

**MINISTERUL SĂNĂTĂȚII AL REPUBLICII MOLDOVA
IP 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

Rezumatul tezei de doctor habilitat în științe farmaceutice

CHIȘINĂU, 2024

Teza a fost elaborată în cadrul Centrului Științific al Medicamentelor,
IP Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” din Republica Moldova

Consultanți științifici:

Valica Vladimir, doctor habilitat în științe farmaceutice, profesor universitar

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

Referenți oficiali:

Safta Vladimir, doctor habilitat în științe farmaceutice, profesor universitar

Hăncianu Monica, doctor în științe farmaceutice, profesor universitar, Universitatea de
Medicină și Farmacie „Gr. T. Popa”, Iași, România

Ciurba Adriana Daniela, doctor în științe farmaceutice, profesor universitar, Universitatea de
Medicină, Farmacie, Științe și Tehnologii „G. E. Palade”, Târgu Mureș, România

Componența Consiliului științific specializat:

Diug Eugen, președinte CȘS, doctor habilitat în științe farmaceutice, profesor universitar

Adauji Stela, secretar științific CȘS, doctor în științe farmaceutice, conferențiar universitar

Muntean Daniela Lucia, doctor în științe farmaceutice, profesor universitar, Universitatea de
Medicină, Farmacie, Științe și Tehnologie „G. E. Palade”, Târgu Mureș, România

Mircea Cornelia Geanina, doctor în științe farmaceutice, profesor universitar,
Universitatea de Medicină și Farmacie „Gr. T. Popa”, Iași, România

Parii Sergiu, doctor habilitat în științe medicale, conferențiar cercetător

Macaev Fliur, doctor habilitat în științe chimice, profesor cercetător, m.c. al AȘM

Ciobanu Nicolae, doctor în științe farmaceutice, conferențiar universitar

Susținerea va avea loc la 10 iulie 2024, ora 14.00, în ședința Consiliului științific specializat
DH 316.01-24-3 din cadrul Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” din
Republica Moldova (bd. Stefan cel Mare și Sfânt nr. 165, sala 205, mun. Chișinău, MD-2004).

Teza de doctor habilitat și rezumatul pot fi consultate la biblioteca Universității de Stat de
Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” din Republica Moldova și pe pagina web a
ANACEC (www.anacec.md).

Rezumatul a fost expediat la 10 iunie 2024.

Secretar științific al Consiliului științific specializat:

Adauji Stela, dr. șt. farm., conf. univ.

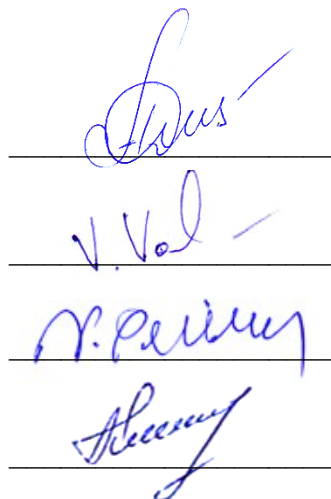
Consultanți științifici:

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

Prisăcari Viorel, dr. hab. șt. med., prof. univ. m.c. al AȘM

Autor:

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



CUPRINS

REPERE CONCEPTUALE ALE CERCETĂRII	4
CONȚINUTUL TEZEI	8
1. CERCETAREA ȘI UTILIZAREA PRODUSELOR FARMACEUTICE COMBINATE	8
2. MATERIALE ȘI METODE DE CERCETARE	8
2.1. Metodologia de cercetare/dezvoltare a produselor farmaceutice combinate.....	8
2.2. Materiale folosite în procesul de elaborare a formelor farmaceutice auriculare	9
2.3. Metode aplicate în procesul de cercetare și aparatul utilizat.....	9
3. PREFORMULAREA, OPTIMIZAREA ȘI TEHNOLOGIA PRODUSELOR FARMACEUTICE COMBINATE PENTRU TRATAMENTUL UNOR AFECȚIUNI AURICULARE	10
3.1. Studiul pieței farmaceutice naționale a produselor farmaceutice combinate utilizate în tratamentul bolilor urechii.....	10
3.2. Preformularea picăturilor auriculare combinate.....	12
3.3. Preformularea capsulelor combinate pentru tratamentul hipoacuziei senzoriale cu conținut de PIR, NIC și EP	17
3.4. Optimizarea și tehnologia de obținere a picăturilor auriculare combinate	21
3.5. Optimizarea și tehnologia de obținere a capsulelor combinate	24
4. ANALIZA ȘI STANDARDIZAREA FORMELOR FARMACEUTICE ELABORATE: PICĂTURI AURICULARE ȘI CAPSULE COMBINATE.....	26
4.1. Analiza picăturilor auriculare cu conținut de IHF și MU	26
4.2. Analiza picăturilor auriculare cu conținut de EC, CIP și UVB.....	29
4.3. Analiza capsulelor combinate cu PIR, NIC și EP	33
4.4. Standardizarea picăturilor auriculare combinate	35
4.5. Standardizarea capsulelor combinate.....	36
5. STUDII DE INOFENSIVITATE ȘI EFICACITATE A PICĂTURILOR AURICULARE COMBINATE ȘI A CAPSULELOR ELABORATE.....	37
5.1. Determinarea toxicității acute a picăturilor auriculare și capsulelor combinate	37
5.2. Studii de ototoxicitate pentru produsele farmaceutice combinate elaborate	39
5.3. Cercetarea activității antibacteriene și antifungice a picăturilor auriculare antibacteriene și antifungice	40
5.4. Studiul activității antioxidante a capsulelor combinate.....	41
CONCLUZII ȘI RECOMANDĂRI	42
BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ.....	44
LISTA PUBLICAȚIILOR LA TEMA TEZEI	46
ADNOTARE.....	56
АННОТАЦИЯ	57
ABSTRACT	57

