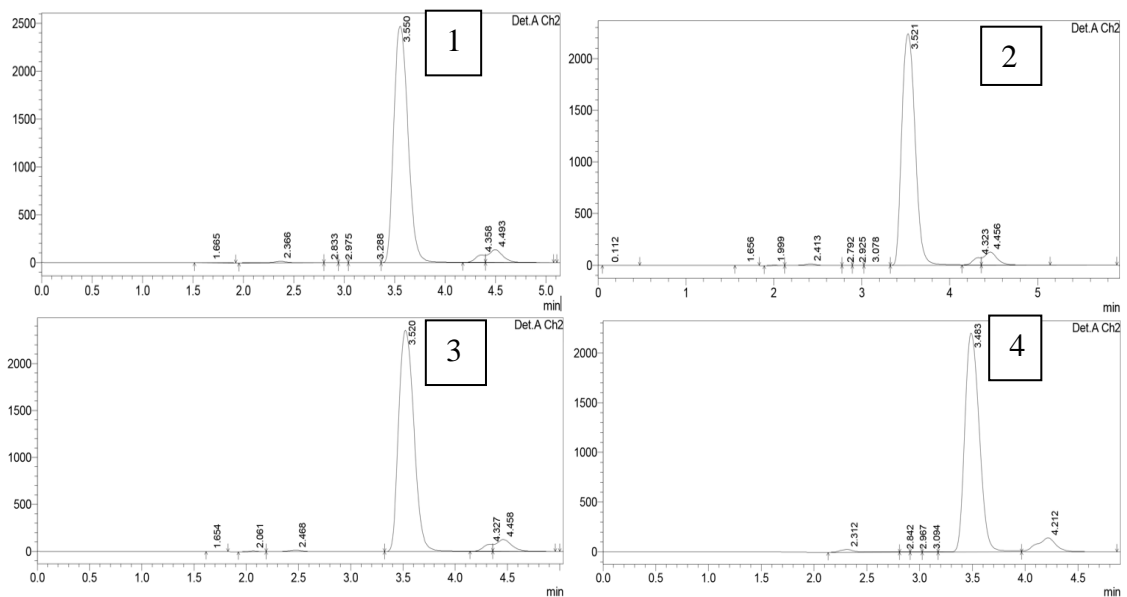
**Fig. A15.7. Cromatogramele IHF din forma farmaceutica supusa stresului fotolitic la: 0 ore (1), 3 ore (2), 24 ore (3)**



**Fig. A15.8. Cromatogramele MU din forma farmaceutica supusa stresului fotolitic la: 0 ore (1), 3 ore (2), 24 ore (3)**

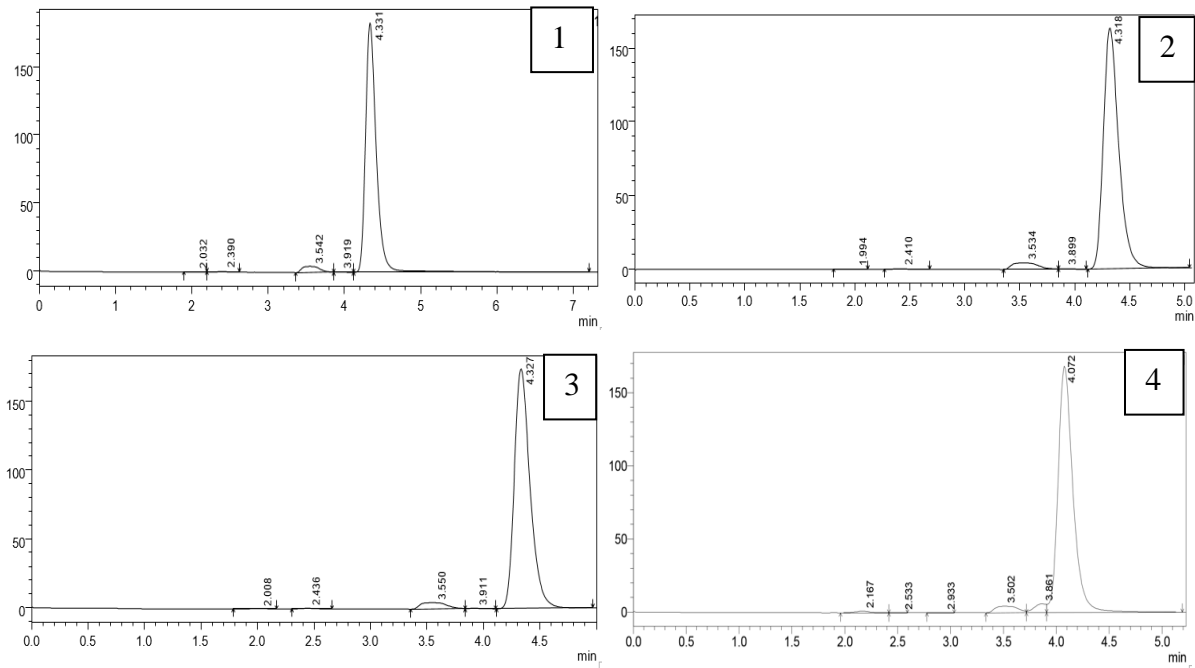


**Fig. A15.9. Cromatogramele IHF din forma farmaceutica supusa la stresul termic la 40°C la: 0 ore(1), 3 ore (2), 24 ore(3), 48 ore(4).**

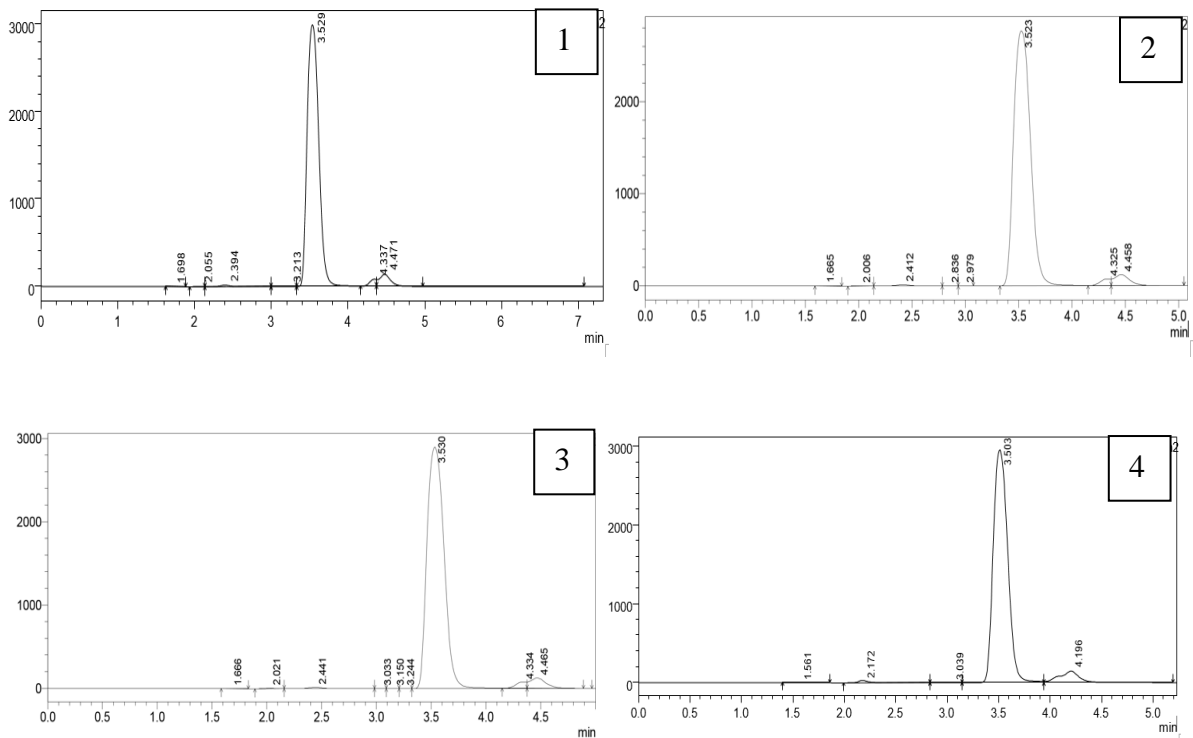


**Fig. A15.10. Cromatogramele MU din forma farmaceutica supusa la stresul termic la 40°C la: 0 ore(1), 3 ore (2), 24 ore(3), 48 ore(4).**





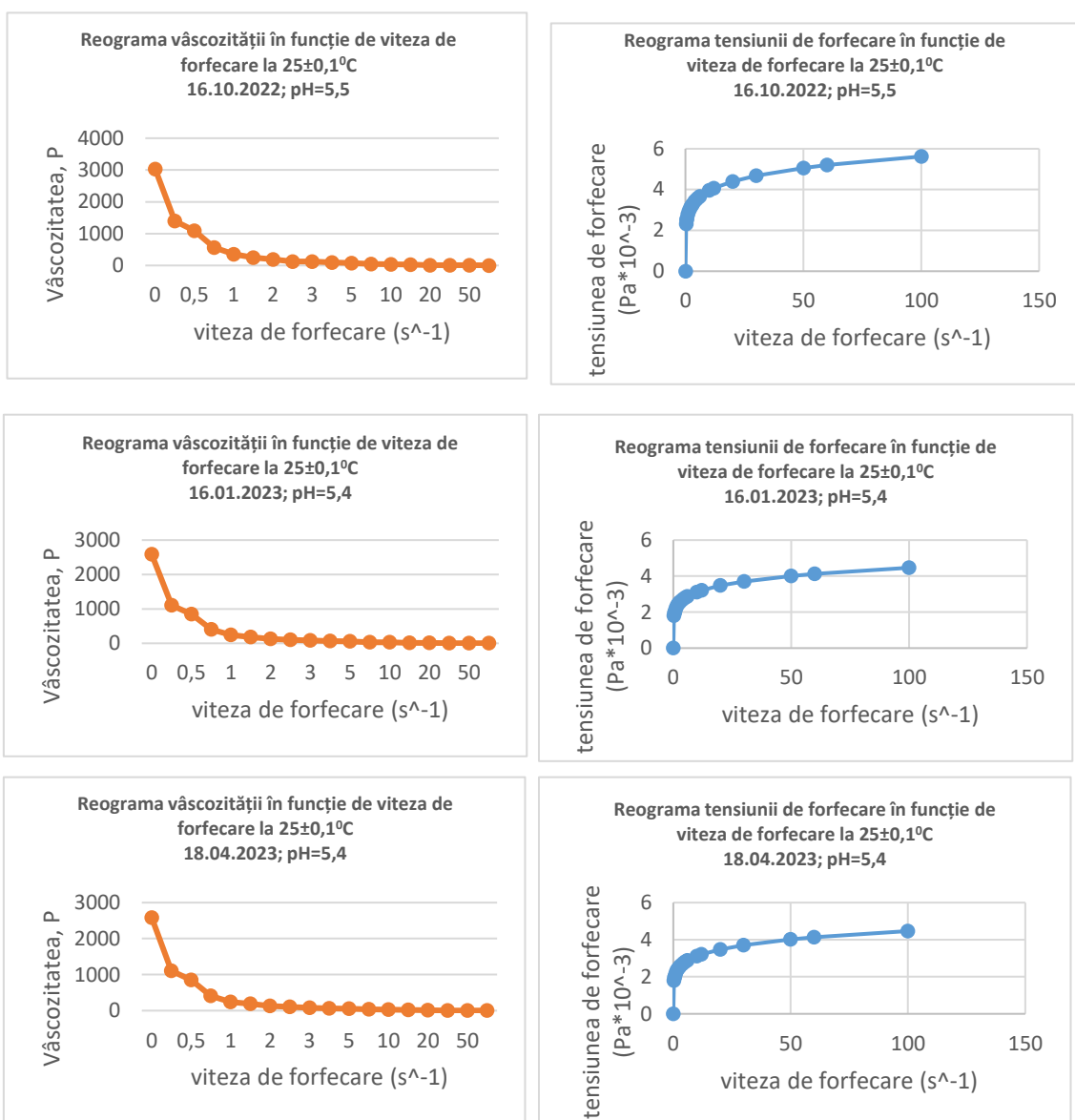
**Fig. A15.11. Cromatogramele IHF din forma farmaceutica supusa la stresul termic la 60°C la: 0 ore(1), 3 ore (2), 24 ore(3), 48 ore(4).**



**Fig. A15.12. Cromatogramele MU din forma farmaceutica supusa la stresul termic la 60°C la: 0 ore(1), 3 ore (2), 24 ore(3), 48 ore(4).**

**Tabelul A15.1. Determinarea vâscozității picăturilor auriculare la etapa inițială de depozitare și la depozitare pe termen lung pentru seria 01 (rezultatele pentru toate 3 serii sunt foarte apropiate)**

<b>Nr</b>	<b>SP-R7 RPM</b>	<b>16.10.2021 Vâscoz. pH 5,5</b>	<b>16.01.2022 Vâscoz. pH 5,4</b>	<b>18.04.2022 Vâscoz. pH 5.4</b>	<b>18.10.2022 Vâscoz. pH 5,5</b>	<b>18.04.2023 Vâscoz. pH 5.4</b>	<b>18.10.2023 Vâscoz. pH 5,5</b>
1.	0.3	3006.4	3005.3	3002.3	3008.3	3004.7	3004.2
2.	0.5	1398.0	1640.1	1721.1	1397.1	1641.8	1723.3
3.	0.6	1093.5	1299.3	1335.5	1091.7	1297.5	1336.6
4.	1.0	567.2	672.6	703.3	568.1	674.2	701.5
5.	1.5	352.7	419	442.2	353.4	418.3	443.8
6.	2.0	252.1	302.1	341.2	253.7	301.5	343.4
7.	2.5	189.4	232.4	243.7	187.2	234.1	244.4
8.	3.0	123.3	189.8	196.9	125.1	187.6	194.7
9.	4.0	121.5	145.9	145.5	122.7	144.3	143.8
10.	5.0	92.8	113.2	116.5	93.7	114.8	115.7
11.	6.0	77.6	90.9	94.2	75.7	92.3	95.9
12.	10.0	50.2	58.1	58.1	51.4	55.8	57.2
13.	12.0	41.3	45.8	45.6	42.7	44.2	44.3
14.	20.0	24.1	27.1	27.7	23.2	25.8	28.4
15.	30.0	10.6	16.9	18.1	32.8	11.5	14.2
16.	50.0	9.5	10.2	10.4	51.4	10.8	12.6
17.	60.0	7.6	8.2	8.2	64.3	8.7	7.4
18.	100.0	4.2	5.0	5.1	98.8	5.3	4.2



**Fig. A15.13. Reogramele vâscozității și a tensiunii de forfecare în funcție de viteza de forfecare la 25<sup>0</sup>C.**

**Tabelul A15.2. Determinarea pH-ului picăturilor auriculare cu IHF și MU pe parcursul perioadei de depozitare în timp real**

pH	Seria 01	Seria 02	Seria 03
0 luni	5,5	5,5	5,5
3 luni	5,4	5,3	5,4
6 luni	5,4	5,4	5,4
12 luni	5,5	5,3	5,5
18 luni	5,5	5,3	5,5
24 luni	5,4	5,4	5,4

**Tabelul A15.3. Rezultatele studiilor de stabilitate în timp real a picăturilor auriculare cu IHF și MU, depozitare la 25°C**

Parametrii analizați și condiții de admisibilitate								
Seria	Data testării	Aspect Suspensie gălbenă, omogenă	Identitate HPLC		pH 4,0-5,5	Vâscozitate	Dozare	
			După timpul de retenție ±0,3min: IHF – 4,4; MU- 3,5				Sp. HPLC: % IHF: 95-105 MU: 95-105	
01	16.10.2021	Coresp.	IHF	4,41	5,5	Coresp.	IHF	99,00
			MU	3,50			MU	99,89
	16.01.2022	Coresp.	IHF	4,34	5,4	Coresp.	IHF	98,04
			MU	3,48			MU	99,76
	18.04.2022	Coresp.	IHF	4,50	5,4	Coresp.	IHF	97,58
			MU	3,51			MU	99,64
	18.10.2022	Coresp.	IHF	4,37	5,4	Coresp.	IHF	97,14
			MU	3,53			MU	99,49
	18.04.2023	Coresp.	IHF	4,40	5,3	Coresp.	IHF	96,76
			MU	3,47			MU	99,35
	18.10.2023	Coresp.	IHF	4,39	5,3	Coresp.	IHF	96,52
			MU	3,45			MU	99,28
02	16.10.2022	Coresp.	IHF	4,39	5,5	Coresp.	IHF	99,21
			MU	3,50			MU	99,88
	16.01.2023	Coresp.	IHF	4,40	5,3	Coresp.	IHF	98,11
			MU	3,52			MU	99,69
	18.04.2023	Coresp.	IHF	4,39	5,4	Coresp.	IHF	97,68
			MU	3,51			MU	99,66
	18.10.2022	Coresp.	IHF	4,39	5,3	Coresp.	IHF	97,18
			MU	3,50			MU	99,60
	18.04.2023	Coresp.	IHF	4,38	5,2	Coresp.	IHF	96,83
			MU	3,49			MU	99,55
	18.10.2023	Coresp.	IHF	4,39	5,2	Coresp.	IHF	96,57
			MU	3,49			MU	99,52
03	16.10.2022	Coresp.	IHF	4,48	5,5	Coresp.	IHF	99,02
			MU	3,50			MU	99,91
	16.01.2023	Coresp.	IHF	4,51	5,4	Coresp.	IHF	98,00
			MU	3,52			MU	99,57
	18.04.2023	Coresp.	IHF	4,44	5,4	Coresp.	IHF	97,37
			MU	3,49			MU	99,59
	18.10.2022	Coresp.	IHF	4,42	5,4	Coresp.	IHF	98,53
			MU	3,48			MU	99,52
	18.04.2023	Coresp.	IHF	4,40	5,3	Coresp.	IHF	98,09
			MU	3,48			MU	99,48
	18.10.2023	Coresp.	IHF	4,37	5,3	Coresp.	IHF	97,74
			MU	3,46			MU	99,44

**Tabelul A15.4. Cinetica influenței pH-ului asupra timpului de înjumătățire a ciprofloxacinei în urma degradării fotochimice în procesul studiilor de stabilitate a picăturilor auriculare cu CIP, EC și UVB**

pH	t <sub>1/2</sub> (min)
4,0	55
5,0	102
6,0	40
8,6	22
10,6	200

**Tabelul A15.5. Rezultatele dozării spectrofotometrice a clorhidratului de CIP și nitratului de EC în urma depozitării în condiții obișnuite.**

Substanța de analizat	Timpul depozitării	Lungimea de undă, nm	Absorbanța	Concentrația, %
Clorhidratul de CIP	0 h	280	1,413	103,55
	1 lună	277	1,348	98,78
	2 luni	278	1,486	108,9
	3 luni	277	1,508	110,51
	6 luni	280	1,406	103,03
	12 luni	279	1,423	105,22
	18 luni	277	1,401	102,49
	24 luni	276	1,415	101,75
Nitrat de EC	0 h	221	3,821	106,86
	1 lună	229	3,870	108,76
	2 luni	227	3,776	105,12
	3 luni	226	3,800	106,05
	6 luni	220	3,677	101,03
	12 luni	218	3,745	103,68
	18 luni	215	3,652	101,46
	24 luni	211	3,627	100,87

**Tabelul A15.6. Rezultatele studiilor de stabilitate, depozitare la 25°C**

Parametrii analizați și condiții de admisibilitate								
Seria	Data testării	Aspect Suspensie alb- gălbuie, omogenă, cu miros specific de busuioc	Identitate Sp. UV-VIS După max de absorbție în raport cu stand. ±2nm: Cip-280; EC-221		pH 4,0-5,5	Vâscozitate	Dozare Sp. UV-VIS: % Cip: 95-105 EC: 95-105	
01	17.11.2021	Coresp.	Cip	280	5,5	Coresp.	Cip	103,65
			EC	221			EC	106,86
	17.12.2021	Coresp.	Cip	278	5,5	Coresp.	Cip	98,78
			EC	229			EC	108,76
	17.01.2022	Coresp.	Cip	278	5,4	Coresp.	Cip	108,9
			EC	227			EC	104,76
	17.02.2022	Coresp.	Cip	277	5,3	Coresp.	Cip	105,12
			EC	226			EC	106,105
17.05.2022	Coresp.	Cip	280	5,3	Coresp.	Cip	103,03	
		EC	220			EC	101,03	
17.11.2022	Coresp.	Cip	278	5,2	Coresp.	Cip	102,74	
		EC	225			EC	103,47	
17.05.2023	Coresp.	Cip	277	5,2	Coresp.	Cip	102,51	
		EC	223			EC	103,19	
17.11.2023	Coresp.	Cip	277	5,1	Coresp.	Cip	102,28	
		EC	220			EC	102,93	
02	17.11.2022	Coresp.	Cip	279	5,5	Coresp.	Cip	100,15
			EC	220			EC	103,44
	17.12.2022	Coresp.	Cip	278	5,3	Coresp.	Cip	99,12
			EC	221			EC	103,76
	17.01.2023	Coresp.	Cip	278	5,4	Coresp.	Cip	107,8
			EC	228			EC	104,4
	17.02.2023	Coresp.	Cip	278	5,4	Coresp.	Cip	99,37
			EC	222			EC	103,46
17.05.2023	Coresp.	Cip	279	5,4	Coresp.	Cip	102,8	
		EC	220			EC	101,6	
17.11.2022	Coresp.	Cip	278	5,3	Coresp.	Cip	102,57	

Parametrii analizați și condiții de admisibilitate								
Seria	Data testării	Aspect Suspensie alb- gălbuie, omogenă, cu miros specific de busuioc	Identitate Sp. UV-VIS După max de absorbție în raport cu stand. ±2nm: Cip-280; EC-221		pH 4,0-5,5	Vâscozitate	Dozare Sp. UV-VIS: % Cip: 95-105 EC: 95-105	
			EC	Cip			EC	Cip
03	17.05.2023	Coresp.	EC	224	5,3	Coresp.	EC	100,73
			Cip	277			Cip	102,34
	17.11.2023	Coresp.	EC	227	5,2	Coresp.	EC	100,52
			Cip	278			Cip	102,15
	17.11.2022	Coresp.	EC	225	5,5	Coresp.	EC	100,43
			Cip	279			Cip	101,24
17.12.2022	Coresp.	EC	221	5,5	Coresp.	EC	103,12	
		Cip	279			Cip	99,87	
17.01.2023	Coresp.	EC	220	5,3	Coresp.	EC	102,51	
		Cip	279			Cip	99,96	
17.02.2023	Coresp.	EC	220	5,4	Coresp.	EC	103,29	
		Cip	278			Cip	99,08	
17.05.2023	Coresp.	EC	220	5,3	Coresp.	EC	103,11	
		Cip	280			Cip	102,3	
17.11.2022	Coresp.	EC	221	5,3	Coresp.	EC	101,3	
		Cip	279			Cip	103,1	
17.05.2023	Coresp.	EC	219	5,2	Coresp.	EC	102,7	
		Cip	277			Cip	102,47	
17.11.2023	Coresp.	EC	220	5,2	Coresp.	EC	101,88	
		Cip	276			Cip	102,33	
			EC	218		Coresp.	EC	101,4

**Tabelul A15.7. Specificația pentru produsul farmaceutic picături auriculare „Izofural M”**

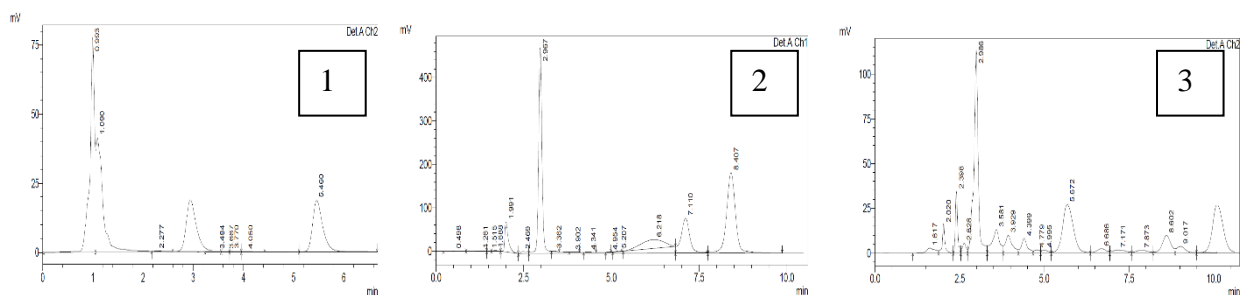
Parametri	Metode de analiză	Criterii de acceptare
<b>Descriere</b>	Organoleptic <i>Ph. Eur., 04/2011:0652 corrected</i> 10.0 FR, ed. X, p. 716, <i>OTOGUTTAE</i>	Suspensie transparentă, galbenă, vâscoasă, fără miros.
<b>Preparare</b>	<i>Ph. Eur., 04/2011:0652 corrected</i> 10.0 FR, ed. X, p. 716, <i>OTOGUTTAE Ph. Eur.,</i> 5.1.3. <i>Efficacy of antimicrobial preservation. Ph. Eur., 5.1.4.</i> <i>Microbiological quality of non-sterile pharmaceutical preparations and substances for pharmaceutical use.</i>	
<b>Identificare</b>	1. HPLC  2. Reacții chimice 2.1. IHF - Cu soluție NaOH 0,1 mol/l - Cu N,N-dimetilformamidă 2.2. MU - Cu soluție alcoolică nitrat de cobalt	1. Pe cromatogramele soluțiilor probă valorile timpului de retenție ale IHFului și MUului trebuie să corespundă valorilor timpului de retenție ale soluțiilor standard. 2.1. Culoare galben-oranj Culoare gălbuie 2.2. Culoare albastră-verzuie
<b>pH-ul</b>	Se determină potențiomtric. <i>Ph. Eur.</i> 2.2.3. FR, ed. X, p. 716, <i>OTOGUTTAE</i>	Trebuie să fie cuprins între 5,0 și 7,0.
<b>Impurități înrudite chimic</b>	CSS	Nu se admit spoturi suplimentare
<b>Densitate relativă</b>	<i>Ph. Eur., 01/2008:20205</i>	1,010 - 1,030

Parametri	Metode de analiză	Criterii de acceptare
	<i>corrected 10.0</i>	
<b>Vâscozitate</b>	FR, ed. X, p. 1003, <i>IX.C.12. Vâscozitate</i>	27,24 P·10 <sup>2</sup>
<b>Masa totală pe recipient</b>	FR, ed. X, p. 716, <i>OTOGUTTAE</i>	
<b>Dozare</b>	HPLC	<i>IHF</i> : cel puțin 0,04085 g și cel mult 0,0515 g (± 3 %). <i>MU</i> : cel puțin 1,94 g și cel mult 2,06 g (± 3 %).
<b>Conservare</b>	<i>Ph. Eur.</i> , 04/2011:0652 <i>corrected 10.0</i> FR, ed. X, p. 716, <i>OTOGUTTAE</i>	Se depozitează la temperatura camerei, sub 25°C, în ambalaj original.
<b>Marcare</b>	<i>Ph. Eur.</i> , 04/2011:0652 <i>corrected 10.0</i>	Pe eticheta de flacon și pe cutia pliantă se inscripționează seria de fabricație, data de fabricație și data expirării.
<b>Ambalare</b>	<i>Ph. Eur.</i> , 04/2011:0652 <i>corrected 10.0</i> FR, ed. X, p. 716, <i>OTOGUTTAE</i>	<i>Ambalaj primar</i> : Flacoane de culoare albă din polietilenă cu capacitatea de 5,0 ml, prevăzută cu dop picurător; capac alb cu inel de siguranță. <i>Ambalaj secundar</i> : Fiecare flacon, însoțit de prospect, se introduce în cutie individuală de carton inscripționat.
<b>Termenul de valabilitate</b>		24 de luni (2 ani).
<b>Cod ATC și grupa farmacoterapeutică</b>		S03A A07 Preparate oftalmologice și auriculare - antiinfecțioase

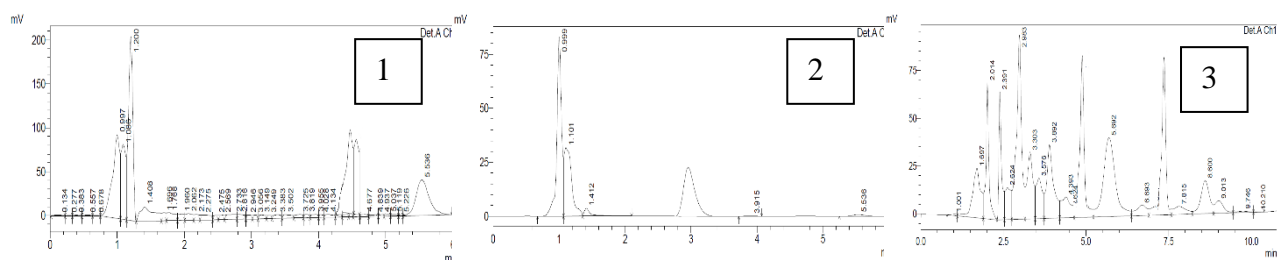
**Tabelul A15.8. Specificația pentru produsul farmaceutic picături auriculare „Otocibex”**

Parametri	Metode de analiză	Criterii de acceptare
<b>Descriere</b>	Organoleptic <i>Ph. Eur.</i> , 04/2011:0652 <i>corrected 10.0</i> FR, ed. X, p. 716, <i>OTOGUTTAE</i>	Suspensie transparentă, cu nuanță gălbuie, vâscoasă, cu miros specific de ulei de busuioc.
<b>Preparare</b>	<i>Ph. Eur.</i> , 04/2011:0652 <i>corrected 10.0</i> FR, ed. X, p. 716, <i>OTOGUTTAE</i> <i>Ph. Eur.</i> , 5.1.3. <i>Efficacy of antimicrobial preservation.</i> <i>Ph. Eur.</i> , 5.1.4. <i>Microbiological quality of non-sterile pharmaceutical preparations and substances for pharmaceutical use.</i>	
<b>Identificare</b>	1. CSS  2. Reacții chimice 2.1. Clorhidrat de CIP - Cu soluție FeCl <sub>3</sub> 10%. - Cu soluție CuSO <sub>4</sub> 10%. 2.2. Nitrat de EC - Cu reactivii de precipitare (Dragendorf, Mayer, Lugol, acid picric) - Cu soluția de difenilamină	1. Clorhidratul de CIP și nitratul de EC sunt identificați prin metoda CSS după valorile Rf-ului în raport cu soluțiile standard (Rf clorhidrat de CIP=0,30, Rf nitrat de EC=0,77)  2.1. Colorație roșie-brună Colorație albastră-deschisă 2.2. Colorație galben-portocalie (reactivul Dragendorf), precipitat alb (reactivul Mayer), colorație roșie (reactiv Lugol), colorație galbenă (acid picric) Colorație albastră
<b>pH-ul</b>	Se determină potențiomtric. <i>Ph. Eur.</i> 2.2.3. FR, ed. X, p. 716, <i>OTOGUTTAE</i>	Trebuie să fie cuprins între 5,0 și 7,0.

Parametri	Metode de analiză	Criterii de acceptare
Impurități înrudite chimic	CSS	Nu se admit spoturi suplimentare
Densitate relativă	<i>Ph. Eur.</i> , 01/2008:20205 <i>corrected 10.0</i>	1,010 - 1,030
Vâscozitate	FR, ed. X, p. 1003, <i>IX.C.12. Vâscozitate</i>	27,24 P·10 <sup>2</sup>
Masa totală pe recipient	FR, ed. X, p. 716, <i>OTOGUTTAE</i>	
Dozare	<b>Spectrometrie UV-VIS</b> (clorhidrat de CIP și nitrat de EC) <b>Cromatografie de gaze</b> (Ulei volatil de busuioc)	<i>Clorhidrat de CIP</i> : cel puțin 0,194 g și cel mult 0,206 g (± 3 %). <i>Nitrat de EC</i> : cel puțin 0,194 g și cel mult 0,206 g (± 3 %). <i>Ulei volatil de busuioc (recalcul la conținut de linalool)</i> : cel puțin 2,425% și cel mult 2,575 % (± 3 %).
Conservare	<i>Ph. Eur.</i> , 04/2011:0652 <i>corrected 10.0</i> FR, ed. X, p. 716, <i>OTOGUTTAE</i>	Se depozitează la temperatura camerei, sub 25°C, în ambalaj original.
Marcare	<i>Ph. Eur.</i> , 04/2011:0652 <i>corrected 10.0</i>	Pe eticheta de flacon și pe cutia pliantă se inscripționează seria de fabricație, data de fabricație și data expirării.
Ambalare	<i>Ph. Eur.</i> , 04/2011:0652 <i>corrected 10.0</i> FR, ed. X, p. 716, <i>OTOGUTTAE</i>	<i>Ambalaj primar</i> : Flacoane de culoare albă din polietilenă cu capacitatea de 5,0 ml, prevăzut cu dop picurător; capac alb cu inel de siguranță. <i>Ambalaj secundar</i> : Fiecare flacon, însoțit de prospect, se introduce în cutie individuală de carton inscripționat.
Termenul de valabilitate		24 de luni (2 ani).
Cod ATC și grupa farmacoterapeutică		S03A A07 Preparate oftalmologice și auriculare - antiinfecțioase



**Fig. A15.14. Cromatogramele soluției probă expusă la degradare fotolitică: PIR (1), NIC (2) și EP (3)**





**Tabelul A15.9. Rezultatele studiilor de stabilitate a capsulelor combinate, depozitare la 25°C**

Parametrii analizați și condiții de admisibilitate									
Seria	Data testării	Aspect Capsule de forma cilindrică cu capete emisferice, suprafața uniformă, lucioasă. Mărimea capsulei Nr 0. Conținutul capsulelor prezintă pulbere de culoare brună pal, fără miros. Trebuie să corespundă cerințelor indicate în Ph. Eur. 0016 „Capsule”.	Identitate HPLC După timpul de retenție ±0,3min: NIC – 5,5; PIR- 1,90		Dizolvar e Cel puțin 75% timp de 30 min.	Dezagregar e Cel mult 15 min.	Dozare Sp. HPLC: g ±3% NIC: cel puțin 0,004365 și cel mult 0,004635 PIR: cel puțin 0,194 și cel mult 0,206 g		
			NIC	Coresp			NIC	PIR	
01	20.12.2021	Coresp.	NIC	Coresp	Coresp	Coresp	NIC	0,004593	
			PIR	Coresp			PIR	0,203120	
	20.03.2022	Coresp.	NIC	Coresp	Coresp	Coresp	NIC	0,004588	
			PIR	Coresp			PIR	0,203040	
	20.06.2022	Coresp.	NIC	Coresp	Coresp	Coresp	NIC	0,004575	
			PIR	Coresp			PIR	0,203000	
20.12.2022	Coresp.	NIC	Coresp	Coresp	Coresp	NIC	0,004567		
		PIR	Coresp			PIR	0,202970		
20.06.2023	Coresp.	NIC	Coresp	Coresp	Coresp	NIC	0,004424		
		PIR	Coresp			PIR	0,202471		
02	16.10.2022	Coresp.	NIC	Coresp	Coresp	Coresp	NIC	0,004528	
			PIR	Coresp			PIR	0,203056	
	16.01.2023	Coresp.	NIC	Coresp	Coresp	Coresp	NIC	0,004522	
			PIR	Coresp			PIR	0,203039	
	18.04.2023	Coresp.	NIC	Coresp	Coresp	Coresp	NIC	0,004519	
			PIR	Coresp			PIR	0,203022	
18.10.2022	Coresp.	NIC	Coresp	Coresp	Coresp	NIC	0,004514		
		PIR	Coresp			PIR	0,202984		
18.04.2023	Coresp.	NIC	Coresp	Coresp	Coresp	NIC	0,004477		
		PIR	Coresp			PIR	0,202478		
03	16.10.2022	Coresp.	NIC	Coresp	Coresp	Coresp	NIC	0,004510	
			PIR	Coresp			PIR	0,202159	
	16.01.2023	Coresp.	NIC	Coresp	Coresp	Coresp	NIC	0,004509	
			PIR	Coresp			PIR	0,202141	
	18.04.2023	Coresp.	NIC	Coresp	Coresp	Coresp	NIC	0,004501	
			PIR	Coresp			PIR	0,202099	
18.10.2022	Coresp.	NIC	Coresp	Coresp	Coresp	NIC	0,004491		
		PIR	Coresp			PIR	0,202056		
18.04.2023	Coresp.	NIC	Coresp	Coresp	Coresp	NIC	0,004481		
		PIR	Coresp			PIR	0,202024		
18.10.2023	Coresp.	NIC	Coresp	Coresp	Coresp	NIC	0,004462		
		PIR	Coresp			PIR	0,202011		

**Tabelul A15.10. Specificația pentru produsul farmaceutic picături auriculare „Otoneurex”**

Parametri	Metode de analiză	Criterii de acceptare
Descriere	Organoleptic	Capsule de forma cilindrică cu capete emisferice, suprafața uniformă, lucioasă. Mărimea capsulei Nr 0. Conținutul capsulelor prezintă pulbere de culoare brună pal, fără miros. Trebuie să corespundă cerințelor indicate în Ph. Eur. 0016 „Capsule”.
Dentificare	<p><b>1. Nicergolină</b>  <b>1.1. Reacția cu acid sulfuric concentrat</b>  <b>1.2. Reacție la alcaloizi</b>  <b>1.3. HPLC (Ph. Eur., 2.2.29).</b></p> <p><b>1.4. Spectrofotometrie</b></p> <p><b>2. Piracetam</b>  <b>2.1. Reacția cu hidroxid de sodiu 10%.</b>  <b>2.2. HPLC (Ph. Eur., 2.2.29).</b></p> <p><b>2.3. Spectrofotometrie</b></p>	<p>Formează o colorație albastră</p> <p>Formează un precipitat galben. Timpul de retenție al picului principal să corespundă timpului de retenție al picului de nicergolină din soluția standard. Soluția conținutului capsulelor corespunzătoare concentrației de 20 µg/ml nicergolină în soluție metanolică de HCl 0.1 M posedă maxim de absorbție la 288±2 nm. În calitate de soluție de compensare se utilizează soluție metanolică de HCl 0,1M.</p> <p>Se elimină amoniac, care se identifică după miros și colorarea în albastru a hârtiei de turnesol. Timpul de retenție al picului principal să corespundă timpului de retenție al picului de piracetam din soluția standard. <b>Soluția conținutului capsulelor corespunzătoare concentrației de 20 µg/ml piracetam în soluție metanolică de HCl 0.1 M posedă maxim de absorbție la 205±2 nm. În calitate de soluție de compensare se utilizează soluție metanolică de HCl 0,1M.</b></p>
Masa medie capsule intacte conținutul capsulei	Ph. Eur. 2.09.05.	Cel puțin 0,1267 g și cel mult 0,1473 g. Cel puțin 0,0925 g și cel mult 0,1075 g.
Uniformitatea masei: - Abaterea masei individuale față de masa medie a capsulelor intacte și conținutului capsulelor, în %	Ph. Eur. 2.09.05.	Cel mult ±7,5%, cu excepția a 2 capsule din 20 pentru care se admite devierea cel mult ±15,0%.
Dezagregare	Ph. Eur., 2.9.1.	Cel mult 15 min.
Dizolvare	Ph. Eur., 2.9.3.	Cel puțin 75% timp de 30 min.
Uniformitatea unităților dozate	Ph. Eur., 2.9.40.	Valoarea de acceptare (AV), nu trebuie să depășească valoarea $L1$ . În caz contrar studiul se repetă pe alte 20 capsule. AV finală pentru toate 30 capsule nu trebuie să depășească valoarea $L1$ , iar conținutul individual de piracetam și nicergolină în fiecare capsulă trebuie să fie cel puțin $(1-L2 \cdot 0,01) \cdot M$ și cel mult $(1+L2 \cdot 0,01) \cdot M$ , unde $L1=15$ și $L2=25$ .
Contaminare microbiană - NTMA în 1,0 g - NTLF în 1,0 g Escherichia coli în 1,0 g	Ph. Eur., 5.1.4.	cel mult $10^3$ cel mult $10^2$ absență

<b>Parametri</b>	<b>Metode de analiză</b>	<b>Criterii de acceptare</b>
<b>Dozare</b>	<b>Piracetam</b> <b>HPLC</b> ( <i>Ph. Eur.</i> , 2.2.29) <b>Spectrofotometrie</b> ( <i>metoda alternativă</i> ) <b>Nicergolină</b> <b>HPLC</b> ( <i>Ph. Eur.</i> , 2.2.29) <b>Spectrofotometrie</b> ( <i>metoda alternativă</i> ) <b>Extract de păducel</b> <b>HPLC</b>	1. Conținutul de piracetam trebuie să fie de cel puțin 0,194 g și cel mult 0,206 g ( $\pm 3\%$ ) (HPLC) 2. Conținutul de nicergolină trebuie să fie de cel puțin 0,004365 g și cel mult 0,004635 g ( $\pm 3\%$ ) (HPLC) 3. Cantitatea de flavonozide în recalcul la rurin în extractului de păducel trebuie să fie de la 0,400%/500mg până la 0,600%/500 mg.
<b>Ambalare</b>		Câte 50 sau 100 capsule în flacon de sticlă, polietilenă sau polipropilenă cu capac din masă plastică sau câte 10 capsule în blistere din peliculă de PVC și folia de aluminiu. Câte un flacon sau câte 5 sau 10 blistere împreună cu instrucțiunea pentru administrare se plasează în cutia individuală din carton pentru ambalaj de consum model crom sau crom-erzaț.
<b>Marcare</b>	Conform MF	GOST 14192-96
<b>Depozitare</b>		La loc uscat ferit de lumină, la temperatura sub 25°C.
<b>Transportare</b>		GOST 17768-90.
<b>Termen de valabilitate</b>		2 ani
<b>Grupa farmacoterapeutică</b>		N06B X: alte produse stimulante SNC; C04AE02: Vasodilatatoare periferice, alcaloizi din ergot.

**Anexa 16. Activitatea antimicrobiană și antioxidantă a produselor combinate**

**Tabelul A16.1. Activitatea antibacteriană a picăturilor auriculare de izohidrafural și metiluracil**

Probe testate	Concentrația $\mu\text{g/ml}$ , CMI* CMB*							
	Tulpinile de microorganisme							
	<i>Staphylococcus aureus</i> 209-P	<i>Enterococcus faecalis</i> t.ATCC 19433	<i>Escherichia coli</i> t.ATCC 25922	<i>Klebsiella pneumoniae</i> t.3534/51	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> t.ATCC 27853	<i>Proteus vulgaris</i> t.HX 19222	<i>Salmonella typhimurium</i> WDCM 00031	<i>Enterobacter cloacae</i> ATCC 13047
Placebo	$\geq 100$ >100	$\geq 600$ >600	$\geq 600$ >600	$\geq 600$ >600	$\geq 600$ >600	$\geq 600$ >600	$\geq 900$ >900	$\geq 900$ >900
IHF+MU (picături auriculare)	$\frac{0,99}{0,99}$	$\frac{7,6}{62,0}$	$\frac{3,9}{3,9}$	$\frac{31,10}{60,5}$	$\frac{31,15}{31,25}$	$\frac{7,7}{7,8}$	$\frac{80,5}{80,5}$	$\frac{83,00}{83,00}$
IHF+MU (amestec mecanic)	$\frac{0,97}{0,97}$	$\frac{7,7}{62,5}$	$\frac{4,2}{4,3}$	$\frac{31,15}{60,5}$	$\frac{31,15}{31,25}$	$\frac{7,7}{7,9}$	$\frac{83,00}{83,00}$	$\frac{83,00}{83,00}$
IHF	$\frac{0,95}{0,95}$	$\frac{7,7}{62,0}$	$\frac{3,9}{3,9}$	$\frac{62,5}{62,5}$	$\frac{31,25}{31,25}$	$\frac{7,8}{7,8}$	$\frac{\geq 83,33}{\geq 83,33}$	$\frac{\geq 83,33}{\geq 83,33}$
Control (Nitrofuril)	$\frac{18,7}{37,5}$	$\frac{37,5}{75}$	$\frac{18,7}{37,5}$	$\frac{\geq 300}{>300}$	$\frac{\geq 300}{>300}$	$\frac{150}{300}$	$\frac{\geq 300}{>300}$	$\frac{\geq 300}{>300}$

Notă: CMI\* – concentrația minimă de inhibiție, CMB\*\* – concentrația minimă bactericidă.

**Tabelul A16.2. Acțiunea bacteriostatică și fungistatică a picăturilor auriculare combinate cu CIP+EC+UVB, amestecului mecanic cu CIP+EC și amestecului mecanic cu CIP+EC+UVB după expoziția de 24 ore**

Microorganism	Proba 2a		Proba 2b				Proba 2c				Proba 2d				Proba 2e				Proba 2f				Proba 2g				Proba 2h				Proba 2i				Control						
	6	3	1.5	0.75	0.5	4	2	1	0.75	4	2	1	0.5	6	3	1.5	0.75	2	1	0.5	0.25	2	1	0.5	0.25	6	3	1.5	0.75	2	1	0.75	0.5	4		2	1	0.75			
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>Candida albicans</i>	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
<i>Aspergillus flavus</i>	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>Aspergillus fumigatus</i>	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>Aspergillus niger</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+

**Tabelul A16.3. Acțiunea bacteriostatică și fungistică a picăturilor auriculare combinate cu CIP+EC+UVB, amestecului mecanic cu CIP+EC și amestecului mecanic cu CIP+EC+UVB după expoziția de 48 ore**

Microorganism	Proba 2a					Proba 2b				Proba 2c				Proba 2d				Proba 2e				Proba 2f				Proba 2g				Proba 2h				Proba 2i				Control				
	6	3	1.5	0.75	0.5	4	2	1	0.75	4	2	1	0.5	6	3	1.5	0.75	2	1	0.5	0.25	2	1	0.5	0.25	6	3	1.5	0.75	2	1	0.75	0.5	4	2	1	0.75					
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>Candida albicans</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+
<i>Aspergillus flavus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+
<i>Aspergillus fumigatus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+
<i>Aspergillus niger</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+

**Tabelul A16.4. Acțiunea bacteriostatică și fungistică a picăturilor auriculare combinate cu CIP+EC+UVB, amestecului mecanic cu CIP+EC și amestecului mecanic cu CIP+EC+UVB după expoziția de 120 ore**

Microorganism	Proba 2a					Proba 2b				Proba 2c				Proba 2d				Proba 2e				Proba 2f				Proba 2g				Proba 2h				Proba 2i				Control				
	6	3	1.5	0.75	0.5	4	2	1	0.75	4	2	1	0.75	6	3	1.5	0.75	2	1	1.5	0.75	2	1	0.5	0.25	6	3	1.5	0.75	2	1	0.75	0.5	4	2	1	0.75					
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>Candida albicans</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+
<i>Aspergillus flavus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+
<i>Aspergillus fumigatus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+
<i>Aspergillus niger</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+

Notă: + prezenta creșterea, - lipsa creștere

- Proba 2a. Forma farmaceutică picături auriculare combinate,
- Proba 2b. Amestec mecanic clorhidrat de ciprofloxacina 0,1 g + nitrat de econazol 0,1 g,
- Proba 2c. Amestec mecanic nitrat de econazol 0,1 g + ulei volatil de busuioc 0,1g,
- Proba 2d. Amestec mecanic nitrat de econazol 0,1 g + clorhidrat de ciprofloxacina 0,1 g + ulei volatil de busuioc 0,1g,
- Proba 2e. Nitrat de econazol 0,1 g,
- Proba 2f. Ulei volatil de busuioc 0,1g,
- Proba 2g. Soluția Placebo,
- Proba 2h. Clorhidrat de ciprofloxacina 0,1 g
- Proba 2i. Clorhidrat de ciprofloxacina 0,1 g + ulei volatil de busuioc 0,1g.