REPERE CONCEPTUALE ALE CERCETĂRII

Actualitatea. 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 mulți-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 mult component reprezintă aproximativ o treime din medicamentele utilizate în practica generală și o cincime din terapia spitalicească. 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 mult component cu doze fixe elaborate anual a crescut de la 12 în 1980 la 25 în 1990 și la 58 în 2000 [29, 18].

Medicamentele mult component 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 [5].

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 [11, 12, 36].

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. 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 [38].

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 [2, 37]. 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 [6]. În Republica Moldova incidența totală prin bolile urechii se află la cote sporite. Cel puțin 30% din populație măcar o dată în viață a suferit de puseu de otită medie acută [33].

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, și acest număr va crește la aproape 2,5 miliarde până în 2050 [20]. 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 senzorieurală [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 senzorieurală [24, 34, 38].

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, patogeniza și localizarea maladiei auriculare, una dintre cele mai des utilizate forme farmaceutice pentru tratamentul acestor afecțiuni sunt picăturile auriculare combinate.

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 senzorieurală 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 [8, 11]. În corelare cu conceptele de medicație modernă a patologilor ORL [7] și principiile generale ale metodologiei cercetării științifice farmaceutice (drug development) [39, 32] 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 [11] au servit ca reper pentru elaborarea schemei de principiu de cercetare/ elaborare/ dezvoltare a unui produs farmaceutic combinat.

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. 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 [31].

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 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 [14, 21, 22, 23].

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. 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.

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 patologiilor 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 patologiilor 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.

Implementarea rezultatelor științifice. În baza rezultatelor obținute au fost elaborate Documente analitice de normare a calității (3 Monografii farmaceutice și 3 Regulamente tehnologice), modificate 3 curriculum ale disciplinelor și elaborate 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 Centrului Științific al Medicamentului (CȘM) și Centrului Farmaceutic Universitar „Vasile Procopișin”.

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 studenți. 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, dintre care: congrese internaționale – 3 comunicări cu publicații (inclusiv 1 în plen) și 4 postere cu publicații; conferințe internaționale – 15 comunicări cu publicații (inclusiv 3 în plen) și 11 postere cu publicații; congrese naționale cu participare internațională – 7 postere cu publicații și 2 comunicări orale fără publicații; conferințe naționale cu participare internațională – 5 comunicări (inclusiv 1 în plen) și 15 postere cu publicații; 5 comunicări fără publicații (inclusiv 2 în plen); conferințe naționale – 2 comunicări cu publicații și 3 postere cu publicații; 2 comunicări fără publicații.

Conținutul 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.

CONȚINUTUL TEZEI

1. CERCETAREA ȘI UTILIZAREA PRODUSELOR FARMACEUTICE COMBinate

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 senzoriele a demonstrat actualitatea și necesitatea terapiei concomitente complexe cu mai multe preparate a acestor patologii, și importanța cercetărilor de elaborare 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, regenerantelor 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. [10].

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. 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. [30, 4]. 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 [25].

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.

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 1.