**Tabelul A16.5. Rezultatele determinării acțiunii antioxidante a capsulelor cu NIC, PIR și EP: metoda DPPH**

Parametrii statistici		DPPH, IC <sub>50</sub> μg/ml		
		Extract din păducel	Capsule cu extract din păducel	Trolox
n		6	6	6
$\bar{x}$		86,4617	99,5667	3,9483
95 % CI	Limita de jos	83,2151	97,7521	2,9692
	Limita de sus	89,7083	101,3812	4,9274
SD		3,09367	1,72905	0,93298
M <sub>e</sub>		88,3250	99,1550	3,7100
IQR		5,58	2,42	1,84
Xmin; Xmax		81,69; 88,54	97,83; 102,73	2,98; 5,07
P<0,05		0,001		

**Tabelul A16.6. Rezultatele determinării acțiunii antioxidante a capsulelor cu NIC, PIR și EP: metoda ABTS**

Parametrii statistici		ABTS, μM TE/g masă uscată	
		Extract din păducel	Capsule cu extract din păducel
n		6	6
$\bar{x}$		20,97183	19,31383
95 % CI	Limita de jos	20,31822	19,08736
	Limita de sus	21,62545	19,54031
SD		0,622825	0,215807
M <sub>e</sub>		20,83600	19,32600
IQR		1,221	0,349
Xmin; Xmax		20,319; 21,893	18,97; 19,559
P<0,05		0,001	

**Tabelul A16.7. Capacitatea extractului uscat din păducel de chelare a ionilor de Fe<sup>2+</sup> *in vitro***

Parametrii statistici		Capacitatea de chelare a fierului, %		
		Extract din păducel	Capsule cu extract din păducel	EDTA
n		6	6	6
$\bar{x}$		77,1900	59,8100	93,5483
95 % CI	Limita de jos	77,1785	59,4430	92,2912
	Limita de sus	77,2015	60,1770	94,8055
SD		0,01095	0,34969	1,19791
M <sub>e</sub>		77,1900	59,8750	93,1000
IQR		0,02	0,62	0,85
Xmin; Xmax		77,17; 77,20	59,29; 60,14	92,96; 95,99
P		0,000490		

## Anexa 17. Actele de implementare a inovațiilor în activitatea științifică și metodică-didactică

	INSTITUȚIA PUBLICĂ UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE "NICOLAE TESTEMIȚANU" DIN REPUBLICA MOLDOVA Institutul Național de Cercetare în Medicină și Sănătate	Pag. 1 / 1
	APROB Prorector pentru activitate de cercetare, USMF „Nicolae Testemițanu” din RM academician al ASM, prof. univ., dr. hab. șt. med. Stanislav GROPPA 2024	
ACTUL nr.54 DE IMPLEMENTARE A INOVAȚIEI (în procesul științifico-practic)		
1. <b>Denumirea ofertei pentru implementare:</b> „APLICAREA METODOLOGIEI DE ELABORARE ȘI VALIDARE A METODEI SPECTROFOTOMETRICE UV-VIS DE DOZARE PENTRU PRODUSE FARMACEUTICE COMBinate” 2. <b>Autori:</b> UNCULE Livia, dr. șt. farm., conf. univ.; VALICA Vladimir, dr. hab. șt. farm., prof. univ.; PARIH Sergiu, dr. hab. șt. med., conf. cercet.; MAZUR Ecaterina, doctorand, BENEANA Ana, dr. șt. farm., asist. univ.; GANGACOV Vladilena, cercetător șt.; DONICI Elena, dr. șt. farm., conf. univ. 3. <b>Numărul inovației:</b> Nr. 6213 din 12 martie 2024 4. <b>Unde și când a fost implementată:</b> Centrul Științific al Medicamentelor, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” în perioada anilor 2020 – 2024. 5. <b>Eficacitatea implementării:</b> Dezvoltarea unei metodologii eficiente pentru dozarea substanțelor active din medicamente combinate prin utilizarea metodelor spectrofotometrice UV-Vis reprezintă un pas important în îmbunătățirea proceselor analitice din cadrul laboratoarelor CȘM, din industria farmaceutică, contribuind la asigurarea calității și siguranței produselor farmaceutice. 6. <b>Rezultatele:</b> Implementarea acestei metode permite efectuarea dozării substanțelor active aflate în asociere în aceeași formă farmaceutică prin metoda spectrofotometrică UV-Vis.		
Prezența inovației este implementată conform descrierii în cerere.		
Departament Cercetare, Șef Departament, dr. hab. șt. med., conf. univ.  Elena RAEVSCHI  Director Centru Științific al Medicamentelor, dr. hab. șt. farm., prof. univ.  Vladimir VALICA		

	INSTITUȚIA PUBLICĂ UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE "NICOLAE TESTEMIȚANU" DIN REPUBLICA MOLDOVA Institutul Național de Cercetare în Medicină și Sănătate	Pag. 1 / 1
	APROB Prorector pentru activitate de cercetare, USMF „Nicolae Testemițanu” din RM academician al ASM, prof. univ., dr. hab. șt. med. Stanislav GROPPA 2024	
ACTUL nr.55 DE IMPLEMENTARE A INOVAȚIEI (în procesul științifico-practic)		
1. <b>Denumirea ofertei pentru implementare:</b> „APLICAREA METODOLOGIEI DE ELABORARE ȘI VALIDARE A METODEI CROMATOGRAFIEI DE LICHIDE DE ÎNALTĂ PRESIUNE (HPLC) DE DOZARE PENTRU PRODUSE FARMACEUTICE COMBinate” 2. <b>Autori:</b> UNCULE Livia, dr. șt. farm., conf. univ.; VALICA Vladimir, dr. hab. șt. farm., prof. univ.; PARIH Sergiu, dr. hab. șt. med., conf. cercet.; MAZUR Ecaterina, doctorand, GRIȚCAN Ana, asist. univ.; GANGACOV Vladilena, cercetător șt.; DONICI Elena, dr. șt. farm., conf. univ. 3. <b>Numărul inovației:</b> Nr. 6214 din 12 martie 2024 4. <b>Unde și când a fost implementată:</b> Centrul Științific al Medicamentelor, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” în perioada anilor 2020 – 2024. 5. <b>Eficacitatea implementării:</b> Dezvoltarea unei metodologii eficiente pentru dozarea substanțelor active din medicamente combinate prin utilizarea metodelor HPLC reprezintă un pas important în îmbunătățirea proceselor analitice din cadrul laboratoarelor CȘM, din industria farmaceutică, contribuind la asigurarea calității și siguranței produselor farmaceutice. Metodele HPLC sunt recunoscute și acceptate la nivel internațional în industria farmaceutică, ceea ce asigură conformitatea cu reglementările și standardele în vigoare, precum și cu cerințele documentelor analitice de normare a calității. 6. <b>Rezultatele:</b> Implementarea acestei metode permite efectuarea dozării substanțelor active aflate în asociere în aceeași formă farmaceutică prin metoda HPLC.		
Prezența inovației este implementată conform descrierii în cerere.		
Departament Cercetare, Șef Departament, dr. hab. șt. med., conf. univ.  Elena RAEVSCHI  Director Centru Științific al Medicamentelor, dr. hab. șt. farm., prof. univ.  Vladimir VALICA		

	INSTITUȚIA PUBLICĂ UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE "NICOLAE TESTEMIȚANU" DIN REPUBLICA MOLDOVA Institutul Național de Cercetare în Medicină și Sănătate	Pag. 1 / 1
	APROB Prorector pentru activitate de cercetare, USMF „Nicolae Testemițanu” din RM academician al ASM, prof. univ., dr. hab. șt. med. Stanislav GROPPA 2024	
ACTUL nr. 56 DE IMPLEMENTARE A INOVAȚIEI (în procesul științifico-practic)		
1. <b>Denumirea ofertei pentru implementare:</b> „APLICAREA METODOLOGIEI PERFECTATE DE STUDII DE STABILITATE PENTRU PRODUSE FARMACEUTICE COMBinate” 2. <b>Autori:</b> UNCULE Livia, dr. șt. farm., conf. univ.; VALICA Vladimir, dr. hab. șt. farm., prof. univ.; PARIH Sergiu, dr. hab. șt. med., conf. cercet.; MAZUR Ecaterina, doctorand, GRIȚCAN Ana, asist. univ.; GANGACOV Vladilena, cercetător șt.; DONICI Elena, dr. șt. farm., conf. univ. 3. <b>Numărul inovației:</b> Nr. 6215 din 12 martie 2024 4. <b>Unde și când a fost implementată:</b> Centrul Științific al Medicamentelor, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” în perioada anilor 2020 – 2023. 5. <b>Eficacitatea implementării:</b> Dezvoltarea unei metodologii eficiente pentru determinarea stabilității medicamentelor combinate reprezintă un pas important pentru îmbunătățirea proceselor analitice din cadrul laboratoarelor CȘM, din industria farmaceutică, contribuind la asigurarea calității și siguranței produselor farmaceutice în combinații cu doze fixe. 6. <b>Rezultatele:</b> Implementarea acestei metodologii permite eficientizarea petrecerii studiilor de stabilitate pentru medicamentele cu substanțe active în combinații cu doze fixe.		
Prezența inovației este implementată conform descrierii în cerere.		
Departament Cercetare, Șef Departament, dr. hab. șt. med., conf. univ.  Elena RAEVSCHI  Director Centru Științific al Medicamentelor, dr. hab. șt. farm., prof. univ.  Vladimir VALICA		

	INSTITUȚIA PUBLICĂ UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE "NICOLAE TESTEMIȚANU" DIN REPUBLICA MOLDOVA Institutul Național de Cercetare în Medicină și Sănătate	Pag. 1 / 1
	APROB Prorector pentru activitate de cercetare, USMF „Nicolae Testemițanu” din RM academician al ASM, prof. univ., dr. hab. șt. med. Stanislav GROPPA 2024	
ACTUL nr.57 DE IMPLEMENTARE A INOVAȚIEI (în procesul științifico-practic)		
1. <b>Denumirea ofertei pentru implementare:</b> „DETERMINAREA COMPATIBILITĂȚII NICERGOLINEI, PIRACETAMULUI ȘI EXTRACTULUI DE PĂDUCEL ÎN CAPSULE COMBinate” 2. <b>Autori:</b> UNCULE Livia, dr. șt. farm., conf. univ.; RUS Lucia Maria, dr. șt. farm., conf. univ.; TOMUȚĂ Ioan, dr. hab. șt. farm., prof. univ.; SEPELI Diana, dr. șt. chim., conf. cercet.; HEGHEȘ Simona Codruța, dr. șt. farm., conf. univ.; IUGA Cristina Adela, dr. hab. șt. farm., prof. univ.; KACSO Irina, dr. șt. chim., cercet. șt. 3; VALICA Vladimir, dr. hab. șt. farm., prof. univ.; PARIH Sergiu, dr. hab. șt. med., conf. cercet. 3. <b>Numărul inovației:</b> Nr. 6216 din 12 martie 2024 4. <b>Unde și când a fost implementată:</b> Centrul Științific al Medicamentelor Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, în perioada anilor 2020 – 2024. 5. <b>Eficacitatea implementării:</b> Utilizarea metodelor DSC, spectroscopiei FT-IR și difracția cu raze X în procesul de dezvoltare farmaceutică aduce beneficii semnificative prin furnizarea de informații detaliate despre caracteristicile fizico-chimice ale componentelor, facilitând astfel identificarea și gestionarea potențialelor incompatibilități pentru a asigura stabilitatea și eficacitatea produselor farmaceutice. 6. <b>Rezultatele:</b> Implementarea acestei metode a permis confirmarea lipsei interacțiunilor dintre substanțele active între ele și cu excipienții selectați pentru formularea capsulelor operculate combinate cu aplicare în terapia hipocauzei sensorineurale.		
Prezența inovației este implementată conform descrierii în cerere.		
Departament Cercetare, Șef Departament, dr. hab. șt. med., conf. univ.  Elena RAEVSCHI  Director Centru Științific al Medicamentelor, dr. hab. șt. farm., prof. univ.  Vladimir VALICA		

	INSTITUȚIA PUBLICĂ UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE "NICOLAE TESTEMIȚANU" DIN REPUBLICA MOLDOVA	Pag. 1 / 1
	Institutul Național de Cercetare în Medicină și Sănătate	
 <b>APROB</b> Prorector pentru activitate de cercetare, USMF „Nicolae Testemițanu” din RM academician al ASM, prof. univ., dr. hab. și med. Stanislav GROPPA 2024		
<b>ACTUL nr.58</b> <b>DE IMPLEMENTARE A INOVAȚIEI</b> (în procesul științifico-practic)		
<ol style="list-style-type: none"> <li>Denumirea ofertei pentru implementare: „DETERMINAREA COMPATIBILITĂȚII CLORHIDRATULUI DE CIPROFLOXACINĂ, NITRATULUI DE ECONAZOL ȘI ULEIULUI VOLATIL DE BUSUIOC ÎN PICĂȚURI AURICULARE COMBINATE”</li> <li>Autori: UNCULEA Livia, dr. șt. farm., conf. univ.; RUS Lucia Maria, dr. șt. farm., conf. univ.; TOMUȚĂ Ioan, dr. hab. șt. farm., prof. univ.; ȘEPÊLI Diana, dr. șt. chim., conf. cercet.; HEGHEȘ Simona Codruța, dr. șt. farm., conf. univ.; IUGA Cristina Adela, dr. hab. șt. farm., prof. univ.; VALICA Vladimir, dr. hab. șt. farm., prof. univ.; PARII Sergiu, dr. hab. șt. med., conf. cercet.</li> <li>Numărul inovației: Nr. 6217 din 12 martie 2024</li> <li>Unde și când a fost implementată: Centrul Științific al Medicamentelor, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, în perioada anilor 2020 – 2024.</li> <li>Eficacitatea implementării: Tehnicile analitice precum DSC, spectroscopia FT-IR furnizează informații detaliate despre proprietățile fizico-chimice ale componentelor, permițând identificarea potențialelor incompatibilități. Identificarea acestor incompatibilități devreme este critică pentru a preveni problemele ce pot apărea ulterior în ceea ce privește stabilitatea și eficacitatea produselor farmaceutice.</li> <li>Rezultatele: Implementarea acestei metode a permis obținerea unor informații importante pentru optimizarea formulării picăturilor auriculare. S-a determinat că nu există incompatibilități între substanțele active, și ale acestora cu excipienții. Selectarea acestor excipienți compatibili cu principiile active va permite menținerea caracteristicilor fizice și chimice ale medicamentului, cum ar fi de exemplu, solubilitatea și biodisponibilitatea.</li> </ol>		
Prezentarea inovației este implementată conform descrierii în cerere.		
Departament Cercetare, Șef Departament, dr. hab. șt. med., conf. univ.  Elena RAEVSCHI  Director Centru Științific al Medicamentelor, dr. hab. șt. farm., prof. univ.  Vladimir VALICA		

	INSTITUȚIA PUBLICĂ UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE "NICOLAE TESTEMIȚANU" DIN REPUBLICA MOLDOVA	Pag. 1 / 1
	Institutul Național de Cercetare în Medicină și Sănătate	
 <b>APROB</b> Prorector pentru activitate de cercetare, USMF „Nicolae Testemițanu” din RM academician al ASM, prof. univ., dr. hab. și med. Stanislav GROPPA 2024		
<b>ACTUL nr.58</b> <b>DE IMPLEMENTARE A INOVAȚIEI</b> (în procesul științifico-practic)		
<ol style="list-style-type: none"> <li>Denumirea ofertei pentru implementare: „DETERMINAREA COMPATIBILITĂȚII CLORHIDRATULUI DE CIPROFLOXACINĂ, NITRATULUI DE ECONAZOL ȘI ULEIULUI VOLATIL DE BUSUIOC ÎN PICĂȚURI AURICULARE COMBINATE”</li> <li>Autori: UNCULEA Livia, dr. șt. farm., conf. univ.; RUS Lucia Maria, dr. șt. farm., conf. univ.; TOMUȚĂ Ioan, dr. hab. șt. farm., prof. univ.; ȘEPÊLI Diana, dr. șt. chim., conf. cercet.; HEGHEȘ Simona Codruța, dr. șt. farm., conf. univ.; IUGA Cristina Adela, dr. hab. șt. farm., prof. univ.; VALICA Vladimir, dr. hab. șt. farm., prof. univ.; PARII Sergiu, dr. hab. șt. med., conf. cercet.</li> <li>Numărul inovației: Nr. 6217 din 12 martie 2024</li> <li>Unde și când a fost implementată: Centrul Științific al Medicamentelor, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, în perioada anilor 2020 – 2024.</li> <li>Eficacitatea implementării: Tehnicile analitice precum DSC, spectroscopia FT-IR furnizează informații detaliate despre proprietățile fizico-chimice ale componentelor, permițând identificarea potențialelor incompatibilități. Identificarea acestor incompatibilități devreme este critică pentru a preveni problemele ce pot apărea ulterior în ceea ce privește stabilitatea și eficacitatea produselor farmaceutice.</li> <li>Rezultatele: Implementarea acestei metode a permis obținerea unor informații importante pentru optimizarea formulării picăturilor auriculare. S-a determinat că nu există incompatibilități între substanțele active, și ale acestora cu excipienții. Selectarea acestor excipienți compatibili cu principiile active va permite menținerea caracteristicilor fizice și chimice ale medicamentului, cum ar fi de exemplu, solubilitatea și biodisponibilitatea.</li> </ol>		
Prezentarea inovației este implementată conform descrierii în cerere.		
Departament Cercetare, Șef Departament, dr. hab. șt. med., conf. univ.  Elena RAEVSCHI  Director Centru Științific al Medicamentelor, dr. hab. șt. farm., prof. univ.  Vladimir VALICA		

	INSTITUȚIA PUBLICĂ UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE "NICOLAE TESTEMIȚANU" DIN REPUBLICA MOLDOVA	Pag. 1 / 1
	Institutul Național de Cercetare în Medicină și Sănătate	
 <b>APROB</b> Prorector pentru activitate de cercetare, USMF „Nicolae Testemițanu” din RM academician al ASM, prof. univ., dr. hab. și med. Stanislav GROPPA 2024		
<b>ACTUL nr.60</b> <b>DE IMPLEMENTARE A INOVAȚIEI</b> (în procesul științifico-practic)		
<ol style="list-style-type: none"> <li>Denumirea ofertei pentru implementare: „PREPARAREA PICĂȚURILOR AURICULARE COMBINATE CU CONȚINUT DE IZOHIDRAFURAL ȘI METILURACIL”</li> <li>Autori: UNCULEA Livia, dr. șt. farm., conf. univ.; VALICA Vladimir, dr. hab. șt. farm., prof. univ.; PARII Sergiu, dr. hab. șt. med., conf. cercet.; CIOBANU Nicolae, dr. șt. farm., conf. univ.; MAZUR Ecaterina, doctorand, GRIȚCAN Ana, asist. univ.; ADAUJI Stela, dr. șt. farm., conf. univ.; DONICI Elena, dr. șt. farm., conf. univ.</li> <li>Numărul inovației: Nr. 6219 din 12 martie 2024</li> <li>Unde și când a fost implementată: Centrul Farmaceutic Universitar „Vasile Procopișin”, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, în perioada anilor 2020-2024.</li> <li>Eficacitatea implementării: Tratatamentul afecțiunilor auriculare infectate este unul complex și de durată din motiv că, există condiții prielnice dezvoltării agenților bacterieni, 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 reinfecțarea. Picăturile auriculare combinate cu conținut de izohidrafural și metiluracil vine să soluționeze acestea.</li> </ol>		
Rezultatele: Implementarea tehnologiei de preparare a picăturilor auriculare combinate cu conținut de izohidrafural și metiluracil va contribui la mărirea eficienței tratamentului afecțiunilor auriculare infectate.		
Prezentarea inovației este implementată conform descrierii în cerere.		
Departament Cercetare, Șef Departament, dr. hab. șt. med., conf. univ.  Elena RAEVSCHI  Șef Centru Farmaceutic Universitar „Vasile Procopișin”,  Daniela DONEA		

 <b>APROB</b> Rector al USMF „Nicolae Testemițanu” Emil Ceban, profesor universitar, dr. hab. șt. med.	
<b>ACT DE IMPLEMENTARE</b>	
În procesul științifico-didactic, a rezultatelor cercetărilor științifice ale conferențiarului cercetător <b>Parii Sergiu</b> , cercetător științific coordonator, Centrul Științific al Medicamentului, USMF „Nicolae Testemițanu”:	
<ol style="list-style-type: none"> <li>Denumirea ofertei pentru implementare: Elaborarea picăturilor auriculare cu conținut de ciprofloxacină clorhidrat și ulei volatil de busuioc.</li> <li>Autori ofertei: Unculea Livia, dr. șt. farm., conferențiar universitar; Parii Sergiu, dr. șt. med., conferențiar cercetător.</li> <li>Surse de informații:           <ul style="list-style-type: none"> <li>S. Parii, L. Uncu, V. Valica, E. Nicolai, M. Maniuc. Elaborarea și evaluarea toxicității acute a unui nou produs medicamentos pentru tratamentul otitelor. În: „Revista Medico-Chirurgicală a Societății de medici și naturaliști din Iași”, România, 2016, vol. 120, nr.2/supl. 1, p. 61-69.</li> <li>L. Uncu, T. Gonciar, E. Nicolai, O. Vislough, S. Parii. Evaluarea calitativă a principiilor activi în ulei volatil din diferite specii de busuioc. În: <i>Materialale Conferinței științifice cu participare internațională „Farmacia etică: istorie, realități și perspective”</i> dedicată memoriei acad. Vasile Procopișin și a conf. Nadejda Ciobanu. Chișinău, 2018, p.172-173.</li> <li>L. Uncu, E. Donici, V. Valica, O. Vislough, V. Gonciar, S. Parii. Development and validation of an assay method for ciprofloxacin hydrochloride determination in combination ear drops. În: <i>Chemistry Journal of Moldova</i>. Chișinău, 2019, nr. 2(14). ISSN:1857-1727. doi: 10.19261/cjm.2019.607 (IF: 0,52)</li> </ul> </li> <li>Locul și timpul implementării: Catedra de chimie farmaceutică și toxicologică a USMF „Nicolae Testemițanu” în anul 2020.</li> <li>Rezultatele implementării: Comisia, în componența șefului Catedrei de chimie farmaceutică și toxicologică din cadrul USMF „Nicolae Testemițanu”, dr. hab. șt. farm., profesor universitar, Valica Vladimir și conferențiarul universitar, Treapina Tatiana, confirmă, că datele științifice experimentale obținute în procesul de elaborare, analiză și standardizare a picăturilor auriculare cu conținut de clorhidrat de ciprofloxacină și ulei volatil de busuioc sunt valoroase, originale, fiind binevenite și raționale pentru a fi incluse în curriculumul disciplinelor de la catedră pentru instruirea didactică a studenților Facultății de Farmacie și a rezidenților la specialitatea „Farmacie analitică”. Totodată aceste rezultate pot servi ca premise pentru noi cercetări farmaceutice și clinice, cu includerea produsului medicamentos combinat elaborat sub formă de picături auriculare în farmacoterapia maladiilor inflamatorii ale urechii.</li> <li>Obiecții și propuneri: nu sunt.</li> </ol>	
Șef catedră, Catedra de chimie farmaceutică și toxicologică dr. hab. șt. farm., profesor universitar  Valica Vladimir	
Șef de studii, Catedra de chimie farmaceutică și toxicologică dr. șt. farm., conferențiar universitar  Treapina Tatiana	





MD-2004, Chișinău, bd. Ștefan cel Mare și Sânt, 165, tel.: (+373) 22 205 701, fax: (+373) 22 242 344, contact@usmf.md, https://usmf.md

30.05.2023 nr. 03-1917

la nr. \_\_\_\_\_ din \_\_\_\_\_



APROB  
Prim-prorector, prorector pentru activitate  
didactică, dr. hab. șt. med., profesor universitar  
**Olga Cernețchi**

**ACT DE IMPLEMENTARE**  
în procesul didactic la Catedra de farmacie socială „Vasile Procopișin”  
a rezultatelor cercetărilor științifice

Prin prezentul act confirmăm, de comun acord cu autorii (Uncu Livia, conf. univ.; Aduaji Stela, conf. univ.), implementarea rezultatelor obținute de către dna **Livia Uncu**, dr. șt. farm., conf. univ., în procesul didactic la Catedra de farmacie socială „Vasile Procopișin” a Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”.

În baza rezultatelor obținute în procesul de realizarea a tezei de doctor habilitat în științe farmaceutice cu tema „**Elaborarea produselor farmaceutice combinate utilizate în terapia afecțiunilor urechii**” de către **Livia Uncu**, consultanți științifici DI Valica Vladimir, dr. hab. șt. farm., profesor universitar și DI Prisăcari Viorel, dr. hab. șt. med., profesor universitar, m.c. AȘM, a fost actualizată și aprobată (Proces-verbal al Consiliului de Management al Calității nr. 02 din 17.12.2020) Programa de instruire prin Rezidențiat la specialitatea „*Farmacie comunitară și de spital*”, care a implementată în a.u. 2020-2021, compartimentele „*Marketing farmaceutic – Piața farmaceutică: caracteristici și dezvoltare*”, „*Studiul pieței preparatelor auriculare combinate*” (anul I) și „*Marketingul serviciilor farmaceutice – consilierea pacientului cu afecțiuni auriculare*” (anul II).

Actul se eliberează pentru a fi prezentat la solicitare

Șefa Departamentului Didactic și Management  
Academic, dr. șt. med., conf. univ.

Silvia Stratulat

Șefa Catedrei de Farmacie socială „Vasile Procopișin”,  
dr. șt. farm., conf. univ.

Stela Aduaji



MD-2004, Chișinău, bd. Ștefan cel Mare și Sânt, 165, tel.: (+373) 22 205 701, fax: (+373) 22 242 344, contact@usmf.md, https://usmf.md

21.04.2024 nr. 03-237

la nr. \_\_\_\_\_ din \_\_\_\_\_



APROB  
Prim-prorector, prorector pentru activitate  
didactică, dr. hab. șt. med., profesor universitar  
**Olga Cernețchi**

**ACT DE IMPLEMENTARE**  
în procesul didactic la Catedra de farmacognozie și botanică farmaceutică  
a rezultatelor cercetărilor științifice

Prin prezentul act confirmăm, de comun acord cu autorii (Benea Anna, Chiru Tatiana, Calalb Tatiana, prof. univ.), implementarea rezultatelor obținute de către dna **Livia Uncu**, dr. șt. farm., conf. univ., în procesul didactic la Catedra de farmacognozie și botanică farmaceutică a Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”.

În baza rezultatelor obținute în procesul de realizarea a tezei de doctor habilitat în științe farmaceutice cu tema „**Elaborarea produselor farmaceutice combinate utilizate în terapia afecțiunilor urechii**” de către **Livia Uncu**, consultanți științifici DI Valica Vladimir, dr. hab. șt. farm., profesor universitar și DI Prisăcari Viorel, dr. hab. șt. med., profesor universitar, m.c. AȘM, a fost actualizată și aprobată (Proces-verbal al ședinței catedrei nr. 27 din 30.06.2021) curriculum-ul disciplinei „*Farmacognozie*” la programul de studii 0916.1 Farmacie, care a fost implementată în a.u. 2021-2022, compartimentul „*Produse vegetale cu conținut de flavonoide: Păducei*”.

Actul se eliberează pentru a fi prezentat la solicitare

Șefa Departamentului Didactic și Management  
Academic, dr. șt. med., conf. univ.

Silvia Stratulat

Șefa Catedrei de farmacognozie și botanică  
farmaceutică, dr. hab. șt. biol., prof. univ.

Tatiana Calalb



MD-2004, Chișinău, bd. Ștefan cel Mare și Sânt, 165, tel.: (+373) 22 205 701, fax: (+373) 22 242 344, contact@usmf.md, https://usmf.md

14.12.2023 nr. 03-5214

la nr. \_\_\_\_\_ din \_\_\_\_\_



APROB  
Prim-prorector, prorector pentru activitate  
didactică, dr. hab. șt. med., profesor universitar  
**Olga Cernețchi**

**ACT DE IMPLEMENTARE**  
în procesul didactic la Catedra de chimie farmaceutică și toxicologică  
a rezultatelor cercetărilor științifice

Prin prezentul act confirmăm, de comun acord cu autorii (Uncu Livia, conf. univ.; Valica Vladimir, prof. univ.), implementarea rezultatelor obținute de către dna **Livia Uncu**, dr. șt. farm., conf. univ., în procesul didactic la Catedra de chimie farmaceutică și toxicologică a Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”.

În baza rezultatelor obținute în procesul de realizarea a tezei de doctor habilitat în științe farmaceutice cu tema „**Elaborarea produselor farmaceutice combinate utilizate în terapia afecțiunilor urechii**” de către **Livia Uncu**, consultanți științifici DI Valica Vladimir, dr. hab. șt. farm., profesor universitar și DI Prisăcari Viorel, dr. hab. șt. med., profesor universitar, m.c. AȘM, a fost actualizată și aprobată (Proces-verbal al ședinței catedrei nr. 2 din 17.09.2021) curriculum-ul disciplinei „*Controlul medicamentelor*” la programul de studii 0916.1 Farmacie, care a fost implementată în a.u. 2021-2022, compartimentul „*Metode instrumentale în controlul medicamentelor. Metoda gaz-cromatografică de dozare a uleiului volatil de busuioc*”.

Actul se eliberează pentru a fi prezentat la solicitare.

Șefa Departamentului Didactic și Management  
Academic, dr. șt. med., conf. univ.

Silvia Stratulat

Șef Catedră de chimie farmaceutică și toxicologică,  
dr. hab. șt. farm., prof. univ.

Vladimir Valica



MD-2004, Chișinău, bd. Ștefan cel Mare și Sânt, 165, tel.: (+373) 22 205 701, fax: (+373) 22 242 344, contact@usmf.md, https://usmf.md

22.11.2023 nr. 03-4884

la nr. \_\_\_\_\_ din \_\_\_\_\_



APROB  
Prim-prorector, prorector pentru activitate  
didactică, dr. hab. șt. med., profesor universitar  
**Olga Cernețchi**

**ACT DE IMPLEMENTARE**  
în procesul didactic la Catedra de chimie farmaceutică și toxicologică  
a rezultatelor cercetărilor științifice

Prin prezentul act confirmăm, de comun acord cu autoarea (Uncu Livia, conf. univ.; Donici Elena, Mazur Ecaterina), implementarea rezultatelor obținute de către dna **Livia Uncu**, dr. șt. farm., conf. univ., în procesul didactic la Catedra de chimie farmaceutică și toxicologică a Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”.

În baza rezultatelor obținute în procesul de realizarea a tezei de doctor habilitat în științe farmaceutice cu tema „**Elaborarea produselor farmaceutice combinate utilizate în terapia afecțiunilor urechii**” de către **Livia Uncu**, consultanți științifici DI Valica Vladimir, dr. hab. șt. farm., profesor universitar și DI Prisăcari Viorel, dr. hab. șt. med., profesor universitar, m.c. AȘM, a fost actualizată și aprobată (Proces-verbal al ședinței catedrei nr. 2 din 17.09.2021) curriculum-ul disciplinei „*Suplimente alimentare și elemente de nutriție*” la programul de studii 0916.1 Farmacie, care a fost implementată în a.u. 2021-2022, compartimentul „*Nutriția în stări patologice. Analiza picăturilor auriculare combinate cu conținut de clorhidrat de ciprofloxacina, nitrat de econazol, ulei volatil de busuioc*”.

Actul se eliberează pentru a fi prezentat la solicitare.

Șefa Departamentului Didactic și Management  
Academic, dr. șt. med., conf. univ.

Silvia Stratulat

Șef Catedră de chimie farmaceutică și toxicologică,  
dr. hab. șt. farm., prof. univ.

Vladimir Valica



01.09.2023 nr. 03-3225

la nr. \_\_\_\_\_ din \_\_\_\_\_

APROB  
Prim-prorector, prorector pentru activitate  
didactică, dr. hab. șt. med., profesor universitar  
  
Olga Cernetechi

**ACT DE IMPLEMENTARE**  
în procesul didactic la Catedra de chimie farmaceutică și toxicologică  
a rezultatelor cercetărilor științifice

Prin prezentul act confirmăm, de comun acord cu autoarea (Uncu Livia, conf. univ.; Valica Vladimir, prof. univ.), implementarea rezultatelor obținute de către dna **Livia Uncu**, dr. șt. farm., conf. univ., în procesul didactic la Catedra de chimie farmaceutică și toxicologică a Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”.

În baza rezultatelor obținute în procesul de realizarea a tezei de doctor habilitat în științe farmaceutice cu tema „**Elaborarea produselor farmaceutice combinate utilizate în terapia afecțiunilor urechii**” de către **Livia Uncu**, consultanți științifici DI Valica Vladimir, dr. hab. șt. farm., profesor universitar și DI Prisăcari Viorel, dr. hab. șt. med., profesor universitar, m.c. AȘM, a fost actualizată și aprobată (Proces-verbal nr. al ședinței catedrei 2 din 17.09.2021) curriculum-ul disciplinei „Analize instrumentale moderne” la programul de studii 0916.1 Farmacie, care a fost implementată în a.u. 2021-2022, compartimentul „Cromatografia de lichide de înaltă performanță (HPLC). Metoda HPLC de dozare a picăturilor auriculare combinate cu conținut de izohidrafural și metiluracil”.

Actul se eliberează pentru a fi prezentat la solicitare.

Șefa Departamentului Didactic și Management  
Academic, dr. șt. med., conf. univ.

Silvia Stratulat

Șef Catedră de chimie farmaceutică și toxicologică,  
dr. hab. șt. farm., prof. univ.

Vladimir Valica



01.09.2023 nr. 03-3224

la nr. \_\_\_\_\_ din \_\_\_\_\_

APROB  
Prim-prorector, prorector pentru activitate  
didactică, dr. hab. șt. med., profesor universitar  
  
Olga Cernetechi

**ACT DE IMPLEMENTARE**  
în procesul didactic la Catedra de chimie farmaceutică și toxicologică  
a rezultatelor cercetărilor științifice

Prin prezentul act confirmăm, implementarea rezultatelor obținute de către dna **Livia Uncu**, dr. șt. farm., conf. univ., în procesul didactic la Catedra de chimie farmaceutică și toxicologică a Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”.

În baza rezultatelor obținute în procesul de realizarea a tezei de doctor habilitat în științe farmaceutice cu tema „**Elaborarea produselor farmaceutice combinate utilizate în terapia afecțiunilor urechii**” de către **Livia Uncu**, consultanți științifici DI Valica Vladimir, dr. hab. șt. farm., profesor universitar și DI Prisăcari Viorel, dr. hab. șt. med., profesor universitar, m.c. AȘM, a fost actualizată și aprobată (Proces-verbal al ședinței catedrei nr. 2 din 17.09.2021) curriculum-ul disciplinei „*Elaborarea medicamentelor și cercetarea farmaceutică*” la programul de studii 0916.1 Farmacie, care a fost implementată în a.u. 2021-2022, compartimentul „Validarea în cercetarea farmaceutică. Validarea metodelor spectrofotometrice și HPLC de dozare a medicamentelor combinate”.

Actul se eliberează pentru a fi prezentat la solicitare.

Șefa Departamentului Didactic și Management  
Academic, dr. șt. med., conf. univ.

Silvia Stratulat

Șef Catedră de chimie farmaceutică și toxicologică,  
dr. hab. șt. farm., prof. univ.

Vladimir Valica



01.09.2023 nr. 03-3223

la nr. \_\_\_\_\_ din \_\_\_\_\_

APROB  
Prim-prorector, prorector pentru activitate  
didactică, dr. hab. șt. med., profesor universitar  
  
Olga Cernetechi

**ACT DE IMPLEMENTARE**  
în procesul didactic la Catedra de chimie farmaceutică și toxicologică  
a rezultatelor cercetărilor științifice

Prin prezentul act confirmăm, implementarea rezultatelor obținute de către dna **Livia Uncu**, dr. șt. farm., conf. univ., în procesul didactic la Catedra de chimie farmaceutică și toxicologică a Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”.

În baza rezultatelor obținute în procesul de realizarea a tezei de doctor habilitat în științe farmaceutice cu tema „**Elaborarea produselor farmaceutice combinate utilizate în terapia afecțiunilor urechii**” de către **Livia Uncu**, consultanți științifici DI Valica Vladimir, dr. hab. șt. farm., profesor universitar și DI Prisăcari Viorel, dr. hab. șt. med., profesor universitar, m.c. AȘ RM, a fost actualizată și aprobată (Proces verbal al ședinței catedrei nr. 2 din 17.09.2021) curriculum-ul disciplinei de Chimie farmaceutică la programul de studii 0916.1 Farmacie, care a fost implementată în a.u. 2021-2022, compartimentul „*Medicamente antibacteriene. Proprietățile fizico-chimice ale substanțelor medicamentoase: clorhidrat de ciprofloxacină, nitrat de econazol, ulei volatil de busuioc, nicergolină, piracetam, extract de păducel, izohidrafural, metiluracil individuale și în amestec mecanic*”.

Actul se eliberează pentru a fi prezentat la solicitare.

Șefa Departamentului Didactic și Management  
Academic, dr. șt. med., conf. univ.

Silvia Stratulat

Șef Catedră de chimie farmaceutică și toxicologică,  
dr. hab. șt. farm., prof. univ.

Vladimir Valica



04.09.2023 nr. 03-3246

la nr. \_\_\_\_\_ din \_\_\_\_\_

APROB  
Prim-prorector, prorector pentru activitate  
didactică, dr. hab. șt. med., profesor universitar  
  
Olga Cernetchi

**ACT DE IMPLEMENTARE**  
în procesul didactic la Catedra de tehnologie a medicamentelor  
a rezultatelor cercetărilor științifice

Prin prezentul act confirmăm, de comun acord cu autoarii (Uncu Livia, conf. univ.; Ciobanu Cristina, conf. univ.; Diug Eugen, prof. univ.; Ciobanu Nicolae, conf. univ.), implementarea rezultatelor obținute de către dna **Livia Uncu**, dr. șt. farm., conf. univ., în procesul didactic la Catedra de de tehnologie a medicamentelor a Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”.

În baza rezultatelor obținute în procesul de realizarea a tezei de doctor habilitat în științe farmaceutice cu tema „**Elaborarea produselor farmaceutice combinate utilizate în terapia afecțiunilor urechii**” de către **Livia Uncu**, consultanți științifici DI Valica Vladimir, dr. hab. șt. farm., profesor universitar și DI Prisăcari Viorel, dr. hab. șt. med., profesor universitar, m.c. AȘM, a fost actualizată și aprobată (Proces-verbal al ședinței catedrei nr.1 din 25.08.2021) curriculum-ul disciplinei „**Biofarmacie și nanotehnologii farmaceutice**” la programul de studii 0916.1 Farmacie, care a fost implementată în a.u. 2021-2022, compartimentul „**Biodisponibilitatea formelor farmaceutice. Cedarea și difuzia principiilor active din picături auriculare combinate**”.

Actul se eliberează pentru a fi prezentat la solicitare.

Șefa Departamentului Didactic și Management  
Academic, dr. șt. med., conf. univ.

  
Silvia Stratulat

Șef Catedră de tehnologie a medicamentelor,  
dr. șt. farm., conf. univ.

  
Nicolae Ciobanu



28.06.2023 nr. 03-2372

la nr. \_\_\_\_\_ din \_\_\_\_\_

APROB  
Prim-prorector, prorector pentru activitate  
didactică, dr. hab. șt. med., profesor universitar  
  
Olga Cernetchi

**ACT DE IMPLEMENTARE**  
în procesul didactic la Catedra de tehnologie a medicamentelor  
a rezultatelor cercetărilor științifice

Prin prezentul act confirmăm, de comun acord cu autorii (Uncu Livia, conf. univ.; Guranda Diana, conf. univ.; Ciobanu Nicolae, conf. univ.), implementarea rezultatelor obținute de către dna **Livia Uncu**, dr. șt. farm., conf. univ., în procesul didactic la Catedra de de tehnologie a medicamentelor a Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”.

În baza rezultatelor obținute în procesul de realizarea a tezei de doctor habilitat în științe farmaceutice cu tema „**Elaborarea produselor farmaceutice combinate utilizate în terapia afecțiunilor urechii**” de către **Livia Uncu**, consultanți științifici DI Valica Vladimir, dr. hab. șt. farm., profesor universitar și DI Prisăcari Viorel, dr. hab. șt. med., profesor universitar, m.c. AȘM, a fost actualizată și aprobată (Proces-verbal al ședinței catedrei nr.1 din 25.08.2021) curriculum-ul disciplinei „**Tehnologie farmaceutică magistrală**” la programul de studii 0916.1 Farmacie, care a fost implementată în a.u. 2021-2022, compartimentul „**Emulsii farmaceutice. Tehnologia de preparare a picăturilor auriculare combinate cu conținut de clorhidrat de ciprofloxacină, nitrati de econazol, ulei volatil de busuioc**”.

Actul se eliberează pentru a fi prezentat la solicitare.

Șefa Departamentului Didactic și Management  
Academic, dr. șt. med., conf. univ.

  
Silvia Stratulat

Șef Catedră de tehnologie a medicamentelor,  
dr. șt. farm., conf. univ.

  
Nicolae Ciobanu

# Anexa 18. Acte de implementare de la întreprinderi de producere a medicamentelor

  
Republica Moldova, r. Ialoveni, s. Societii, gas. Chisinau - Hincesti nr.10, MD-6826  
of 1003600050791, Certificat GMP: Nr. 044/2019/RO / Nr. AMDM.MD.GMP.H.002.2021  
tel/fax: (+268) 76 063, www.eurofarmaco.md

**APROB**  
Director General  
I.C.S. EUROFARMACO S.A.  
Irina CĂRARE  
15 ianuarie 2024

## ACTUL NR. 1 DE IMPLEMENTARE A INOVAȚIEI

- Denumirea propunerii pentru implementare:** Medicament combinat nou: „Otoneurex” capsule combinate pentru tratamentul hipoacuziei neurosenzoriale.
  - Autorii:** Unca Livia, dr. șt. farm., conf. univ., Valica Vladimir, dr. hab. șt. farm., prof. univ., Sergiu Parii, dr. hab. șt. med., conf. cercet., Donici Elena, dr. șt. farm., conf. univ., Mazur Ecaterina, asist. univ., Grișcan Ana, cercetător științific.
  - Unde și când a fost implementat:** Departamentul de Cercetare-Dezvoltare a Î.C.S. Eurofarmaco S.A., a. 2023.
  - Eficacitatea implementării:** Infecțiile auriculare, expunerea frecventă la zgomot puternic, complicațiile unor maladii cronice, deseori provoacă complicații de hipoacuzie, care, nefiind tratată corespunzător, duce la surditate. Datele statistice denotă, că circa 466 de milioane de oameni din întreaga lume suferă de o disfuncție auditivă, dintre care 34 de milioane sunt copii. Tratamentul hipoacuziei neurosenzoriale necesită o conduită specifică, în special combinată, care ar duce la sporirea hemodinamicii în regiunea urechii interne, ameliorarea metabolismului, proprietăților reologice ale sângelui și stimularea analizatorului auditiv. Schemele de tratament pentru hipoacuzia neurosenzorială recomandă utilizarea concomitentă a mai multor clase de medicamente, precum vasodilatatoare cerebrale, antiinflamatoare, remedii nootrope și antioxidanți. Este justificată utilizarea nicergolinei în calitate de vasodilatator cerebral, care îmbunătățește circulația creierului prin creșterea volumului sanguin și stimularea metabolismului. Piracetamul, în calitate de neurotonic, ameliorază procesele metabolice neuronale în leziunile cerebrale hipoxice, toxice, traumatiche sau involutive. Speciile de păducel sunt surse bogate de compuși chimici bioactivi naturali, cu proprietăți terapeutice valoroase, astfel, includerea în combinație a extractului uscat de păducel asigură efectul antioxidant pentru produs. Capsulele combinate „Otoneurex” cu conținut de nicergolină, piracetam și extract uscat de păducel, sunt menite să soluționeze necesitățile strategiilor de tratament a hipoacuziei, prin acțiunea polivalentă a componentelor sale. Inofensivitatea, eficiența și calitatea produsului farmaceutic este dovedită prin rezultatele obținute în cadrul experimentelor, care au fost expuse la diverse conferințe științifico-practice în perioada anilor 2012-2023.
  - Obiecții/propuneri:** la etapa implementării obiecții nu sunt.
- Prezenta inovație este implementată conform descrierii în cerere.*

Director Departament  
Cercetare-Dezvoltare,  
Î.C.S. Eurofarmaco S.A.



Bondarencu Ecaterina



Societatea Comercială "Flumed-Farm" SRL  
str. Cetatea Albă 176, Chișinău MD-2002, Republica Moldova  
tel./fax: (+373) 22 52-14-52, www.flumedfarm.md  
e-mail: flumed-farm@hushmail.com

Antetul instituției/companiei



"APROB"

SC FLUMED-FARM SRL  
Stefirța R.

„15” IANUARIE 2024

## ACTUL NR. 01 DE IMPLEMENTARE A INOVAȚIEI

- Denumirea propunerii pentru implementare:** Medicament combinat nou: „Izofural M”, picături auriculare pentru tratamentul otitelor.
  - Autorii:** Unca Livia, dr. șt. farm., conf. univ., Prisacari Viorel, dr. hab. șt. med., prof. univ., Valica Vladimir, dr. hab. șt. farm., prof. univ., Sergiu Parii, dr. hab. șt. med., conf. cercet., Donici Elena, dr. șt. farm., conf. univ., Mazur Ecaterina, asist. univ.
  - Unde și când a fost implementat:** Departamentul de cercetare/dezvoltare a Flumed-Farm S.R.L., a. 2023.
  - Eficacitatea implementării:** Tratamentul otitelor externe, în special a celor supurative, necesită o abordare complexă, deoarece este necesar administrarea substanțelor antibacteriene, deseori pe o durată lungă. Eficacitatea administrării sistemice a antibioticelor este joasă, cu risc sporit de instalare a rezistenței. Este preferată administrarea topică a remedilor antibacteriene. Totodată, pentru eficientizarea procesului de cicatrizare în urma supurației, pentru formarea țesutului granulos și epitelial, este necesar utilizarea substanțelor regenerante, dar și a antibacterienelor, care ar reduce reinfecțarea. Picăturile auriculare combinate „Izofural M” vin să soluționeze necesitățile strategiilor de tratament a otitelor externe supurate, prin combinarea izohidrafuralului și metiluracilului într-o formă farmaceutică topică. Elaborarea picăturilor auriculare combinate „Izofural M” contribuie la mărirea complianței tratamentului otitelor. Inofensivitatea, eficiența și calitatea produsului farmaceutic este dovedită prin rezultatele obținute în cadrul experimentelor, care au fost expuse la diverse conferințe științifico-practice în perioada anilor 2012-2023.
  - Obiecții/propuneri:** la etapa implementării obiecții nu sunt.
- Prezenta inovație este implementată conform descrierii în cerere.*

Director calitate/PC

Simion C.



Societatea Comercială "Flumed-Farm" SRL  
str. Cetatea Albă 176, Chișinău MD-2002, Republica Moldova  
tel./fax: (+373) 22 52-14-52, www.flumedfarm.md  
e-mail: flumed-farm@hushmail.com

Antetul instituției/companiei



"APROB"

SC FLUMED-FARM SRL  
Stefirța R.

„15” IANUARIE 2024

## ACTUL NR. 02 DE IMPLEMENTARE A INOVAȚIEI

- Denumirea propunerii pentru implementare:** Medicament combinat nou: „Otocibex”, picături auriculare pentru tratamentul otomicozelor.
  - Autorii:** Unca Livia, dr. șt. farm., conf. univ., Valica Vladimir, dr. hab. șt. farm., prof. univ., Sergiu Parii, dr. hab. șt. med., conf. cercet., Prisacari Viorel, dr. hab. șt. med., prof. univ., Donici Elena, dr. șt. farm., conf. univ., Mazur Ecaterina, asist. univ.
  - Unde și când a fost implementat:** Departamentul cercetare/dezvoltare a Flumed-Farm S.R.L., a. 2023.
  - Eficacitatea implementării:** Otomicoza este o infecție răspândită a canalului auditiv extern, care poate deveni recurentă datorită mediului ideal pentru creșterea fungică. Având în vedere polietiologia bolii (posibilitatea prezentei florei bacteriene și fungice), tratamentul trebuie să includă substanțe medicamentoase cu acțiune antibacteriană și antimicotică, ce se realizează prin utilizarea picăturilor auriculare combinate. În tratamentul infecției bacteriene asociate sunt preferate fluorchinolonele, care au un spectru extins de acțiune și sunt lipsite de ototoxicitate. Pentru a evita problemele care pot apărea la aplicarea separată a medicației antifungice și antibacteriană (erori de dozare, durate de aplicare, etc.) sunt preferate combinațiile topice de medicamente – picături auriculare. Combinația econazolului cu ciprofloxacina sub formă de picături auriculare poate fi eficientă în tratamentul otitei externe mixte și ca opțiune pentru tratamentul otomicozei datorită acțiunii antifungice cu spectru larg. Fiind considerat unul dintre cei mai activi agenți antifungici împotriva ciupercilor Aspergillus (principalii agenți patogeni ai otomicozei), econazolul este preferențial celorlalte antifungice, față de care acest gen a dezvoltat rezistență. În adăugarea în formulă a unui principiu activ de origine naturală – uleiul volatil de busuioc – aduce plus valoare combinației, prin potențarea acțiunilor antibacteriană și antifungică. Picăturile auriculare combinate „Otocibex” vin să soluționeze necesitățile strategiilor de tratament a otomicozelor, prin mărirea complianței tratamentului acestei maladii. Inofensivitatea, eficiența și calitatea produsului farmaceutic este dovedită prin rezultatele obținute în cadrul experimentelor, care au fost expuse la diverse conferințe științifico-practice în perioada anilor 2012-2023.
  - Obiecții/propuneri:** la etapa implementării obiecții nu sunt.
- Prezenta inovație este implementată conform descrierii în cerere.*

Director calitate/PC

Simion C.