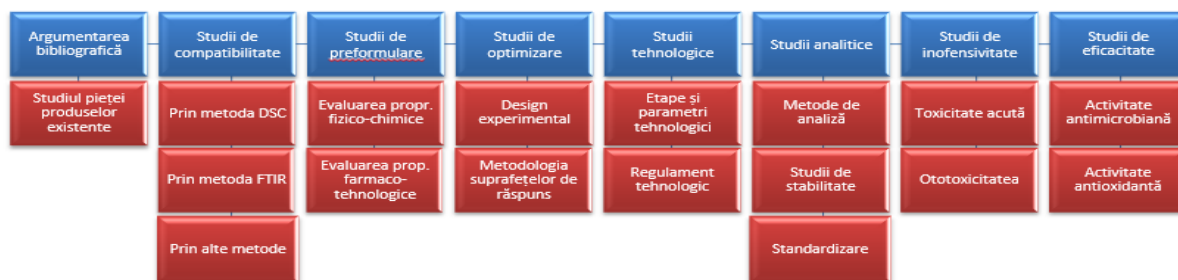


Fig. 1 . Metodologia de cercetare/dezvoltare preclinică a produselor farmaceutice combinate aplicată în lucrare

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.

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 (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 permisi 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, β -pinen și α -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 flavonoizide.

Formele farmaceutice au fost elaborate și preparate în serii experimentale de laborator: 3 serii de capsule operculate cu conținut de NIC, PIR și EP; 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 aplicate în procesul de cercetare și aparatajul utilizat

În studiu au fost aplicate metode instrumentale de analiză calitativă și cantitativă, exacte și sensibile. Studiile de compatibilitate prin metoda DSC s-au realizat cu utilizarea sistemului Mettler Toledo 822, pe probele substanțelor medicamentoase pure de IHF, MU, EC, CIP, NIC, PIR, EP și excipienții individuali și amestecuri binare 1:1 (m/m) de substanțe medicamentoase pure. Rezultatele obținute prin aplicarea metodei DSC au fost confirmate prin aplicarea metodelor FT IR (SPECTRUM 100 (PERKIN ELMER, SUA) prin reflexie total atenuată) și difracției cu raze X (difractometru Bruker D8 Advance în geometria BraggBrentano). Studiile analitice au fost realizate prin aplicarea metodelor: spectroforometria UV-Vis (spectrofotometrele Shimadzu 1800, Japonia, Agilent Technologies 8453 și

Lambda 25 Perkin Elmer, USA), CSS; HPLC (Shimadzu HIGH Performance liquid chromatograph LC-20 A, cu detecție UV-Vis), GC (cromatograful de gaze Agilent Tehnologies 7890A), MS (spectrometrul de masă Q-Exactive Pulse (Thermo Scientific) echipat cu o sursă de ioni de electrospray (HESI). 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. În studiile de cedare *in vitro* au fost utilizate: *Aparatul de dizolvare* cu 8 poziții ELECTROLAB DISSOLUTION TESTER (Chem Lab Belgia). Analizele reologice ale picăturilor auriculare s-au efectuat la viscozimetrul rotațional MultiVisc Rheometer, Fungilab. Toate determinările au îndeplinit rigorile stipulate de Ph. Eur.

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 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. Ototoxicitatea s-a determinat prin evaluarea reflexului Preyer și otoscopie AD, AS. Activitatea antibacteriană și antifungică s-a determinat prin metoda diluțiilor în serie și prin teste PCR în timp real. Activitatea antioxidantă s-a determinat utilizând metodele de captare a radicalului organic DPPH· și de decolorare a cation-radicalului ABTS•+, precum și determinarea capacității de chelare a Fe²⁺.

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 bolilor urechii

Actualmente este evidentă tendința de creștere a numărului de medicamente combinate la nivel global. S-a constatat, că aproximativ 20% din produsele medicamentoase prezente pe piața farmaceutică autohtonă sunt combinații fixe. Conform datelor din Nomenclatorul de Stat al Medicamentelor din Republica Moldova (RM) (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 2).

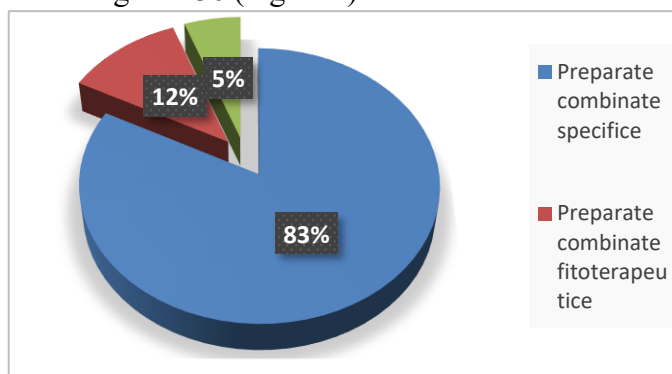


Fig. 2. Numărul și ponderea fiecărui tip de preparate combinate înregistrate în RM

La evaluarea preparatelor combinate conform codului ATC, în grupul de medicamente „Organe sensitive” s-a constatat o cotă procentuală minimă din numărul total de medicamente înregistrate (<0,9%), iar cele utilizate în afecțiunile urechii ocupă un procent și mai mic (Figura 3). În cadrul grupei, o prevalență se atestă pentru antiinflamatoare și antiinfecțioasele, analgezicele și anestezicele.