## SC Balkan Pharmaceuticals SRL

str. Industrială 7/A  
MD-2091, or. Singera  
REPUBLICA MOLDOVA  
tel.: +373 22 536160, e-mail: office@balkanpharmaceuticals.com  
www.balkanpharmaceuticals.com

Nr. 19/2 din 19 februarie 2024

Director general  
SC Balkan Pharmaceuticals SRL

"APROB"

### ACTUL NR. 1 DE IMPLEMENTARE A ÎNOVAȚIEI

- Denumirea propunerii pentru implementare:** Medicament combinat nou: „Otoneurex”, capsule combinate pentru tratamentul hipocuziei neurosenzoriale.
- Autorii:** Uncu Livia, dr. șt. farm., conf. univ., Valica Vladimir, dr. hab. șt. farm., prof. univ., Sergiu Parii, dr. hab. șt. med., conf. cercet., Donici Elena, dr. șt. farm., conf. univ., Mazur Ecaterina, asist. univ., Grițcan Ana, cercetător științific.
- Unde și când a fost implementat:** Departamentul de cercetare/dezvoltare a SC Balkan Pharmaceuticals SRL, a. 2023.
- Eficacitatea implementării:** Tratamentul hipocuziei neurosenzoriale necesită o conduită specifică, în special combinată, care ar conduce la sporirea hemodinamicii în regiunea urechii interne, ameliorarea metabolismului, proprietăților reologice ale sângelui și stimularea analizatorului auditiv. Antioxidanții, neuroticele (ex. piracetam) și imunomodulatorii joacă un rol important în protejarea funcției neuroase cohlerare și auditive. Este justificată includerea în schemele de tratament pentru hipocuzia neurosenzorială a nigercolinei, care manifestă efecte de îmbunătățire a circulației cerebrale prin creșterea volumului sanguin și stimularea metabolismului la nivelul creierului. Speciile de păducel sunt surse bogate de compuși chimici bioactivi naturali, cu proprietăți terapeutice valoroase, precum antioxidante, antimicrobiene, antiinflamatoare și imunomodulatoare. Includerea în combinație a extractului uscat de păducel asigură efectul antioxidant pentru produs. Capsulele combinate „Otoneurex” sunt menite să soluționeze necesitățile strategiilor de tratament a hipocuziei, prin acțiunea polivalentă a componentelor sale. Inofensivitatea, eficiența și calitatea produsului farmaceutic este dovedită prin rezultatele obținute în cadrul experimentelor, care au fost expuse la diverse conferințe științifico-practice în perioada anilor 2012-2023.
- Obiectivul propunerii:** la etapa implementării obiectivului nu sunt. Prezentă inovație este implementată conform descrierii în cerere.

Șef Departament cercetare-dezvoltare  
SC Balkan Pharmaceuticals SRL

Larisa SOLOVIOV

Ex.: [Executor]



## SC Balkan Pharmaceuticals SRL

str. Industrială 7/A  
MD-2091, or. Singera  
REPUBLICA MOLDOVA  
tel.: +373 22 536160, e-mail: office@balkanpharmaceuticals.com  
www.balkanpharmaceuticals.com

Nr. 19/1 din 19 februarie 2024

Director general  
SC Balkan Pharmaceuticals SRL

"APROB"

### ACTUL NR. 2 DE IMPLEMENTARE A ÎNOVAȚIEI

- Denumirea propunerii pentru implementare:** Medicament combinat nou: „Izofural M”, picături auriculare pentru tratamentul otitelor.
- Autorii:** Uncu Livia, dr. șt. farm., conf. univ., Prisacari Viorel, dr. hab. șt. med., prof. univ., Valica Vladimir, dr. hab. șt. farm., prof. univ., Sergiu Parii, dr. hab. șt. med., conf. cercet., Donici Elena, dr. șt. farm., conf. univ., Mazur Ecaterina, asist. univ.
- Unde și când a fost implementat:** Departamentul de cercetare/dezvoltare a SC Balkan Pharmaceuticals SRL, a. 2023.
- Eficacitatea implementării:** Răspândirea largă a infecțiilor auriculare, cauzate de germeni bacterieni cu rezistență la antibioticele uzuale impune necesitatea elaborării de noi remedii antibacteriene, inofensive și cu potențial sporit. Tratamentul otitelor externe, în special a celor supurative, necesită o abordare complexă, deoarece este necesar administrarea substanțelor antibacteriene, deseori pe o durată lungă. Picăturile auriculare sunt preferate pentru administrarea topică a remediilor antibacteriene în tratamentul infecțiilor auriculare. Totodată, pentru eficientizarea procesului de cicatrizare în urma supurației, pentru formarea țesutului granulos și epitelial, este necesar utilizarea substanțelor regenerante, dar și a antibacterienelor, care ar reduce reinfecțarea. Picăturile auriculare combinate „Izofural M” vin să soluționeze necesitățile strategiilor de tratament a otitelor externe supurate, prin combinarea izohidrafuralului și metiluracilului într-o formă farmaceutică topică. Elaborarea picăturilor auriculare combinate „Izofural M” contribuie la mărirea complianței tratamentului otitelor. Inofensivitatea, eficiența și calitatea produsului farmaceutic este dovedită prin rezultatele obținute în cadrul experimentelor, care au fost expuse la diverse conferințe științifico-practice în perioada anilor 2012-2023.
- Obiectivul propunerii:** la etapa implementării obiectivului nu sunt.

Prezentă inovație este implementată conform descrierii în cerere.

Șef Departament cercetare-dezvoltare  
SC Balkan Pharmaceuticals SRL

Larisa SOLOVIOV

Ex.: [Executor]



## SC Balkan Pharmaceuticals SRL

str. Industrială 7/A  
MD-2091, or. Singera  
REPUBLICA MOLDOVA  
tel.: +373 22 536160, e-mail: office@balkanpharmaceuticals.com  
www.balkanpharmaceuticals.com

Nr. 19/3 din 19 februarie 2024

Director general  
SC Balkan Pharmaceuticals SRL

"APROB"

### ACTUL NR. 3 DE IMPLEMENTARE A ÎNOVAȚIEI

- Denumirea propunerii pentru implementare:** Medicament combinat nou: „Otocibex”, picături auriculare pentru tratamentul otomicozelor.
- Autorii:** Uncu Livia, dr. șt. farm., conf. univ., Valica Vladimir, dr. hab. șt. farm., prof. univ., Sergiu Parii, dr. hab. șt. med., conf. cercet., Prisacari Viorel, dr. hab. șt. med., prof. univ., Donici Elena, dr. șt. farm., conf. univ., Mazur Ecaterina, asist. univ.
- Unde și când a fost implementat:** Departamentul de cercetare/dezvoltare a SC Balkan Pharmaceuticals SRL, a. 2023.
- Eficacitatea implementării:** Otomicozele sunt prezente la nivel global, cu prevalență variind de la 9% la 30% la pacienții cu semnele și simptomele infecției canalului auditiv. La pacienții care sunt imunocompromiși se pot dezvolta forme acute invazive fatale de infecție fungică în urechea medie și internă. Aceasta poate duce la meningită sau invazie fungică a mucoasei și distrugerea oselor mastoide. Tratamentul acestei maladii trebuie să includă substanțe medicamentoase cu acțiune antibacteriană și antimicotică, ce se realizează prin utilizarea picăturilor auriculare combinate. Iar pentru tratamentul infecției bacteriene asociate sunt preferate fluorochinolonele, care au un spectru extins de acțiune și sunt lipsite de ototoxicitate. Pentru a evita problemele care pot apărea la aplicarea separată a medicației antifungice și antibacteriană (erori de dozare, durate de aplicare, etc.) sunt preferate combinațiile topice de medicamente – picături auriculare. Combinația econazolului cu ciprofloxacina sub formă de picături auriculare poate fi eficientă în tratamentul otitei externe mixte și ca opțiune pentru tratamentul otomicozei datorită acțiunii antifungice cu spectru larg. Fiind considerat unul dintre cei mai activi agenți antifungici împotriva ciupercilor Aspergillus (principalii agenți patogeni ai otomicozei), econazolul este preferențial celorlalte antifungice, față de care acest gen a dezvoltat rezistență. Iar adăugarea în formulă a unui principiu activ de origine naturală – uleiul volatil de busuioc – aduce plus valoare combinației, prin potențarea acțiunilor antibacteriană și antifungică. Picăturile auriculare combinate „Otocibex” vin să soluționeze necesitățile strategiilor de tratament a otomicozelor, prin mărirea complianței tratamentului acestei maladii. Inofensivitatea, eficiența și calitatea produsului farmaceutic este dovedită prin rezultatele obținute în cadrul experimentelor, care au fost expuse la diverse conferințe științifico-practice în perioada anilor 2012-2023.
- Obiectivul propunerii:** la etapa implementării obiectivului nu sunt. Prezentă inovație este implementată conform descrierii în cerere.

Șef Departament cercetare-dezvoltare  
SC Balkan Pharmaceuticals SRL

Larisa SOLOVIOV

Ex.: [Executor]

# Anexa 19. Certificate de înregistrare a obiectelor dreptului de autor și a drepturilor conexe și certificate de inovator

MD 4291 C1 2015.02.28

REPUBLICA MOLDOVA

(19) Agenția de Stat pentru Proprietatea Intelectuală

(11) 4291 (13) C1  
(61) Int.Cl.: A61K 9/107 (2006.01)  
A61K 31/47 (2006.01)  
A61K 36/835 (2006.01)  
A61K 45/08 (2006.01)  
A61K 31/573 (2006.01)  
A61P 27/16 (2006.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. depozit: a 2013 0100	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2014.07.31, BOPI nr. 7/2014
(22) Data depozit: 2013.12.27	

(7) Solicitant: UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE "NICOLAE TESTEMÎȚANU" DIN REPUBLICA MOLDOVA, MD

(7) Inventatori: MANTUȘ Mihail, MD; VALICA Vladimir, MD; PARU Ștefan, MD; UNCULIȘ MD; ABABII Polina, MD; NICOLAI Eugenia, MD; ȘTEFĂRȚĂ Roman, MD

(7) Titular: UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE "NICOLAE TESTEMÎȚANU" DIN REPUBLICA MOLDOVA, MD

(7) Mandatar autorizat: VOZIANU Maria

(54) Preparat medicamentos pentru tratamentul otitelor

(57) Rezumat:

1	2
Invenția se referă la medicină, în special la otolaringologie, și anume la un preparat medicamentos pentru tratamentul otitelor.	polisorbat 20, g 1.990...2.010 polietilenglicol 400, g 4.990...5.010 nisipaga, g 0.019...0.020 soluție tampon de citrat cu pH 7,8, g 0.010...0.020 apă distilată
Conținutul invenției, preparat medicamentos revendicat conține pentru 50 ml: ciprofloxacina clorhidrat, g 0,148...0,152 ulei volatil de busuioc, g 0,198...0,202 loratadină, g 0,009...0,015 desametasazon, g 0,009...0,015	Revendicată: 1

MD 4291 C1 2015.02.28

MD 4291 C1 2015.02.28

(54) Medicinal preparation for the treatment of otitis

(57) Abstract:

1	2
The invention relates to medicine, in particular to otolaryngology, aimed to a medicinal preparation for the treatment of otitis.	desametasazon, g 0.009...0.015 polisorbat 20, g 1.990...2.010 polyethylene glycol 400, g 4.990...5.010 nisipaga, g 0.019...0.020 citrate buffer with pH 7,8, g 0.010...0.020 distilled water
According to the invention, the claimed medicinal preparation contains for 50 ml: ciprofloxacin hydrochloride, g 0.148...0.152 volatile oil of basil, g 0.198...0.202 loratadine, g 0.009...0.015	Claims: 1

(54) Медицинский препарат для лечения отита

(57) Резюме:

1	2
Изобретение относится к медицине, в частности к оториноларингологии, и имеет целью медицинский препарат для лечения отита.	дексаметазон, г 0,009...0,015 полисорбат 20, г 1,990...2,010 полиэтиленгликоль 400, г 4,990...5,010 нисипага, г 0,019...0,020 буферный раствор цитрата с pH 7,8, г 0,010...0,020 дистиллированная вода
Согласно изобретению, заявленный медицинский препарат содержит для 50 мл: ципрофлоксацин гидрохлорид, г 0,148...0,152 эфирное масло базилика, г 0,198...0,202 лоратадин, г 0,009...0,015	II формулы: 1

MD 4291 C1 2015.02.28

3

Descriere:

Invenția se referă la medicină, în special la otolaringologie, și anume la un preparat medicamentos pentru tratamentul otitelor.

Este cunoscută utilizarea preparatului medicamentos combinat Otinum sub formă de soluție 10 ml, în calitate de medicament cu aplicare topică în tratamentul sfinxianilor urechii [1].

Dezavantajul preparatului menționat constă în faptul că nu posedă efect regenerativ și nu poate fi utilizat la otitele medii cu perforație timpurie.

Preparatele medicamentoase combinate presupun asocierea într-un singur preparat a doi sau mai multor agenți cu acțiune terapeutică diferită asupra mai multor mecanisme ce intervin la declanșarea stării patologice. Medicamentele combinate manifestă sporește efectului terapeutic prin acțiune sinergică, reducerea efectelor secundare la utilizarea unor doze mai mici de substanțe active cu reacții adverse diferite, creșterea tolerabilității medicamentului și complianța tratamentului.

Problema pe care o rezolvă invenția solicitată constă în extinderea gamei de preparate medicamentoase sub formă de picături auriculare pentru tratamentul otitelor externe, otitelor medii acute și otitelor medii cronice atât la cele fără perforație membranei timpanice, cât și la cele perforate.

Conținutul invenției, preparat medicamentos revendicat conține pentru 50 ml:  
ciprofloxacina clorhidrat, g 0,148...0,152  
ulei volatil de busuioc, g 0,198...0,202  
loratadină, g 0,009...0,015  
desametasazon, g 0,009...0,015  
polisorbat 20, g 1,990...2,010  
polietilenglicol 400, g 4,990...5,010  
nisipaga, g 0,019...0,020  
soluție tampon de citrat cu pH 7,8, g 0,010...0,020  
rezult.

Familiajul constă în obținerea unui preparat medicamentos combinat mai eficient, regenerativ și mai sigur.

Avantajul constă în aceea că preparatul propus datorită combinației ingredientelor active posedă acțiune sinergică manifestată prin efectele regenerativ mai evidente, precum și antimicrobiană, antiinflamatorie și subsecundativ, fapt ce contribuie la majorarea eficacității tratamentului otitelor nesupurative și supurative.

Ciprofloxacina reprezintă un remediu antibacterian din grupa fluorochinolonilor cu spectru larg de acțiune, activ față de un număr impunător de germeni patogeni. Mecanismul de acțiune constă în blocarea ADN-girazei microorganismelor sensibile și a replicării ADN-ului. Flaxar este responsabil de lărgirea spectrului antibacterian pentru bacterii gram-negativ și extinderea spectrului la bacteriile gram-pozitive. Cicilul piperasic face preparatul activ contra pseudomonadelor.

Busuioc (*Ocimum basilicum*) este o plantă cu mai multe efecte terapeutice. Posedă acțiune antimicrobiană, antiinflamatorie, regenerativă, calmantă, ușor anestezică etc. Este pe larg utilizat inclusiv în tratamentul sfinxianilor trachei, respirator superior și inferior.

Loratadină este un antihistaminic cu acțiune periferică de lungă durată, derivat al piperidinelor care blochează H1-receptorii histaminergici periferici. Nu deține bariere hematocerebrala, are acțiune antialergică, anticonvulsivă și antipruriginoasă. Totodată scade permeabilitatea capilarelor, inhibă spasmul mușchilor netezi, previne edemul țesuturilor.

Desametasazon este un antiinflamator steroidian, glucocorticosteroid puternic lipofil de progresează minimele corticoidale (nu regese sodiu în organism). În aplicația topică posedă acțiune antiinflamatorie, antipruriginosă și vasoconstrictoare.

Forma farmaceutică reprezintă o emulsie uleioasă de tip ulei-apă pentru uz extern cu conținut de ciprofloxacina clorhidrat, loratadină, desametasazon și ulei volatil de busuioc. Preparatul medicamentos policompușat posedă un spectru de acțiune multidirecțional și asigură un efect terapeutic complex. Preparatul este

MD 4291 C1 2015.02.28

4

caracterizat prin compoziția cantitativă și calitativă valoroasă, conținutul unor principii bioactive, lipsa elementelor nocive, simplitatea proceselor tehnologice.

Exemple de elaborare a preparatului medicamentos

1. Studiul compatibilității ciprofloxacinei și uleiului de busuioc în aceeași formă farmaceutică.
2. Elaborarea compoziției și a tehnologiei de preparare a picăturilor auriculare.
- 2.1. Preformularea și elaborarea tehnologiei de preparare a picăturilor auriculare cu conținut de ciprofloxacina și ulei volatil de busuioc.
3. Elaborarea metodelor de analiză a picăturilor auriculare cu conținut de ciprofloxacina și ulei de busuioc.
4. Standardizarea formei farmaceutice.

Procesul tehnologic de preparare a emulsiei primare

Încorporarea substanțelor medicamentoase în emulsia primară

La emulsia primară se adaugă în porții apă purificată (circa ½ din volumul ei) și excipienții. Loratadină și desametasazon se dizolvă în polietilenglicol 400 și se amestecă cu nisipagină în prealabil dizolvată într-o cantitate minimă de apă purificată din restul volumului; apoi se adaugă ciprofloxacina dizolvată în cantitatea minimă de apă din restul volumului. Se amestecă bine și se omogenizează emulsia. Se măsoară pH-ul emulsiei și dacă este cazul se ajustează cu ajutorul soluției tampon de citrat cu pH=7,8 (1 ml) până la pH-ul optimal 4,5...5,0. Emulsia obținută este transferată într-un pahar gradat de 50 ml și se completează până la cota necesară cu restul solventului. Emulsia obținută are un aspect omogen, este lipsită de particule în suspensie, are un miros plăcut de ulei volatil de busuioc.

Amestecul se ambalează în recipiente din sticlă lăcuită cu capacitatea de 50 g, se etanșează cu dop din masă plastică.

Exemplu

Experimentele au fost efectuate pe 15 porcii de laborator, masculi cu vârsta de 12 săptămâni și greutatea corporală de 18...24 g la începutul studiului. Anamneza de laborator au fost repartizate în 3 grupe a câte 5 porci. La toate animalele până la mijlocul studiului s-a efectuat otoscopia pentru excluderea otitei.

Otita externă experimentală a fost provocată prin administrarea în conductul auditiv unilateral la fiecare animal de laborator a culturii *Staphylococcus aureus* 0,05 ml. Otita a fost diagnosticată prin otoscopia cu stabilirea următoarelor simptome: hiperemia tegumentelor urechii externe și a conductului auditiv extern, culoarea roșie a membranei timpanice, eliminarea auriculară în conductul auditiv extern, încălzirea caracteristică a capului spre urechea afectată (în unele cazuri). Peste 3 zile după modelarea otitei acute a fost început tratamentul medical.

La grup s-a administrat preparatul studiat, la grupul II – separat concentrații similare de ciprofloxacina, loratadină, desametasazon și ulei de busuioc, la grupul 3 s-a administrat sol. Otinum. La toate grupele preparatele s-au administrat cu pipeta în urechea externă, câte 1 picătură de 2 ori pe zi. Zilnic s-a efectuat otoscopia pentru a stabili nivelul de afectare. La necesitate la animalele de laborator s-a efectuat toaletă conductului auditiv cu soluție fiziologică. Vădăcarea a fost determinată prin lipsa eliminărilor în conductul auditiv extern, lipsa hiperemiei pielii din ureche, culoarea surie a membranei timpanice cu punctele de reper evidențiate. La 1 grup vădăcarea a fost constatată după 2...3 zile de administrare a preparatului studiat; la grupul II – după 4...5 zile de administrare; la grupul III – după 5...6 zile de administrare.

La baza concepției farmaceutice și farmacologice a principiilor active ale ciprofloxacinei, loratadină, desametasazon și uleiului de busuioc în combinație a fost elaborat un produs medicamentos nou cu acțiune polivalentă, manifestând următoarele proprietăți: antiseptic, antiinflamator, regenerativ, antiedematoasă și ușor anestezică, cu aplicare în clinică. Pentru prima dată se propune sub formă de



Seria: O  
 Numărul de înregistrare: 6919  
 Data înregistrării: 14.05.2021  
 Numărul cererii: 1694  
 Denumirea obiectului: „OBTINEREA ȘI STUDIUL CHIMIC  
 AL EXTRACTELOR USCATE DIN *HYPERICI  
 HERBA ȘI HYPERICI FLORES*”

Autori:  
 Benea Anna IDNP: 0972502325438  
 Ciobanu Nicolae IDNP: 0982503883950  
 Uncu Livia IDNP: 2000001061299

Titularul drepturilor patrimoniale:  
 Instituția Publică Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie "Nicolae Testemițanu" din Republica Moldova IDNO: 1007600000794

EXTRAS  
 din Legea nr. 139/2010 privind dreptul de autor și drepturile conexe:  
 Art. 5 alin. (6): Protecția dreptului de autor se extinde asupra formei de exprimare, dar nu se extinde asupra ideilor, teoriilor, descoperirilor științifice, procedurilor, metodelor de funcționare sau asupra conceptelor matematice ca atare și nici asupra invențiilor cuprinse într-o operă, oricare ar fi modul de preluare, explicare sau de exprimare.

L.S. Șef Direcție Drept de Autor











## Anexa 20. Monografii Farmaceutice

IP Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie “Nicolae Testemițanu”  
Centrul Științific al Medicamentului  
or. Chișinău, Republica Moldova

**APROB**

Prorector pentru activitatea de cercetare,  
dr. hab. șt. med., profesor universitar,  
academician al AȘM,

Stanislav GROPPA

„16” decembrie 2023

### MONOGRAFIE FARMACOPEICĂ

MF MD-USMF 08/ 8/3j

Picături auriculare Izofural M

Se pune în aplicare prima data

Pusă în aplicare

„ ” 2023

Valabilă până la

„ ” 2026

Prezenta Monografie Farmaceutică reglementează calitatea produsului “Picături auriculare Izofural M”, cu conținut de Izohidrafural (isonicotinoilhidrazona aldehidei 5-nitro-2-furanice) și Metiluracil (2,4-Dihidroxi-6-metilpirimidină), și utilizat în calitate de preparat medicamentos pentru uz extern.

Denumirea materiei prime	Cantitatea, g	Condiții de calitate
Izohidrafural	0,05	MFT MD-08/1005-10.08
Metiluracil	2,0	Ph. Eur.
Polietilenglicol 400	60,0	Ph. Eur.
Propilenglicol	20,0	Ph. Eur.
Nipagină	0,04	Ph. Eur.
Soluție tampon acetat	q.s. ad pH 5,0 – 7,5	Ph. Eur.
Apă purificată	ad 100,0	Ph. Eur.
<b>TOTAL</b>	<b>100,0 g</b>	

Proprietatea USMF “Nicolae Testemițanu”

Reproducerea interzisă

Conținutul cantitativ (X, g) de metiluracil în picături auriculare se calculează conform formulei:

$$X = \frac{S_x \cdot m_{st}}{S_{st} \cdot V_{pic}} \cdot P, \text{ unde:}$$

X – conținutul cantitativ de substanță activă în picături, g;

S<sub>x</sub> – aria picului soluției probă;

S<sub>st</sub> – aria picului soluției standard;

V<sub>pic</sub> – volumul picăturilor luat pentru analiză, ml;

m<sub>st</sub> – masa substanței standard, g;

P – volumul total al picăturilor, ml.

Conținutul de izohidrafural trebuie să fie de cel puțin 0,04085 g și cel mult 0,0515 g (± 3 %),

iar cel de metiluracil de cel puțin 1,94 g și cel mult 2,06 g (± 3 %).

**Conservare.** Se depozitează la temperatura camerei, sub 25°C, în ambalaj original.

**Marcare.** Pe eticheta de flacon și pe cutia pliantă se inscripționează seria de fabricație, data de fabricație și data expirării.