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.

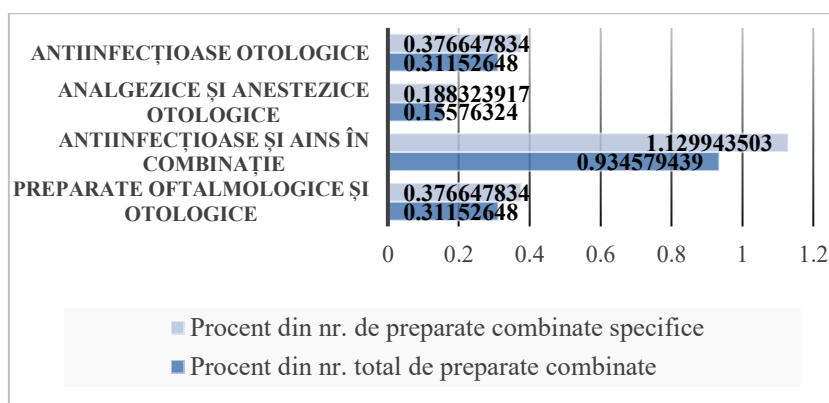


Fig. 3. Ponderea remediilor combinate otologice pe piața farmaceutică a RM

Fiind recunoscută drept una din cele mai frecvente afecțiuni ale organelor otorinolaringologice (ORL), otomicoza este tratată cu antimicotice, inclusiv sistemice. Analiza nomenclatoarelor demonstrează, că 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%). 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, iar 4% le revin acelor preparate, care pe lângă un antimicotic mai conțin și un anestezic local.

Cel mai frecvent produs medicamentos antimicotic întâlnit în rândul formelor combinate utilizate în tratamentul otomicozelor este clotrimazolul (45% din totalul antimicoticelor utilizate), care este activ asupra fungilor genului *Candida* și lipsit de ototoxicitate. Deoarece în otomicoze adesea se asociază infecția secundară însoțită de inflamație, sunt indicate preparatele combinate: antimicotic cu antiinflamator nesteroidian (52%) sau antibacterian (44%). Evaluarea produselor conform formei farmaceutice denotă, că 61,5% denumiri comerciale sunt sub formă de creme, 26,9% – sub formă de unguente și doar 11,5% denumiri comerciale sub formă de picături auriculare, deși 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 rezultatele 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 RM 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.

S-a efectuat studiul pieței farmaceutice autohtone și internaționale a preparatelor combinate utilizate în tratamentul hipoacuziei senzorieurale. S-a determinat, că arsenalul de medicamente vasodilatatoare cerebrale pe piața farmaceutică a RM, este foarte restrâns, circa 1% (denumiri comerciale) din numărul total de medicamente. 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%; majoritatea sunt forme monocomponente. Numărul medicamentelor combinate ce includ substanțe active cerebrovasculare este mult mai mic, doar 2 asociații: vinpocetină +PIR, și cinarizină +PIR. Dintre remediile nootrope se mai utilizează piritinolul și acidul gama-aminobutiric. S-a constatat lipsa combinațiilor cu nicergolină. În urma evaluării medicamentelor din grupul nootropelor, s-a constatat că pe piața farmaceutică a RM preparatele nootrope ocupă doar 1,2 % din totalul de medicamente, iar dintre acestea doar 0,4 % sunt autohtone. 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). Extractul uscat de păducel este prezent doar în componența a 3 preparate, dintre care doar unul combinat.

Actualmente, pe piața farmaceutică a RM sunt autorizate 10 denumiri de medicamente utilizate în tratarea otitei, fiind prezente doar în forma farmaceutică – picături auriculare cu conținut de antibiotice, corticosteroizi, antihistaminice, antiseptice, antiinflamatorii nesteroidiene; 60 % erau preparatele

combinate. 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.

3.2. Preformularea picăturilor auriculare combinate

Cercetările de elaborare a produselor combinate au început cu etapa de preformulare, care este una de bază și este menită să asigure selectarea celor mai adecvați excipienți, fiind demonstrată compatibilitatea principiilor active atât între ele, cât și cu excipienții.

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 (Differential Scanning Calorimetry) și spectrometrie FT-IR.

Aplicarea metodei de Analiză Calorimetrică Diferențială

Au fost analizate termogramele amestecurilor binare dintre substanțe active între ele și ale acestora cu toți excipienții.

Analiza termogramei DSC a amestecului binar dintre IHF și MU denotă un vârf mai amplu și mai puțin evident, cu admiterea posibilității coinciderii punctului de topire al MU cu descompunerea IHF. În termograma DSC a amestecului binar dintre CIP și EC se observă un vârf mai pronunțat și evident, picul este exoderm. Fiindcă au picuri de topire apropiate, se poate întâmpla, ca punctul de topire al EC să coincidă cu momentul de topire al CIP și pe termogramă să nu se vadă. Punctul de topire al CIP este evident, bine pronunțat, fiind apoi urmat de procesul de descompunere.

În termograma DSC a amestecului binar format din IHF+ PEG 400 și MU+PEG 400, primul vârf endotermic indică deshidratarea PEG-ului 400, urmat de vârfurile corespunzătoare topirii IHF și MU. Vârfuri similare pot fi identificate și în termogramele substanțelor pure. În comparație cu termograma individuală a MU, punctul de topire al acestuia este mai puțin evident și apare mai devreme. În termograma DSC a amestecului binar constituit din IHF și PG, primul vârf endotermic indică procesul de deshidratare a PG, urmat de topirea IHF. Aceleași procese termice sunt urmărite și în termograma DSC a amestecului binar format din MU și PG.

În termograma DSC a amestecului binar format din CIP și PEG 400, primul vârf endotermic indică deshidratarea PEG-ului 400, urmat de topirea CIP și de picul pronunțat ce corespunde cu descompunerea CIP. Aceleași picuri pot fi identificate și în termogramele substanțelor pure. În termograma DSC a amestecului binar compus din EC și PEG 400, se evidențiază un singur vârf, caracteristic topirii EC. În comparație cu termograma individuală a EC, punctul de topire al acestuia este mai puțin evident și apare mai devreme. În termograma DSC a amestecului binar format din CIP și PS, primul vârf endotermic indică deshidratarea PS, apoi următoarele două picuri indică topirea și descompunerea CIP. În termograma DSC a amestecului binar compus din EC și PS, primul vârf endotermic indică deshidratarea PS, urmat de picul de topire al EC.

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

Aplicarea metodei Spectroscopice FT-IR.

Compatibilitatea substanțelor active între ele și cu excipienții s-a studiat și prin aplicarea spectrometriei FT-IR. Spectrul FT-IR al amestecului binar format din IHF și MU prezintă benzi de absorbție caracteristice IHF, identice cu cele din spectrul individual. Nu au fost detectate picuri suplimentare, și nici lipsa unor maxime caracteristice grupelor funcționale de bază.

Spectrul FT-IR al amestecurilor binare format din CIP+EC, CIP+UVB și EC+UVB 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 cm^{-1} , care corespunde radicalului fenilic din structura EC. Benzile de absorbție caracteristice IHF și PEG 400 au fost prezente și pe spectrul FT-IR al amestecului binar dintre cei doi compuși. Spectrul FT-IR al amestecului binar format din MU și PEG 400 prezintă aceleași benzi de absorbție caracteristice MU, precum și benzile de bază ale PEG-ului 400. Benzile de absorbție caracteristice IHF și PG au fost prezente și pe spectrul FT-IR al amestecului binar dintre cei doi compuși. A fost detectat un pic adăugător la 1473 cm^{-1} , datorită formei semiacetale. Spectrul FT-IR al amestecului binar format din MU și PG prezintă aceleași benzi de absorbție caracteristice MU și benzile PG. Spectrul FT-IR al amestecului binar format din IHF și

nipagină prezintă benzi de absorbție caracteristice substanțelor din amestec, unde sunt reflectate numere de undă caracteristice, cu excepția picului de la 3120 cm⁻¹, caracteristic pentru vibrațiile covalente simetrice din structura IHF. Spectrul FT-IR al amestecului binar format din MU și nipagină prezintă benzile de absorbție caracteristice substanțelor în amestec.