**Ambalare.** *Ambalaj primar:* Flacoane de culoare albă din polietilenă cu capacitatea de 5,0 ml, prevăzut cu dop picurător; capac alb cu inel de siguranță.

*Ambalaj secundar:* Fiecare flacon, însoțit de prospect, se introduce în cutie individuală de carton inscripționat.

**Termenul de valabilitate.** 24 de luni (2 ani).

**Cod ATC și grupa farmacoterapeutică.** S03A A07 Preparate oftalmologice și auriculare - antiinfecțioase

**Adnotare.** Reactivii utilizați în MF recentă sunt descriși în *Ph.Eur.4.1.1.*

Șef Centrul de cercetare în domeniul sănătății și  
biomedicinii, INCMS  
doctor hab. în șt. med., prof. univ.

Mihail TODIRAȘ  
" " \_\_\_\_\_ 2023

Director Centrul Științific al Medicamentului  
doctor hab. în șt. farm., prof. univ.

Vladimir VALICA  
" " \_\_\_\_\_ 2023

Șef Laborator de Elaborare, analiză și  
standardizarea medicamentului, CȘM,  
doctor în șt. farm., conf. univ.

Livia UNCU  
"04" 12 2023

Șef Laborator Evaluare preclinică a medicamentelor, CȘM,  
doctor hab. în șt. med., conf. cercet.

Sergiu PARII  
"06" 12 2023

Șef Laborator Infecții intrahospitalicești,  
doctor hab. în șt. med., prof. univ., MC AȘRM

Violet Prisăcari  
" " \_\_\_\_\_ 2023

**IP Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie “Nicolae Testemițanu”**  
**Centrul Științific al Medicamentului**  
**or. Chișinău, Republica Moldova**

**APROB**

Prorector pentru activitatea de cercetare,  
dr. hab. șt. med., profesor universitar,  
academician al ASM,

**Stanislav GROPPA**

„26” *martie* 2024



**MONOGRAFIE FARMACOPEICĂ**

MF MD-USMF 08/ *3/2a*

**Picături auriculare „Otocibex”**

**Se pune în aplicare prima data**

**Pusă în aplicare**

" " 2023

**Valabilă până la**

" " 2026

Prezenta Monografie Farmacopeică reglementează calitatea picăturilor auriculare combinate “Otocibex” (combinație dintre substanțele active: Clorhidrat de ciprofloxacina, Nitrat de econazol și Ulei volatile de busuioc), utilizat în calitate de preparat medicamentos pentru uz extern.

**Componența:**

<b>Denumirea materiei prime</b>	<b>Cantitatea, g</b>	<b>Condiții de calitate</b>
Nitrat de econazol	0,2	Ph. Eur.
Clorhidrat de ciprofloxacina	0,2	Ph. Eur.
Ulei volatil de busuioc	0,2	Ph. Eur.
Polietilenglicol 400	10	Ph. Eur.
Polisorbat 20	4,0	Ph. Eur.
Nipagină	0,04	Ph. Eur.
Soluție tampon fosfat	q.s. ad pH 5,0 – 7,5	Ph. Eur.
Apă purificată ad	100,0	Ph. Eur.
<b>TOTAL</b>	<b>100,0 g</b>	

**Proprietatea USMF “Nicolae Testemițanu”**

**Reproducerea interzisă**

**Marcare.** Pe eticheta de flacon și pe cutia pliantă se inscripționează seria de fabricație, data de fabricație și data expirării.

**Ambalare.** *Ambalaj primar:* Flacoane de culoare albă din polietilenă cu capacitatea de 5,0 ml, prevăzute cu dop picurător; capac alb cu inel de siguranță.

*Ambalaj secundar:* Fiecare flacon, însoțit de prospect, se introduce în cutie individuală de carton inscripționat.

**Termenul de valabilitate.** 24 de luni (2 ani).

**Cod ATC și grupa farmacoterapeutică.** S03A A07 Preparate oftalmologice și auriculare - antiinfecțioase

**Adnotare.** Reactivii utilizați în MF recentă sunt descriși în *Ph.Eur. 4.1.1.*

Șef Centrul de cercetare în domeniul sănătății și  
biomedicinii, INCMS  
doctor hab. în med., prof. univ.

Mihail TODIRAȘ

"19" februarie 2024

Director Centrul Științific al Medicamentului  
doctor hab. în șt. farm., prof. univ.

Vladimir VALICA

"19" februarie 2024

Cercetător științific coordonator proiect,  
Șef Laborator de Elaborare, analiză și  
standardizarea medicamentului, CȘM,  
doctor în șt. farm., conf. univ.

Livia UNCU

"19" februarie 2024

Șef Laborator Cercetare preclinică, CȘM, doctor  
hab. în șt. med., conf. cercet.

Sergiu PARII

"19" februarie 2024

Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie “Nicolae Testemițanu”  
Centrul Științific al Medicamentului  
mun. Chișinău, Republica Moldova

**APROB**

Prorector pentru activitatea de cercetare,  
dr. hab. șt. med., profesor universitar,  
academician al ASM

**Stanislav GROPPA**

„26” martie



**MONOGRAFIE FARMACOPEICĂ**

**CAPSULE «Otoneurex»**

**MF MD-08/ 3/26**

**Se pune în aplicare prima data**

Pusă în aplicare din

" " 20\_\_

Valabilă până la

" " 20\_\_

Prezenta Monografie Farmacopeică reglementează calitatea produsului “Otoneurex” capsule (combinație dintre substanțele active: Nicergolină, Piracetam și Extract uscat de păducel), utilizat în calitate de preparat medicamentos pentru uz intern.

**Componența pentru o capsulă:**

Denumirea materiei prime	Cantitatea, mg	Condiții de calitate
Nicergolină	4,5	Ph. Eur.
Piracetam	200,0	Ph. Eur.
Extract uscat de păducel	50,0	Ph. Eur.
Stearat de magneziu	2,5	Ph. Eur.
Amidonglicolat de sodiu	2,5	Ph. Eur.
Lactoză monohidrat	240,5	Ph. Eur.
<b>TOTAL</b>	<b>500,0 mg</b>	

**Ediție oficială**

**Reproducerea interzisă**

Mențiunile	Se eliberează fără prescripția medicală. A se citi prospectul înainte de utilizare. A nu se lăsa la îndemâna și vederea copiilor.	Отпускается без рецепта врача. Перед применением прочтите инструкцию. Хранить в недоступном для детей месте.
Numărul de înregistrare		
Seria	№ seriei	№ серии
Data expirării termenului de valabilitate	Luna / anul	Месяц / год
Codul de bare		

Pe eticheta cutiei colective se indică suplimentar numărul de ambalaje individuale. Marcarea ambalajului de transport în conformitate cu cerințele prevăzute de GOST 14192-96.

### **Condiții de depozitare**

La loc uscat, ferit de lumină la temperatura sub 25°C.

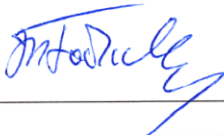



### **Transportare**

Transportare conform GOST 17768-90.

**Termen de valabilitate** 2 ani.

**Grupa farmacoterapeutică ATC** N06B X: alte produse stimulante SNC;

C04AE02: vasodilatatoare periferice, alcaloizi din ergot.

Șef Centrul de cercetare în domeniul sănătății și biomedicinii, INCMS doctor hab. în med., prof. univ.		Mihail TODIRAS "19" februarie 2024
Director Centrul Științific al Medicamentului doctor hab. în șt. farm., prof. univ.		Vladimir VALICA "19" februarie 2024
Cercetător științific coordonator proiect, Șef Laborator de Elaborare, analiză și standardizarea medicamentului, CȘM, doctor în șt. farm., conf. univ.		Livia UNCU "19" februarie 2024
Șef Laborator Cercetare preclinică, CȘM, doctor hab. în șt. med., conf. cercet.		Sergiu PARII "19" februarie 2024



## Anexa 21. Regulamente tehnologice

RT MD-USMF 08/ \_\_\_\_\_ 1

**Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie “Nicolae Testemițanu”**  
**Centrul Științific al Medicamentului**  
mun. Chișinău, Republica Moldova

### APROB

Prorector pentru activitatea de  
cercetare,  
dr. hab. șt. med., profesor universitar,  
academician al ASM,

**Stanislav GROPPA**

„26” martie 2024



## REGULAMENT TEHNOLOGIC

PICĂTURI AURICULARE IZOFURAL M

RT MD-08/ 3/3a

Se pune în aplicare prima data

Pusă în aplicare din

" \_\_\_ " \_\_\_\_\_ 20\_\_

Valabilă până la

" \_\_\_ " \_\_\_\_\_ 20\_\_

Prezentul Regulament tehnologic reglementează producerea medicamentului „Izofural M” picături auriculare (combinație dintre substanțele active: izohidrafural și metiluracil), utilizat în calitate de preparat medicamentos pentru uz extern.

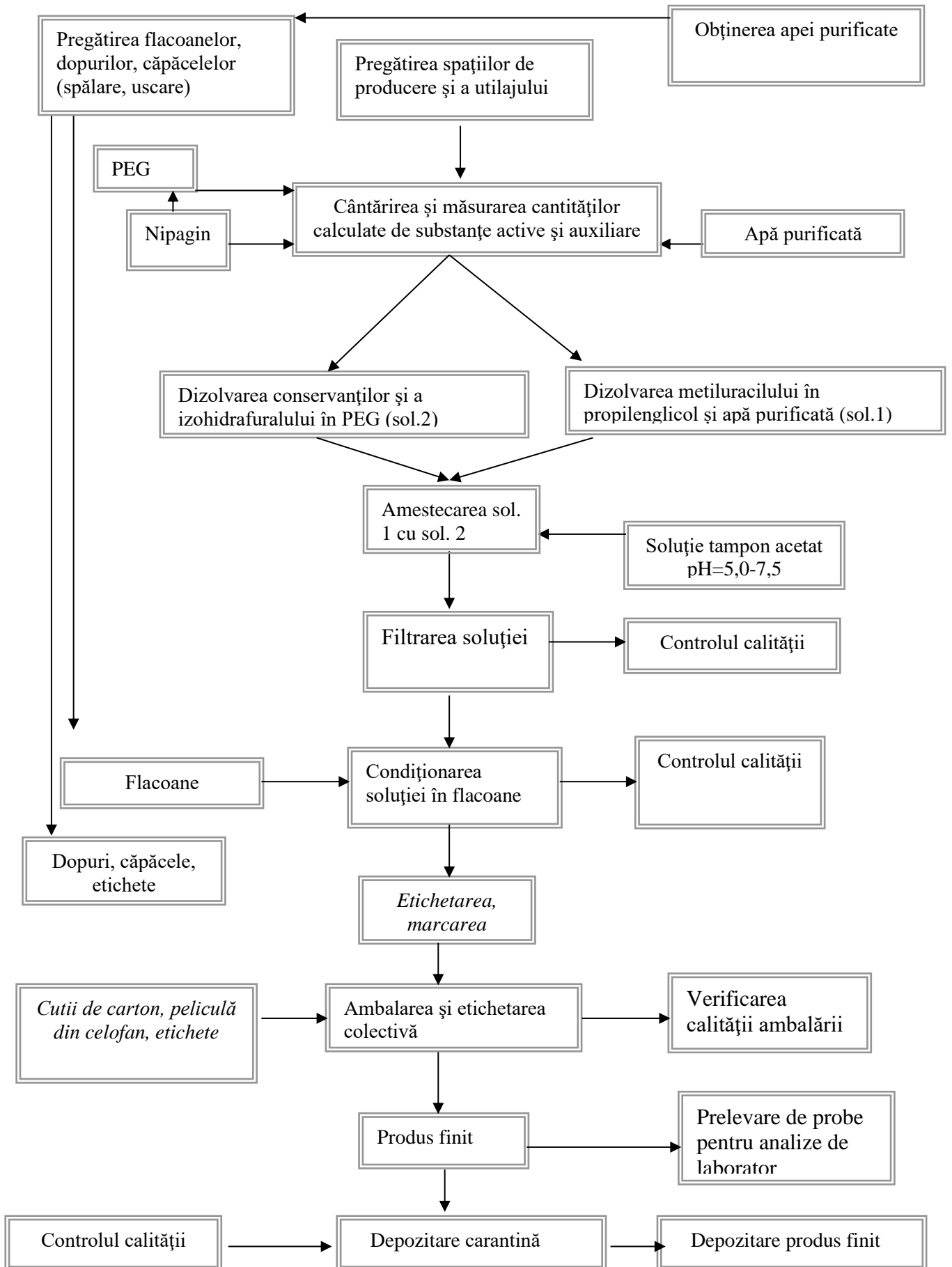
### Componența pentru 100,0 g:

Denumirea materiei prime	Cantitatea, g	Condiții de calitate
Izohidrafural	0,05	MFT MD-08/1005-10.08
Metiluracil	2,0	Ph. Eur.
Polietilenglicol 400	60,0	Ph. Eur.
Propilenglicol	20,0	Ph. Eur.
Nipagină	0,04	Ph. Eur.
Soluție tampon acetat	q.s. ad pH 5,0 – 7,5	Ph. Eur.
Apă purificată	ad 100,0	Ph. Eur.
<b>TOTAL</b>	<b>100,0 g</b>	

Ediție oficială

Reproducerea interzisă

## SCHEMA FLUXULUI TEHNOLOGIC








**NORMAREA TIMPULUI DE LUCRU (pentru un produs medicamentos)**

- |  |               |
|--|---------------|
| <input type="checkbox"/> Pregătirea spațiilor de producție           | 35 min.       |
| <input type="checkbox"/> Pregătirea utilajului și aparatajului       | 20 min.       |
| <input type="checkbox"/> Pregătirea personalului                     | 10 min.       |
| <input type="checkbox"/> Recepția materiei prime                     | 15 min.       |
| <input type="checkbox"/> Cântărirea materiilor prime                 | 20 min.       |
| <input type="checkbox"/> Prepararea soluției (dizolvarea, filtrarea) | 50 min.       |
| <input type="checkbox"/> Condiționarea și capsarea flacoanelor       | 30 min.       |
| <input type="checkbox"/> Ambalarea primară a flacoanelor             | 1 oră 30 min. |

- 
- |  |               |
|--|---------------|
| <input type="checkbox"/> Ambalarea secundară | 1 oră 30 min. |
|--|---------------|

**TOTAL:** **7 ore**

Șef Centrul de cercetare în domeniul sănătății și biomedicinii, INCMS doctor hab. în med., prof. univ.	 "19" februarie 2024	Mihail TODIRAS
Director Centrul Științific al Medicamentului doctor hab. în șt. farm., prof. univ.	 "19" februarie 2024	Vladimir VALICA
Șef Laborator de Elaborare, analiză și standardizarea medicamentului, CȘM, doctor în șt. farm., conf. univ. Catedra de Chimie farmaceutică și toxicologică	 "19" februarie 2024	Livia UNCU
Șef Laborator Cercetare preclinică, CȘM, doctor hab. în șt. med., conf. cercet.	 "19" februarie 2024	Sergiu PARII
Șef de studii, Catedra de Chimie farmaceutică și toxicologică, doctor în șt. farm., conf. univ.	 "19" februarie 2024	Elena DONICI

**Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie “Nicolae Testemițanu”**  
**Centrul Științific al Medicamentului**  
 mun. Chișinău, Republica Moldova

**APROB**

Prorector pentru activitatea de  
cercetare,

dr. hab. șt. med., profesor universitar,  
academician al ASM

**Stanislav GROPPA**

„26” martie 2024

**REGULAMENT TEHNOLOGIC**

PICĂTURI AURICULARE OTOCIBEX

RT MD-08/ 3/38**Se pune în aplicare prima data**

Pusă în aplicare din

" \_\_\_ " \_\_\_\_\_ 20\_\_

Valabilă până la

" \_\_\_ " \_\_\_\_\_ 20\_\_

Prezentul Regulament tehnologic reglementează producerea medicamentului „Otocibex” picături auriculare (combinație dintre substanțele active: nitrat de econazol, clorhidrat de ciprofloxacina și ulei volatil de busuioc), utilizat în calitate de preparat medicamentos pentru uz extern.

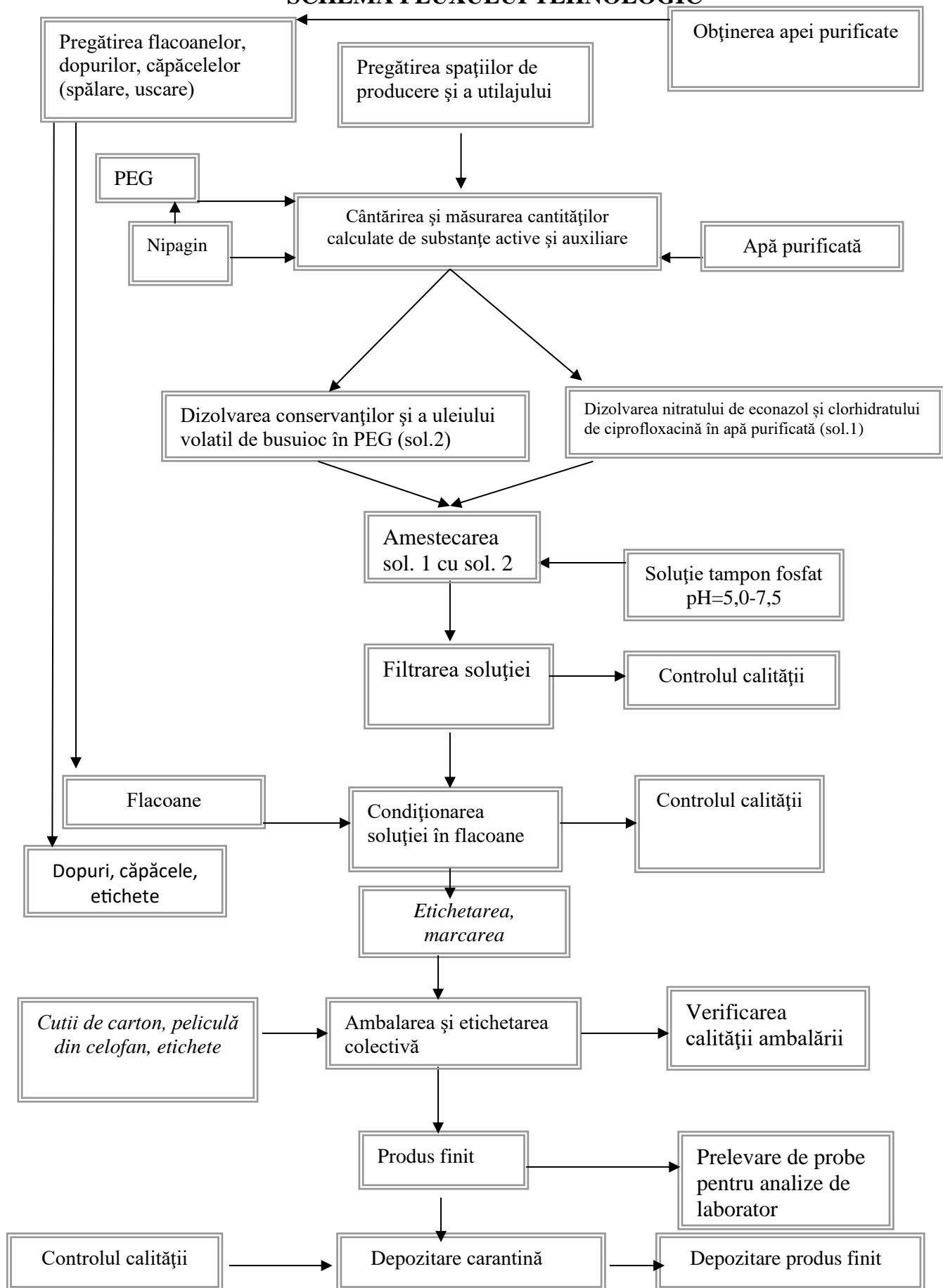
**Componența pentru 100,0 g:**

Denumirea materiei prime	Cantitatea, g	Condiții de calitate
Nitrat de econazol	0,2	Ph. Eur.
Clorhidrat de ciprofloxacina	0,2	Ph. Eur.
Ulei volatil de busuioc	0,2	Ph. Eur.
Polietilenglicol 400	10	Ph. Eur.
Polisorbat 20	4,0	Ph. Eur.
Nipagină	0,04	Ph. Eur.
Soluție tampon fosfat	q.s. ad pH 5,0 – 7,5	Ph. Eur.
Apă purificată ad	100,0	Ph. Eur.
<b>TOTAL</b>	<b>100,0 g</b>	

Ediție oficială

Reproducerea interzisă

## SCHEMA FLUXULUI TEHNOLOGIC

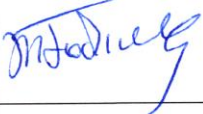






**NORMAREA TIMPULUI DE LUCRU (pentru un produs medicamentos)**

- |  |               |
|--|---------------|
| <input type="checkbox"/> Pregătirea spațiilor de producție           | 35 min.       |
| <input type="checkbox"/> Pregătirea utilajului și aparatajului       | 20 min.       |
| <input type="checkbox"/> Pregătirea personalului                     | 10 min.       |
| <input type="checkbox"/> Recepția materiei prime                     | 15 min.       |
| <input type="checkbox"/> Cântărirea materiilor prime                 | 20 min.       |
| <input type="checkbox"/> Prepararea soluției (dizolvarea, filtrarea) | 50 min.       |
| <input type="checkbox"/> Condiționarea și capsarea flacoanelor       | 30 min.       |
| <input type="checkbox"/> Ambalarea primară a flacoanelor             | 1 oră 30 min. |

- 
- |  |               |
|--|---------------|
| <input type="checkbox"/> Ambalarea secundară | 1 oră 30 min. |
|--|---------------|

**TOTAL:** **7 ore**

Șef Centrul de cercetare în domeniul sănătății și biomedicinii, INCMS doctor hab. în med., prof. univ.		Mihail TODIRAȘ "19" februarie 2024
Director Centrul Științific al Medicamentului doctor hab. în șt. farm., prof. univ.		Vladimir VALICA "19" februarie 2024
Șef Laborator de Elaborare, analiză și standardizarea medicamentului, CȘM, doctor în șt. farm., conf. univ. Catedra de Chimie farmaceutică și toxicologică		Livia UNCU "19" februarie 2024
Șef Laborator Cercetare preclinică, CȘM, doctor hab. în șt. med., conf. cercet.		Sergiu PARII "19" februarie 2024
Șef de studii, Catedra de Chimie farmaceutică și toxicologică, doctor în șt. farm., conf. univ.		Elena DONICI "19" februarie 2024

**Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie “Nicolae Testemițanu”**  
**Centrul Științific al Medicamentului**  
mun. Chișinău, Republica Moldova

**APROB**

Prorector pentru activitatea de  
cercetare,

dr. hab. șt. med. profesor universitar,  
academician al ASM

**Stanislav GROPPA**

„26” martie 2024



## REGULAMENT TEHNOLOGIC

**CAPSULE «Otoneurex»**

RT MD-08/ 3/3c

**Se pune în aplicare prima data**

Pusă în aplicare din

" \_\_\_ " \_\_\_\_\_ 20\_\_

Valabilă până la

" \_\_\_ " \_\_\_\_\_ 20\_\_

Prezentul Regulament tehnologic reglementează producerea medicamentului “Otoneurex” capsule (combinație dintre substanțele active: Nicergolină, Piracetam și Extract uscat de păducel), utilizat în calitate de preparat medicamentos pentru uz intern.

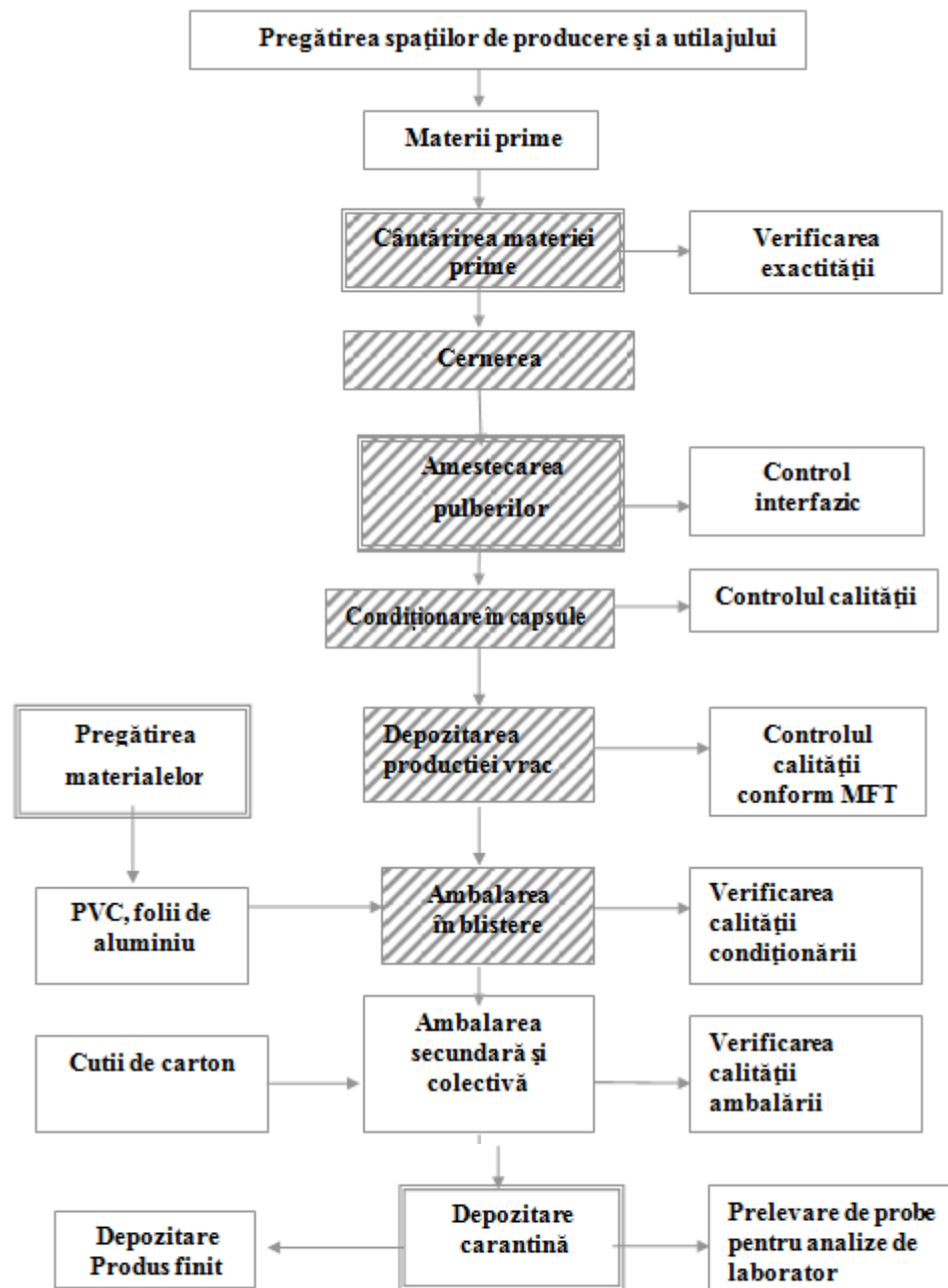
**Componența pentru o capsulă:**

Denumirea materiei prime	Cantitatea, mg	Condiții de calitate
Nicergolină	4,5	Ph. Eur.
Piracetam	200,0	Ph. Eur.
Extract uscat de păducel	50,0	Ph. Eur.
Stearat de magneziu	2,5	Ph. Eur.
Amidonglicolat de sodiu	2,5	Ph. Eur.
Lactoză monohidrat	240,5	Ph. Eur.
<b>TOTAL</b>	<b>500,0 mg</b>	

Ediție oficială

Reproducerea interzisă

## CHEMA FLUXULUI TEHNOLOGIC



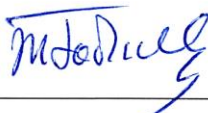






## NORMAREA TIMPULUI DE LUCRU (pentru un produs medicamentos)

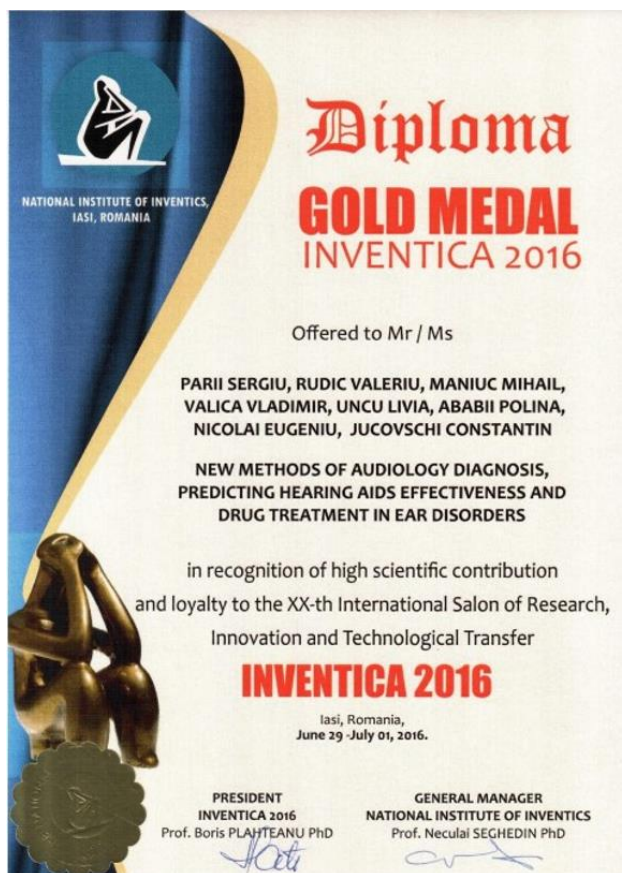
- |  |               |
|--|---------------|
| <input type="checkbox"/> Pregătirea spațiilor de producție | 35 min.       |
| <input type="checkbox"/> Pregătirea utilajului de lucru    | 20 min.       |
| <input type="checkbox"/> Pregătirea personalului           | 10 min.       |
| <input type="checkbox"/> Recepția materiei prime           | 15 min.       |
| <input type="checkbox"/> Cântărirea materiilor prime       | 20 min.       |
| <input type="checkbox"/> Omogenizarea amestecului          | 50 min.       |
| <input type="checkbox"/> Condiționare în capsule 1oră      | 30 min.       |
| <input type="checkbox"/> Ambalarea primară a capsulelor    | 1 oră 30 min. |
| <input type="checkbox"/> Ambalarea secundară               | 1 oră 30 min. |

**TOTAL:**

**7 ore**

Șef Centrul de cercetare în domeniul sănătății și biomedicinii, INCMS doctor hab. în med., prof. univ.	 Mihail TODIRAȘ "19" februarie 2024
Director Centrul Științific al Medicamentului doctor hab. în șt. farm., prof. univ.	 Vladimir VALICA "19" februarie 2024
Șef Laborator de Elaborare, analiză și standardizarea medicamentului, CȘM, doctor în șt. farm., conf. univ. Catedra de Chimie farmaceutică și toxicologică	 Livia UNCU "19" februarie 2024
Șef Laborator Cercetare preclinică, CȘM, doctor hab. în șt. med., conf. cercet.	 Sergiu PARII "19" februarie 2024
Șef de studii, Catedra de Chimie farmaceutică și toxicologică, doctor în șt. farm., conf. univ.	 Elena DONICI "19" februarie 2024

## Anexa 22. Medalii/distincții la saloane de invenții



IAȘI - ROMÂNIA



# DIPLOMA

**New methods for audiology diagnosis, predicting the hearing instrument care and pharmacological treatment in ear disorders**

**PARI Sergiu, RUDIC Valeriu, MANIUC Mihail, VALICA Vladimir, UNCU Livia, ABABII Polina, NICOLAI Eugeniu, JUCOVSCI Constantin**

**GOLD MEDAL**

President of International Jury  
Dr.Eng. Mohd Mustafa Al Bakri ABDULLAH

President of Exhibition  
Prof. Ion SANDU





**UNIVERSITATEA TEHNICĂ DIN CLUJ-NAPOCA**  
 sub egida MINISTERULUI EDUCAȚIEI NAȚIONALE ȘI CERCETĂRII ȘTIINȚIFICE  
 și ACADEMIEI DE ȘTIINȚE TEHNICE DIN ROMÂNIA, FILIALA CLUJ

**SALONUL INTERNAȚIONAL DE INVENTICĂ**  
**PRO INVENT**, Ediția a XIV-a, 2016, Cluj-Napoca, România

**DIPLOMA**  
 DE EXCELENȚĂ  
 ȘI MEDALIA DE AUR CU MENȚIUNE SPECIALĂ

Se acordă: *Parii S, Rudie V, Maniuc M, Valica V, Uncu L, Ababilii P, Nicolai E, Jucovschi C.*

Pentru: *New method of audiology diagnosis, predicting hearing aids effectiveness on drug treatment in ear disorders*

PREȘEDINTELE SALONULUI,  
 Prof. dr. ing. VASILE ȚOPA  
 Rector al  
 Universității Tehnice din Cluj-Napoca

PREȘEDINTELE JURIULUI,  
 Prof. dr. ing. RADU MUNTEANU

Acordată la Salonul INVENTICA, Iași 2016

43. HRVATSKI SALON INOVACIJA S MEĐUNARODNIM SUDJELOVANJEM  
 14. IZLOŽBA INOVACIJA, PROTOTIPOVA I STUDENTSKIH POSLOVNIH PLANOVA  
 43<sup>th</sup> INTERNATIONAL INVENTION SHOW  
 14<sup>th</sup> INVENTION AND PROTOTYPE SHOW AND STUDENT BUSINESS PLAN COMPETITION

**GOLD**

**MANIUC Mihail, VALICA Vladimir, PARIJ Sergiu, UNCULIVIA, ABABILII Polina, NICOLAI Eugeniu, STEFARTA Roman**  
 Republic of Moldova  
**MEDICINAL PREPARATION FOR TREATMENT OF OTITIS**

ZAGREB, CROATIA, November 14-17, 2018


Međunarodni ođjenivački sud  
 international jury  
 Predsjednik/President  
 Andrej Krinjar, msc.

Savez hrvatskih inovatora  
 Croatian inventors network  
 Predsjednica/President  
 Ljiljana Peđić, mag.ing.chem.ing.

**inova - budi uzor zagreb croatia**

SALONUL INTERNAȚIONAL DE  
**INVENTII INOVAȚII**  
 „TRAIAN VUIA” TIMIȘOARA

**Diplomă**

SE ACORDĂ  MEDALIA DE ARGINT

pentru invenția  
 EFICIENTIZAREA DIAGNOSTICULUI ȘI FARMACOTERAPIEI  
 AFECȚIUNILOR ANALIZATORULUI AUDITIV  
 autori  
**Parii Sergiu, Maniuc Mihail, Valica Vladimir, Gonciar Veaceslav, Curocichin Ghenadie, Uncu Livia, Buza Anastasia, Nicolai Eugeniu**  
 instituția  
 UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINA ȘI FARMACIE "NICOLAE TESTEMITANU" DIN  
 REPUBLICA MOLDOVA

Președinte juriu  
 Prof. dr. habil. Narcisa MEDERLE

Președinte salon  
 Remi RADULESCU

Data 10 octombrie 2022



## DECLARAȚIA PRIVIND ASUMAREA RĂSPUNDERII

Subsemnata, Uncu Livia 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.

Uncu Livia

Semnătura



Data: 12.02.2024

## CV AUTORULUI



### INFORMAȚII PERSONALE

<b>Nume / Prenume</b>	<b>Uncu Livia</b>
<i>Adresa</i>	21/1, 3, C. Vîrnav, 2025, Chișinău, RM
<i>Tel/fax</i>	serviciu: (+373) 22 205457
<i>Telefoane</i>	serviciu: (+373) 22 205455, Mobil: (+373) 69070355
<i>e-mail</i>	<a href="mailto:livia.uncu@usmf.md">livia.uncu@usmf.md</a>
<i>Data nașterii</i>	14 septembrie 1966
<i>Cetățenia</i>	Republica Moldova
<b>Titlul științific</b>	Doctor în științe farmaceutice, diploma seria DR nr. 1644 din 27.02.2003
<b>Titlul științifico-didactic</b>	Conferențiar universitar, diploma seria CU nr. 0009 din 23.12.2004
<b>Abilitare</b>	Cu drept de conducător de doctorat, Certificat de abilitare seria 1971 din 10.04.2014; Certificat de abilitare seria 10 din 30.10.2020, specialitatea 316.01 – Farmacie
<b>Categorie profesională</b>	<b>Superioară, farmacist, ord. MS RM nr. 245 din 28.02.2018</b>



### EXPERIENȚA PROFESIONALĂ

<b>Perioada</b>	<b>2007-prezent</b>
<i>Funcția și postul ocupat</i>	Șef de Laborator Analiză, standardizare și controlul medicamentelor al Centrului Științific al Medicamentelor, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” din Chișinău; bd. Ștefan cel Mare și Sfânt, 165; <a href="http://www.usmf.md">www.usmf.md</a>
<i>Tipul activității</i>	Cercetare
<b>Perioada</b>	<b>2006-prezent</b>
<i>Funcția și postul ocupat</i>	Prodecan Facultatea de Farmacie, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” din Chișinău; bd. Ștefan cel Mare și Sfânt, 165; <a href="http://www.usmf.md">www.usmf.md</a>
<i>Tipul activității</i>	Administrativ
<b>Perioada</b>	<b>2003-2006</b>
<i>Funcția și postul ocupat</i>	Metodist principal (coordonator) secția cu frecvență redusă a Facultății de Farmacie, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” din Chișinău; bd. Ștefan cel Mare și Sfânt, 165; <a href="http://www.usmf.md">www.usmf.md</a>
<i>Tipul activității</i>	Didactic
<b>Perioada</b>	<b>2004-prezent</b>
<i>Funcția și postul ocupat</i>	Conferențiar universitar – Disciplinele: chimie farmaceutică, controlul medicamentelor, chimie medicală, elaborarea medicamentelor și cercetare farmaceutică, suplimente alimentare și elemente de nutriție, surse și metode de obținere a medicamentelor, bioechivalența medicamentelor și produse biosimilare, interacțiuni aliment-medicament; catedra Chimie farmaceutică și toxicologică, Facultatea de Farmacie, USMF „Nicolae Testemițanu” din Chișinău; bd. Ștefan cel Mare și Sfânt, 165; <a href="http://www.usmf.md">www.usmf.md</a>
<i>Tipul activității</i>	Didactic
<b>Perioada</b>	<b>1999-2003</b>
<i>Funcția și postul ocupat</i>	Metodist principal (coordonator) specialitatea asistent de farmacie, Facultatea de Farmacie, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” din Chișinău; bd. Ștefan cel Mare și Sfânt, 165; <a href="http://www.usmf.md">www.usmf.md</a>
<i>Tipul activității</i>	Didactic
<b>Perioada</b>	<b>1997-prezent</b>
<i>Funcția și postul ocupat</i>	Șef de studii postuniversitare (rezidențiat, masterat, perfecționare continuă) la catedra Chimie farmaceutică și toxicologică; USMF „Nicolae Testemițanu” din Chișinău; bd. Ștefan cel Mare și Sfânt, 165; <a href="http://www.usmf.md">www.usmf.md</a>
<i>Tipul activității</i>	Didactic

**Perioada** 1995-2003  
*Funcția și postul ocupat* Lector superior universitar – Disciplinele chimie farmaceutică, controlul medicamentelor, analiza biofarmaceutică; Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” din Chișinău; bd. Ștefancel Mare și Sfânt, 165; [www.usmf.md](http://www.usmf.md)

*Tipul activității* Didactic

**Perioada** 1992-1994  
*Funcția și postul ocupat* Șef de studii (studenți) la catedra Chimie farmaceutică și toxicologică, Institutul de Stat de medicină din Chișinău;

*Tipul activității* Didactic

**Perioada** 1989-1995  
*Funcția și postul ocupat* Asistent universitar – Disciplina Chimie farmaceutică; catedra Chimie farmaceutică și toxicologică, Institutul de Stat de medicină din Chișinău

*Tipul activității* Didactic

## EDUCAȚIE ȘI FORMARE

**Perioada** Septembrie 1984– iunie 1989  
*Calificarea/diploma obținută* Studii superioare, farmacist (provizor), diploma IB nr. 962194 din 26.06.1989

*Discipline principale studiate*

- ◆ Chimie farmaceutică
- ◆ Tehnologia medicamentelor.
- ◆ Organizarea activității farmaceutice.
- ◆ Management farmaceutic.
- ◆ Controlul medicamentelor.
- ◆ Farmacologie.
- ◆ Farmacognozie.

*Numele și tipul instituției de învățământ* Institutul de Stat de medicină din Chișinău, RM

**Perioada** 1997-2001  
*Calificarea/diploma obținută* Studii în Doctorat, Adeverința nr. 5-2001 din 01.10.2001

*Discipline principale studiate*

- ◆ Limba franceză
- ◆ Filosofia științei și tehnicii
- ◆ Informatica
- ◆ Chimie farmaceutică
- ◆ Psihopedagogie

*Numele și tipul instituției de învățământ* Catedra Chimie farmaceutică și toxicologică, Universitatea de Stat Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” din Chișinău

**Perioada** Septembrie 2004 –iunie 2006  
*Calificarea/diploma obținută* Cursuri de limbi străine; Adeverință Nr. 11727 din 16.06.2006

*Discipline principale studiate* Limba engleză

*Numele și tipul instituției de învățământ* Direcția generală educație, știință, tineret și sport a Consiliului municipal Chișinău

**Perioada** 01.03-31.03.2005  
*Calificarea/diploma obținută* Curs de perfecționare didactică, Adeverință de confirmare

*Discipline principale studiate* Analiza și controlul medicamentelor – stagiere didactică

*Numele și tipul instituției de învățământ* Universitatea de Medicină și Farmacie "Iuliu Hațieganu" Cluj-Napoca, Romania

**Perioada** 01.03-31.03.2011  
*Calificarea/diploma obținută* Curs de perfecționare didactică, Adeverință de confirmare

*Discipline principale studiate* Analiza și controlul medicamentelor, chimie farmaceutică – stagiere didactică

*Numele și tipul instituției de învățământ* Universitatea de Medicină și Farmacie din Tîrgu Mureș, Romania

**Perioada** 01.03-31.03.2018  
*Calificarea/diploma obținută* Curs de perfecționare didactică, Adeverință de confirmare

*Discipline principale studiate* Chimie farmaceutică, Analiza și controlul medicamentelor,– stagiere didactică

*Numele și tipul instituției de învățământ* Universitatea de Medicină și Farmacie "Grigore T. Popa" din Iași, Romania

**Perioada** 03.04-28.04.2023

*Calificarea/diploma obținută* **Curs de perfecționare didactică, Adevăriniță de confirmare**

*Discipline principale studiate* Chimie farmaceutică, Analiza și controlul medicamentelor, – stagiere didactică

*Numele și tipul instituției de învățământ* Universitatea de Medicină și Farmacie "Grigore T. Popa" din Iași, Romania

## MOBILITĂȚI DIDACTICE ȘI DE CERCETARE

**Perioada** 01.03.2013-31.03.2013

*Program/proiect de mobilitate* Proiectul de mobilitate științifico-didactică CEEPUS (Centrul European Exchange Program for University Studies") la secțiunea Teaching and Learning Bioanalysis

*Calificarea/diploma obținută* CIII-RO-0010-07-1213-M-64009 for CIII-RO-0010-07-1213 – Teaching and Learning Bioanalysis;

*Numele și tipul instituției de învățământ* Universitatea de Medicină și Farmacie din Tîrgu Mureș, Romania

**Perioada** 28.06.2016-06.07.2014

*Program/proiect de mobilitate* Proiectul de mobilitate științifico-didactică CEEPUS (Centrul European Exchange Program for University Studies") la secțiunea Teaching and Learning Bioanalysis

*Calificarea/diploma obținută* CIII-RO-0010-08-1314-M-72104 for CIII-RO-0010-08-1314 – Teaching and Learning Bioanalysis;

*Numele și tipul instituției de învățământ* Department of Analytical Chemistry, Faculty of Natural Sciences, Comenius University in Bratislava, Slovakia.

**Perioada** 21.07.2015-31.07.2015

*Program/proiect de mobilitate* Proiectul de mobilitate științifico-didactică CEEPUS (Centrul European Exchange Program for University Studies") la secțiunea Teaching and Learning Bioanalysis

*Calificarea/diploma obținută* CIII-RO-0010-09-1415-M-81430 for CIII-RO-0010-09-1415 – Teaching and Learning Bioanalysis

*Numele și tipul instituției de învățământ* Universitatea de Medicină și Farmacie din Tîrgu Mureș, Romania

**Perioada** 02.03.2016-31.03.2016

*Program/proiect de mobilitate* Proiectul de mobilitate științifico-didactică CEEPUS (Centrul European Exchange Program for University Studies") la secțiunea Teaching and Learning Bioanalysis

*Calificarea/diploma obținută* CIII-RO-0010-10-1516-M-92363 for CIII-RO-0010-10-1516 – Teaching and Learning Bioanalysis

*Numele și tipul instituției de învățământ* "Iuliu Hatieganu" University of Medicine and Pharmacy of Cluj Napoca, Romania

**Perioada** 06.07.2016-15.07.2016

*Program/proiect de mobilitate* Proiectul de mobilitate științifico-didactică CEEPUS (Centrul European Exchange Program for University Studies") la secțiunea Teaching and Learning Bioanalysis

*Calificarea/diploma obținută* CIII-RO-0010-10-1516-M-96710 for CIII-RO-0010-10-1516 – Teaching and Learning Bioanalysis

*Numele și tipul instituției de învățământ* University of Warsaw, Department of Chemistry, Pasteura 1, Warsaw, Poland

**Perioada** 18.04.2017–22.04.2017

*Program/proiect de mobilitate* Erasmus+ International Credit Mobility, Erasmus Training Staff Exchange

*Calificarea/diploma obținută* Certificate 21/04/2017

*Numele și tipul instituției de învățământ* Institute of Pharmacy of the Faculty of Medicine of the University of Tartu, Estonia

**Perioada** 02.07.2017-08.07.2017

*Program/proiect de mobilitate* Proiectul de mobilitate științifico-didactică CEEPUS (Centrul European Exchange Program for University Studies") la secțiunea Teaching and Learning Bioanalysis

*Calificarea/diploma obținută* CIII-RO-0010-11-1617-M-102575 for CIII-RO-0010-11-1617 – Teaching and Learning Bioanalysis

*Numele și tipul instituției de învățământ* University Sts. Cyril and Methodius, Faculty of Natural Sciences and Mathematics, Skopje, Republic of Macedonia



<b>Perioada</b>	<b>11.04.2018-21.04.2018</b>
<i>Program/proiect de mobilitate</i>	Open World Moldova 2018 Program
<i>Calificarea/diploma obținută</i>	Certificate of recognition; Certificate of Completion
<i>Numele și tipul instituției de învățământ</i>	Eshelman School of Pharmacy, University of North Carolina, Chapel Hill, USA.
<b>Perioada</b>	<b>25.06.2018 - 30.06.2018</b>
<i>Program/proiect de mobilitate</i>	Proiectul de mobilitate științifico-didactică CEEPUS (Centrul European Exchange Program for University Studies”) la secțiunea Teaching and Learning Bioanalysis
<i>Calificarea/diploma obținută</i>	CIII-RO-0010-12-1718-M-118670 for CIII-RO-0010-12-1718 – Teaching and Learning Bioanalysis
<i>Numele și tipul instituției de învățământ</i>	J. Selye University, Departament of Chemistry, Faculty of Pedagogy, Komarno, Slovakia.
<b>Perioada</b>	<b>14.04.2019 - 20.04.2019</b>
<i>Program/proiect de mobilitate</i>	Proiectul de mobilitate științifico-didactică CEEPUS (Centrul European Exchange Program for University Studies”) la secțiunea Teaching and Learning Bioanalysis
<i>Calificarea/diploma obținută</i>	CIII-RO-0010-13-1819-M-124918 for CIII-RO-0010-13-1819 – Teaching and Learning Bioanalysis
<i>Numele și tipul instituției de învățământ</i>	Comenius University in Bratislava, Department of Analytical Chemistry, faculty of Natural Sciences, Comenius University in Bratislava, Slovakia
<b>Perioada</b>	<b>07.07.2019 - 13.07.2019</b>
<i>Program/proiect de mobilitate</i>	Proiectul de mobilitate științifico-didactică CEEPUS (Centrul European Exchange Program for University Studies”) la secțiunea Teaching and Learning Bioanalysis
<i>Calificarea/diploma obținută</i>	CIII-RO-0010-13-1819-M-128264 for CIII-RO-0010-13-1819 – Teaching and Learning Bioanalysis
<i>Numele și tipul instituției de învățământ</i>	"Iuliu Hatieganu" University of Medicine and Pharmacy of Cluj Napoca, Romania
<b>Perioada</b>	<b>02.05.2022 – 06.05.2022</b>
<i>Program/proiect de mobilitate</i>	Erasmus+ International Credit Mobility, Erasmus Teaching Mobility (5 days/8hours of teaching activity)
<i>Calificarea/diploma obținută</i>	Certificate 06/05/2022/RO TARGU02
<i>Numele și tipul instituției de învățământ</i>	George Emil Palade University of Medicine, Pharmacy, Science and Technology of Targu Mures, Romania.
<b>Perioada</b>	<b>22.06.2022 - 30.06.2022</b>
<i>Program/proiect de mobilitate</i>	Proiectul de mobilitate științifico-didactică CEEPUS (Centrul European Exchange Program for University Studies”) la secțiunea Teaching and Learning Bioanalysis
<i>Calificarea/diploma obținută</i>	RO-0010-17-2223 For M-RO-0010-2223-166542 – Teaching and Learning Bioanalysis
<i>Numele și tipul instituției de învățământ</i>	Department of Analytical Chemistry, Fac. of Sciences and Institute of Bioanalysis, Fac. of Medicine, University of Pécs, Hungary.
<b>Perioada</b>	<b>03.07.2023 – 28.07.2023</b>
<i>Calificarea/diploma obținută</i>	Proiectul de mobilitate științifico-didactică CEEPUS (Centrul European Exchange Program for University Studies”) la secțiunea Teaching and Learning Bioanalysis
<i>Numele și tipul instituției de învățământ</i>	RO-0010-16-2122 For M-RO-0010-2122-158546 – Teaching and Learning Bioanalysis
<i>Program/proiect de mobilitate</i>	Department of Physical Chemistry, Fac. of Pharmacy, ”George Emil Palade” University of Medicine, Pharmacy, Science and Technology of Targu Mures, Romania.