Benzile de absorbție caracteristice CIP și PEG 400 au fost detectate și pe spectrul FT-IR al amestecului binar dintre cei doi compuși, și prezintă benzi caracteristice ce denotă, că substanțele în amestec au suprapunerea la numai un număr de frecvență 1092 cm⁻¹. Spectrele FT-IR ale amestecurilor binare formate din EC+PEG 400 și UVB+PEG 400 prezintă aceleași benzi de absorbție caracteristice substanțelor individuale. Benzile de absorbție caracteristice CIP și PS au fost prezente și pe spectrul FT-IR al amestecului binar dintre cei doi compuși, cu suprapunerea la numai un număr de frecvență 1092 cm⁻¹. Spectrul FT-IR al amestecului binar format din EC și PS au suprapunerea la 1089 și 883 cm⁻¹ ceea ce a condiționat intensificarea benzilor, iar spectrul FT-IR al amestecului binar format din UVB și PS au suprapunerea la numai un interval de frecvență 2900-2980cm⁻¹, cauzată de grupa metilică.

Analiza prin spectrometrie FT-IR a arătat, că nu există incompatibilități între substanțele active, și ale acestora cu excipienții.

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 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 1).

Tabelul 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)		

Viscozitatea picăturilor auriculare s-a determinat la 10 viteze de rotație (în ordinea crescătoare), la temperaturile 25⁰C și 37⁰C. 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 4).

S-a constatat, că toate cele șase formulări îndeplinesc cerințele pentru o viscozitate optimă, situată între 10 și 30 P·10², la viteza minimă de turații (SD<1; IQR<1,5). S-a identificat, că valorile viscozității și ale tensiunii de forfecare la cea mai mică viteză de forfecare cresc în mod proporțional cu creșterea concentrației de PG. 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. Evaluarea pH-ului formulărilor a arătat, că acesta este slab acid spre neutru și corespunde cerințelor farmaceutice (de la 5,0 până la 7,0), cu valori optime pentru *formularea I*.

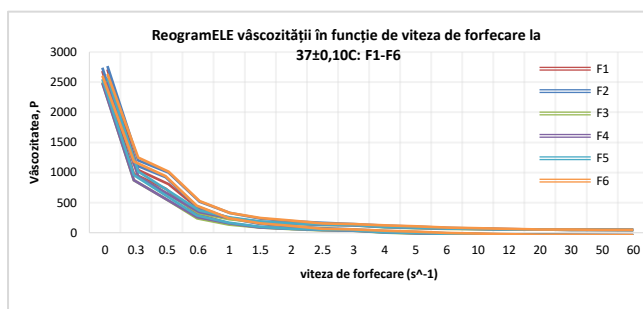
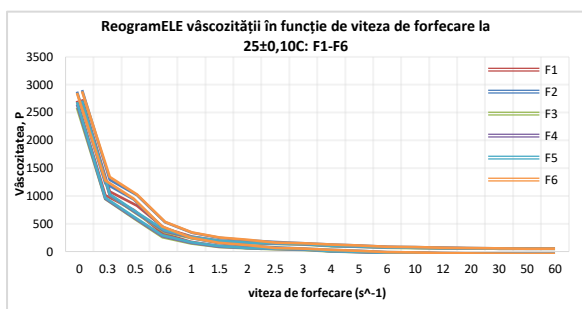


Fig. 4. Reogramele vâscozității în funcție de viteza de forfecare la 25±0,1°C și 37±0,1°C pentru formulările 1-6 de picături cu IHF și MU

Cedarea in vitro a IHF și MU din picături auriculare.

A fost determinată disponibilitatea *in vitro* a picăturilor auriculare, prin evaluarea 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 μm, diametrul filtrului 47 mm (Merck); membrane naturale – intestin subțire de porc și ureche de porc. Dozarea IHF și MU s-a efectuat prin metoda spectrofotometrică.

După cum se observă din figura 5, 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). 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 figura 6, fiind foarte apropiate cu cele obținute la cedarea prin membrană semipermeabilă.

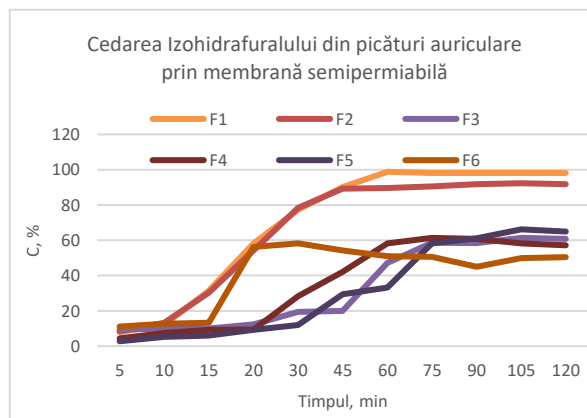
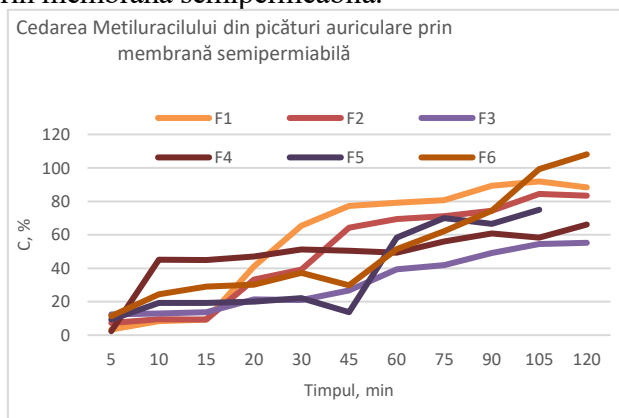