#### ALTE FORMĂRI/INSTRUIRI (cele mai relevante)

- ◆ **Educație profesională continuă:**
- Mai 2009 ✓ Actualități ale farmacologiei și farmacotoxicologiei în practica medicală și farmaceutică, 90 ore; Universitatea de Stat de medicină și farmacie „Nicolae Testemițanu” din Chișinău
- ◆ **Asigurarea calității:**
- Aprilie 2009 ✓ Auditor al Sistemului de Management al Calității ISO 9001:2008 AJA Registrars, România

- Martie 2019* ✓ Sistemul de asigurare a calității educației în corespundere cu standardele Federației Mondiale a Educației Medicale (WFME; Certificat N 2216-19 din 27.03.2019)
- ✓ **Managementul proiectelor de cercetare:**
- 23.01.2015* ✓ Seminar de informare cu privire la oportunitățile programului cadru Orizont 2020 organizat de Academia de științe din Republica Moldova.
- 09-12.11.2015* ✓ Zilele Științei naționale și Internaționale: lansarea apelurilor pentru 2016-2017 în cadrul programului UE „Orizont 2020”. Academia de științe din RM
- ✓ **Participări la conferințe:**
- 14.09.2011* ✓ Conferința republicană științifico-practică „Calitatea activității farmaceutice prin prisma regulilor de bune practici”, Chișinău.
- 16-18.09.2008* ✓ The XIII-th session of the Balkan medical days
- 19-20.04. 2012* ✓ Міжнародна наукова конференція студентів та молодих вчених «Молодь – медицині майбутнього» ПРИСВЯЧЕНА 165-РІЧЧЮ З ДНЯ НАРОДЖЕННЯ В.В. ПІДВИСОЦЬКОГО, Одеса, Україна.
- 13. -16.10. 2010* ✓ The XIV National Congress of Pharmacy from Romania, (cu participare internațională). Tirgu-Mures
- 22-24.09.2013* ✓ The XIV-th session of the Balkan medical days, Chișinău,
- 19-22 .11.2013* ✓ Expoziția Internațională Specializată Infoinvent, ediția XIII-a. Chișinău,
- 24. -27.09. 2014* ✓ The XV National Congress of Pharmacy from Romania, (cu participare internațională). Iași
- 27-29.04.2015* ✓ Conferința Internațională a Decanilor Facultăților de Farmacie de Expresie Franceză ediția a XIV-a (CIDPHARMEF), UMF ”Iuliu Hațieganu”, Cluj Napoca, România,
- 17-18.06. 2016* ✓ Conferința națională de farmacie clinică Ediția I. "Farmacia Clinică - noi frontiere". București, România
- 28.09-01.10.2016* ✓ Al XVI-lea Congres Național de Farmacie din România, București, România
- 15-17.06.2017* ✓ Conferința Națională de Farmacie Clinică, ediția a II-a “Provocări ale farmacoterapiei contemporane”. București, România
- 02-08.07. 2017* ✓ 17th International Symposium and Summer School on Bioanalysis. Congress Centre, Ohrid, Republic of Macedonia
- 16-20.10.2017* ✓ Conferința științifică anuală, consacrate aniversării a 90-a de la nașterea ilustrului medic și savant Nicolae Testemițanu
- 29-31 martie 2018.* ✓ Simpozionul Național ”Medicamentul de la idee la clinică”, sub egida Zilele Medicamentului: ediția a XXVI-a, Iași. Premiul I.
- July 8-13, 2019.* ✓ The 19th International Symposium and Summer School on Bioanalysis. Suior, Romania,
- 19-21 septembrie 2019.* ✓ Conferința națională de Farmacie Clinică, ediția a treia ”Farmacia clinică în secolul XXI”, București, România.
- 30.12-02.12. 2019* ✓ Международная конференция Медицинское образование XXI века: разработка модели «Университет 3.0» Витебск, Республика Беларусь.
- December 9-14, 2019,* ✓ Scientific session of University academic staff, George Emil Palade University of Medicine, Pharmacy, Science and Technology of Targu Mures, University days, Targu Mures, Romania.
- 31 ianuarie 2020* ✓ Conferință științifică cu genericul ”Obținerea și cercetarea farmaceutică a unor noi molecule și produse farmaceutice cu potențial terapeutic”. Chișinău, Republica Moldova.
- 21-23 octombrie 2020,* ✓ Congresul consacrat aniversării a 75-a de la fondarea USMF ”Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova.
- 29th – 31st of July 2020* ✓ The 24th international exhibition of inventions, Inventica 2020, Iași, România,
- 1-5 noiembrie 2021* ✓ Современные технологии в медицинском образовании: материалы международной научно-практической конференции, посвященной 100-летию Белорус. гос. мед. ун-та, Республика Беларусь, г. Минск, Минск:
- 15-17 septembrie, 2021* ✓ Congresului Național de Farmacie, Ed. XVIII-a, Oradea, România.
- 29 septembrie 2021,* ✓ Conferinței științifico-practice cu participare internațională “Sistemul de asigurare a calității medicamentului – probleme și soluții ”, Chișinău, Republica Moldova
- 14 mai, 2021* ✓ Conferința științifică cu participare internațională „Perspective în Cercetarea Produselor Farmaceutice de Origine Sintetică și Naturală”, Chișinău, Republica Moldova.
- 20-22 octombrie, 2021* ✓ Conferința științifică anuală cu genericul “Cercetarea în biomedicină și sănătate: calitate, excelență și performanță”, Chișinău, Republica Moldova.

- 24-30 iunie, 2022, ✓ 20th International Symposium and Summer School on Bioanalysis, the Medical School of the University, Pécs, Hungary
- 19-21 octombrie, 2022 ✓ Conferința științifică anuală cu genericul "Cercetarea în biomedicină și sănătate: calitate, excelență și performanță", Chișinău, Republica Moldova.
- 7-9 June, 2023 ✓ The 37th Balkan Medical Week: "Perspectives of the Balkan Medicine in the post COVID-19 era and 8 th Congress on Urology, dialysis and kidney transplant from the Republic of Moldova with international participation: "New horizons in urology", Chișinău, Republic of Moldova.
- 10-15th july, 2023, ✓ 21st International Symposium and Summer School on Bioanalysis(21stISSSB), „George Emil Palade” University of Medicine, Pharmacy, Science and Technology of Târgu Mureș, Romania,
- 27-29 septembrie, 2023 ✓ Congresul Național de Farmacie, Ediția a XIX-a, Cluj-Napoca, România.
- 18-20 octombrie, 2023 ✓ Conferința științifică anuală cu genericul "Cercetarea în biomedicină și sănătate: calitate, excelență și performanță", Chișinău, Republica Moldova.

#### **DOMENIUL DE ACTIVITATE ȘTIINȚIFICĂ**

- Specialitatea de bază* 316.01 – Farmacia
- Domenii de cercetare* Analiza și controlul medicamentelor; Chimie farmaceutică; Chimie medicală; Tehnologia medicamentelor; Fitochimie; Bioanaliză;
- Tema tezei de doctorat* Analiza și standardizarea difeturului, profeturului și a formelor lor farmaceutice
- Tema tezei de doctor habilitat aprobată, în lucru* Elaborarea produselor farmaceutice combinate utilizate în terapia afecțiunilor urechii

#### **PARTICIPAREA LA PROIECTE**

- Anii 2014-2015* Proiect internațional: Conducător de proiect, Proiect de cercetare bilaterală moldo-român „Screening toxicologic și farmacologic asupra unui nou compus antimicobacterian, derivat al 5-aril-2-tio-1,3,4-oxadiazolului”, contract de finanțare nr. 05/09/12-2013, cod 182/09/12-2013.
- Anul 2012* Proiect de transfer tehnologic: Conducător de proiect, „Elaborarea și implementarea soluției antiseptice pentru mâni Aseptomin-RNP” nr. 19 din 17.01.2012, Codul proiectului: 12.824.09.152T;
- Anii 2005-2006* Proiect de transfer tehnologic: Executant, „Elaborarea și implementarea în practica medicală a unui nou preparat antihipotensiv-difetur”. nr. 43 din 30.02.2005, Codul proiectului: 52.002.T.
- Anii 2007-2008* Proiect din cadrul Programului de Stat: Elaborarea și implementarea noilor preparate farmaceutice în baza utilizării materiei prime locale” 07.420.01.01-PA: Executant, „Prođuși izotioureicivasoactivi” Codul proiectului: 056 /P.
- Anii 2007-2008* Proiect din cadrul Programului de Stat: Elaborarea și implementarea noilor preparate farmaceutice în baza utilizării materiei prime locale” 07.420.01.01-PA: Executant, „Obținerea, studiul proprietăților antibacteriene și farmaceutice, elaborarea documentației analitice de normare a calității și tehnologiei de preparare a remediului „Izohidrofural”, Codul proiectului: 052/p.
- Anii 2009-2010* Proiect din cadrul Programului de Stat: Elaborarea și implementarea noilor preparate farmaceutice în baza utilizării materiei prime locale” 07.420.01.01-PA: Executant, „Elaborarea și implementarea în practica medicală a unei noi forme medicamentoase - unguent Izohidrafural, Codul proiectului: 09.816.09.04 A.
- Anii 2016-2017* Proiect din cadrul Programului de Stat: Executant, „Elaborarea produselor farmaceutice în baza design-ului molecular a unor noi substanțe chimice cu acțiune antituberculoasă și antineoplazică”, 16.00353.80.01A
- Anii 2006-2010* Proiect instituțional: Executant, „Elaborarea, studierea, producerea și standardizarea medicamentelor autohtone din materie primă locală” Codul proiectului: 06.420.039A;
- Anii 2011-2014:* Proiect instituțional: Executant, „Studii privind elaborarea și implementarea unor medicamente indigene destinate optimizării farmacoterapiei bazate pe dovezi” nr. de înregistrare 521 INST did12 ianuarie 2011, Codul proiectului: 11.817.09.15A.
- Anii 2016-2018* Proiect internațional bilateral: Executant, „Dezvoltarea unor noi fluorochinolone cu activitatea asupra unor bacterii FQMDR”, Codul proiectului: 16.80013.16.04.15/Ro
- Anii 2015-2019:* Proiect instituțional: Executant, „Cercetări complexe în domeniul elaborării și implementării de noi forme farmaceutice ale medicamentelor de origine vegetală și obținute prin sinteză”, 15.817.04.44A
- Anii 2019-2020* Proiect internațional bilateral: Executant, „Obținerea și cercetarea farmaceutică a derivaților de propiltiodiazolochinazolin-onă cu proprietăți biofarmaceutice

- optimizate”; 19.80013.80.07.08A/BL;
- Anii 2019-2021* Proiect internațional trilateral: Executant: Proiect de cercetare finanțat de AUF-IFA în parteneriat cu Universitatea de Medicină și Farmacie «Grigore T. Popa» din Iași, România (Coordonator) și Universitatea din Orléans, Franța (partener): «Sinteza de molecule bioactive cu acțiune antiinflamatoare» - BioChemInflam.
- Anii 2020-2023* Proiect de Stat: „Cercetări complexe de elaborare a noilor produse farmaceutice antiinfecțioase autohtone pentru optimizarea farmacoterapiei afecțiunilor stomatologice, orofaringiene și auriculare”, 20.80009.8007.14.
- Anii 2023-2025* Proiect al Ministerului Educației „Învățământului Superior din Moldova”, finanțat de Banca Mondială; manager adjunct, Modernizarea și fortificarea educației prin cercetare în farmacie și medicină în cadrul USMF „Nicolae Testemițanu”, (FORCE-Farm), contract de finanțare Nr. MD-MOED-6542-ASF-U2-09 din 27 noiembrie 2023
- Anii 2024-2027* Proiect instituțional, cercetător științific coordonator

## **PARTICIPĂRI ÎN ACTIVITĂȚI DE EXPERTIZĂ, CONSULTANȚĂ**

- 1999 – prezent* Expert pentru examinarea și recenzarea dosarelor farmaceutice, prezentate pentru înregistrarea medicamentelor în Republica Moldova în cadrul Institutului Național de Farmacie, ulterior Agenția Medicamentului și Dispozitivelor Medicale.
- 2003 – prezent* Membru al Comisiei Metodice de profil Farmacie din RM
- 2004-2016;* Membru al Seminarului științifice de profil 316 Farmacie din RM
- 2020 - prezent*
- 2006-prezent* Vice-președinte al Consiliului Facultății de Farmacie
- 2017-prezent* Președinte al Comisiei de Asigurare a Calității și Evaluare Curriculară a Facultății de Farmacie
- 2017-prezent* Membru al Consiliului de Management a Calității USMF ”Nicolae Testemițanu”
- 2018-prezent* Membru al Grupului de lucru pentru elaborarea calificărilor pentru domeniul general de studiu/educație Sănătate, programul de studii superioare integrate 0916.1 Farmacie, ordin MECC 1547 din 18.10.2018
- 2018-prezent* Membru al Grupului de lucru pentru elaborarea calificărilor pentru domeniul general de studiu/educație Sănătate, programul de studii 91610 Farmacie, calificarea Asistent farmacist, ordin MECC 1547 din 18.10.2018
- 2004-prezent* Membru al Colegiului de redacție la Revista farmaceutică a Moldovei
- 2018-prezent* Recenzent pentru revista internațională Biomedical Chromatography, IF 1,728 (Wiley Online Library); Online ISSN:1099-0801
- 2021-prezent* Recenzent la 6 reviste internaționale indexate în baze de date:  
[Asian Hematology Research Journal](#)  
[European Journal of Medicinal Plants](#)  
[Asian Journal of Chemical Sciences](#)  
[Asian Journal of Research in Medical and Pharmaceutical Sciences](#)  
[Advances in Research](#)  
[International Journal of Research and Reports in Hematology](#)
- 2018* Membru al Comitetului științific al Conferinței științifice cu participare internațională „FARMACIA ETICĂ: ISTORIE, REALITĂȚI ȘI PERSPECTIVE”, Chișinău, 19-21 aprilie 2018
- 2018* Membru al Colegiului de redacție pentru Culegerea de rezumate a ediției a 7-a a Congresului Internațional MedEspera, 2018
- 2019* Recenzent pentru Culegerea de rezumate al 19-lea Simpozion și Scoala de vară CEEPUS ”Teaching and learning bioanalysis”, Cluj Napoca, 2019.
- 2016, 2017, 2018, 2019* Membru a Comitetului științific al Conferinței naționale de Farmacie Clinică, București, România.
- 2019* Expert a propunerilor de proiecte din cadrul concursului comun de proiecte de cercetare lansat de Ministerul Educației, Culturii și Cercetării și Agenția Universitară Francofonă pentru anul 2019, în perioada 27-29 noiembrie 2019, Ordinul MECC Nr. 1549 din 27.11.2019, Direcția strategică ”Produse inovative”. Adevăriniță Nr. 062 din 06.12.2019.
- 2019* Membru a Comitetului științific al Congresului asociației studenților-farmacisti din RM dedicat aniversării a 55-a a Facultății de Farmacie ”Drug and Pharmacist: news and perspectives”, 14-16 noiembrie 2019, Chișinău, Republica Moldova.
- 2020* Vice-președinte Comitet de organizare a Conferinței științifice cu genericul ”Obținerea și cercetarea farmaceutică a unor noi molecule și produse farmaceutice cu potențial terapeutic”. 31 ianuarie 2020, Chișinău, Republica Moldova.

- 2020 Membru a Comitetului științific al Congresul consacrat aniversării a 75-a de la fondarea USMF "Nicolae Testemițanu", 21-23 octombrie 2020, Chișinău, Republica Moldova.
- 2020 Membru a Comitetului științific al MedEspera 2020, The 8th International Medical Congress for Students and Young Doctors. September 24-26
- 2021 Membru a Comitetului științific al Conferinței științifico-practice ABORDAREA SISTEMICĂ – METODOLOGIE ÎN CERCETAREA FARMACEUTICĂ, 16 aprilie 2021.
- 2021 Președinte a Comitetului științific și Vice-președinte Comitet de organizare a Conferinței științifice cu participare internațională cu genericul: „PERSPECTIVE ÎN CERCETAREA PRODUSELOR FARMACEUTICE DE ORIGINE SINTETICĂ ȘI NATURALĂ”. Chișinău, 14.05. 2021.
- 2021, 2022, 2023 Membru al Comitetului științific la Conferința științifică anuală "Cercetarea în biomedicină și sănătate: calitate, excelență și performanță", Chișinău, octombrie
- 2022 Membru a Comitetului științific al Congresului MedEspera 2022, The 9th International Medical Congress for Students and Young Doctors, May 12-14
- 2022 Membru a Comitetului științific al „20th International Symposium and Summer School on Bioanalysis, Pécs, Hungary, 24-30 iunie.
- 2023 Membru a Comitetului științific al 21st International Symposium and Summer School on Bioanalysis(21stISSB), Târgu Mureș, Romania.
- 2023 Membru a Comitetului de organizare al Conferinței științifice cu participare internațională „Direcții de reformare a sistemului farmaceutic din perspectiva cursului european al Republicii Moldova, Ed. Ediția a 2-a, 28 aprilie, Chișinău.
- 2023 Membru a Comitetului științific al „The 37 th Balkan Medical Week: "Perspectives of the Balkan Medicine in the post COVID-19 era", Chișinău, 7-9 June.

#### **DATE STATISTICE PRIVIND NUMĂRUL TOTAL DE PUBLICAȚII ȘTIINȚIFICE ȘI METODICO-DIDACTICE**

- Autor și coautor*
- ◆ 287 publicații științifice și metodico-didactice: 111 articole și 158 teze; 1 manual; 1 monografie; 11 recomandări/indicații metodice
  - ◆ 1 brevet de invenție
  - ◆ 1 certificat cu drept de autor;
  - ◆ 13 certificate de inovator
  - ◆ 157 materiale ale comunicărilor științifice internaționale și naționale
  - ◆ 12 Monografii Farmaceutice aprobate
  - ◆ 10 Regulamente tehnologice de producere aprobate
  - ◆ 7 proiecte de Monografii Farmaceutice
  - ◆ 3 proiecte de Regulamente tehnologice de producere
  - ◆ 9 rapoarte de stabilitate

#### **ALTE ACTIVITĂȚI**

- 1993-1994 Secretar al Comisiei pentru Examenul de absolvire a studenților Facultatea de farmacie
- 1997-1999
- 1997–2006 Secretar al Consiliului Facultății de Farmacie și Biroului Facultății Farmacie a USMF "Nicolae Testemițanu"
- 2014–în prezent Membru al Comisiei de Atestare a Farmaciștilor pe lângă MSRM;
- 2017-prezent Membru al Comitetului Executiv al Asociației Farmaciștilor din Republica Moldova
- 2013-prezent Membru al Consiliului Republican al Asociației Farmaciștilor din Republica Moldova

#### **DIPLOME, MENȚIUNI**

- Anul 2007 Premiul Academiei de Științe din RM pentru excelență în cercetare; Academia de Științe din RM
- 25-27 septembrie, 2014 Salonul Național al Cercetării și Inovării, Bacău, România. Medalie de aur.
- 11 decembrie 2014 Concursul „TOPUL INOVATIILOR”, editai a V-a, Chișinău, Republica Moldova, Locul I secția Sănătate și Biomedicina.
- 14-16 mai, 2015. Expoziția Internațională Specializată EUROINVENT, Medalie de aur, Mențiune speciala oferita de World Inventors Association; Iași, Romania,
- 23-25 martie, 2016 Expoziția Internațională Specializată PROINVENT ediția a XIV-a. Cluj-Napoca, Romania, 2016, Medalie de aur.
- 20-21 mai, 2016 Expoziția Internațională Specializată EUROINVENT, ediția a VIII-a. Iași, Romania, Medalie de aur.
- 28-30 iunie 2016 Expoziția Internațională Specializată INVENTICA,, Iași, Romania, Medalie de aur

15 iunie 2018	Salonul Internațional de Invenții și Inovații „Traian Vuia”, Timișoara. Medalie de aur.
29 – 31 iulie 2020	The 24th international exhibition of inventions, Inventica 2020, Iași, România, Diplomă de excelență.
2021	Diploma Ministerului Sănătății, Muncii și Protecției Sociale
28 mai 2022	Expoziția Europeană de creativitate și inovație Euroinvent, ed. 14: Diplomă, Medalie de argint
8-10 octombrie 2022	Salonul internațional de invenții și inovații „Traian Vuia”, Timișoara, România: Medalie de argint; Premiu de excelență și Medalie de aur a Asociației Române de pterologie
13 mai 2023	Expoziția Europeană de creativitate și inovație Euroinvent, ed. 15: Diplomă, Medalie de bronz
2023	Diploma Academiei de Științe din Republica Moldova

**Aptitudini și competențe personale**

*Limba maternă*  
*Autoevaluare*  
*Nivel european (\*)*

Română

**Înțelegere**

**Vorbire**

**Scriere**

	Ascultare	Citire	Participare la conversație	Discurs oral	Exprimare scrisă
<b>Engleza</b>	B2	B2	B2	B2	B2
<b>Franceza</b>	B1	B1	B1	B1	B1
<b>Rusa</b>	C2	C2	C2	C2	C2

(\*) *Nivelul Cadrului European Comun de Referință Pentru Limbi Străine*

*Competențe și aptitudini PC*

Windows, MS Office applications: Word, Excel, Power Point; Internet, Sisteme Informaționale Automatizate

*Competențe organizaționale/manageriale*

- ◆ Capacitate de analiză și sinteză.
- ◆ Responsabilitate.
- ◆ Organizator de manifestări științifice locale și naționale
- ◆ Organizarea și conducere departamentală (șef de discipline, șef de studii)
- ◆ Organizarea și coordonarea activității facultății de farmacie în calitate de prodecan
- ◆ Punctualitate, coordonare, lucru în echipă
- ◆ Autoperfecționare.
- ◆ Capacitatea de evaluare și îmbunătățire.
- ◆ Coordonare.

**Informații suplimentare**

Căsătorită, 2 copii.  
Permis de conducere - Categoria B

**Persoane de referință:**

Vladimir Valica, dr. hab. șt. farm., prof. univ., șef Catedră de chimie farmaceutică și toxicologică; [vladimir.valica@usmf.md](mailto:vladimir.valica@usmf.md), tel. mob. (+373) 69297935.

Nicolae Ciobanu, dr. șt. farm., conf. univ., Decan Facultatea de Farmacie; șef Catedră de tehnologie a medicamentelor; [nicolae.ciobanu@usmf.md](mailto:nicolae.ciobanu@usmf.md), tel. mob. (+373) 69230236.