Fig. 5. Cedarea MU și IHF din picături auriculare prin membrană semipermeabilă

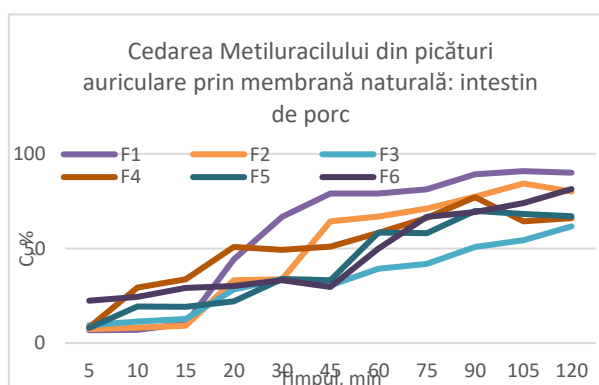
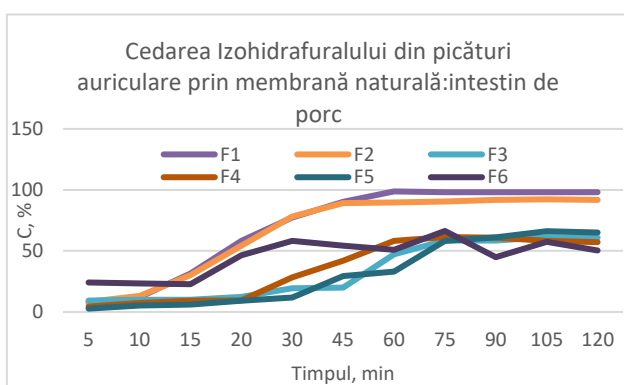


Fig. 6. Cedarea MU și IHF din picături auriculare prin membrană naturală: intestin de porc

La 30 de min 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).

Rezultatele obținute la cedarea principiilor active din picăturile auriculare prin membrana biologică – ureche de porc sunt prezentate în figura 7, acestea fiind 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).

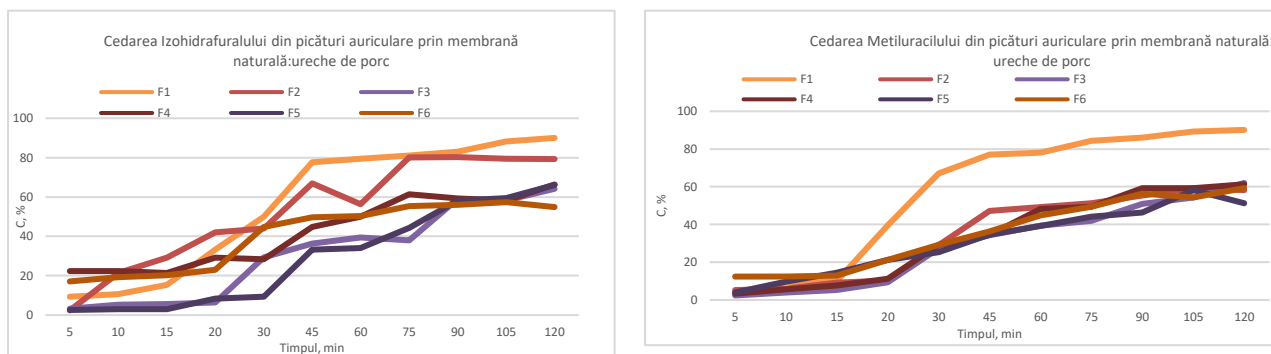


Fig. 7. Cedarea MU și IHF din picături auriculare prin membrană naturală: ureche de porc

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.

Din curbele cantităților cumulative de IHF și MU care au permeat pe unitatea de suprafață a membranei în funcție de timp (Figurile 5, 6, 7) 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 2).

Tabelul 2. 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, μg	J, μg /cm ² *ora	D*10 ⁻³ , cm ² /oră	Tlat, ore	Q, μg	J, μg /cm ² *ora	D*10 ⁻³ , cm ² /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 optime caracteristici. Rezultatele obținute au fost folosite în studiile de optimizare a formulei cu aplicarea Software Design Expert.

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 [3]. 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, iar coraportul dintre acești excipienți a servit ca criteriu de evaluare în procesul de optimizare a formulărilor (Tabelul 3). 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 încorpora uleiul volatil de busuioc.

Tabelul 3. 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	10,0	6,0	10,0
PS	-	-	4,0	4,0	-	-
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	-	-	-	q.s. ad pH 5,0-7,5	-	-
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	100,0 ml	100,0 ml	100,0 ml	100,0 ml	100,0 ml

Pentru evaluarea proprietăților reologice s-a determinat vâscozitatea picăturilor auriculare la 10 viteze de rotație (în ordinea crescătoare), la temperaturile 25°C și 37°C. Au fost obținute reogramele vâscozității în raport cu rata de forfecare la ambele temperaturi, care demonstrează natura non-Newtoniană și pseudoplastică a tuturor formulărilor: la mărirea tensiunii de forfecare vâscozitatea scade.

Nu la toate formulările cercetate vâscozitatea s-a încadrat în limita valorilor admisibile între 10 și 30 P·10², la viteza minimă de turații (SD<1; IQR<6). Pentru formulările F2 și F3 aceste limite sunt depășite, fiind în corelare cu creșterea concentrației de PS.

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 (figura 8).

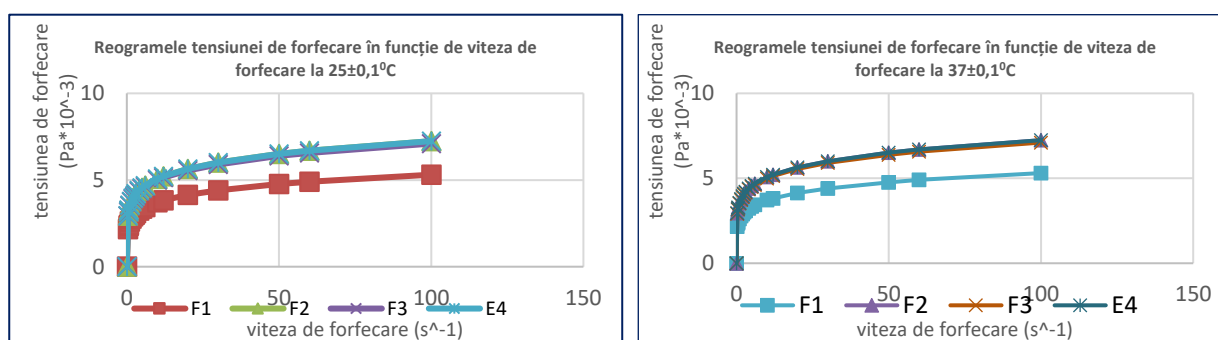


Fig. 8. Reogramele tensiunii de forfecare în funcție de viteza de forfecare la 25±0,1°C și 37±0,1°C pentru formulările 1-4 de picături cu CIP, EC și UVB

Deși rezultatele obținute la determinarea pH-ului denotă că pentru toate formulările acesta 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.

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, fiind utilizate aceleași tipuri de membrane.

Debutul cedării prin membrana semipermeabilă 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 ($SD < 0,02$; $IQR < 0,03$). Rezultatele obținute la cedarea principiilor active din picăturile auriculare prin membrana biologică – intestin de porc au arătat un comportament de cedare foarte asemănător cu cel prin membrană semipermeabilă, fiind mai avantajos pentru formularea F4. După 60 min ambele substanțe au fost cedate peste 75%, CIP are o cedare lentă și nesatisfăcătoare pentru formulările F1-F3 (35%, 49%, 50% la 75 min), iar EC este cedat mai lent decât prin membrană artificială, dar, la 45 min atinge concentrația de 84% în compartimentul donor ($SD < 0,02$; $IQR < 0,03$). 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 ($SD < 0,02$; $IQR < 0,03$).

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. 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 4).

Tabelul 4. 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			
	$Q, \mu g$	$J, \mu g / cm^2 * ora$	$D * 10^{-3}, cm^2 / ora$	$Tlat, ore$	$Q, \mu g$	$J, \mu g / cm^2 * ora$	$D * 10^{-3}, cm^2 / ora$	$Tlat, ore$
F1	76,0229	27,3956	0,0462	36,0482	102,7416	37,0240	0,0684	24,3618
F2	60,9408	21,9606	0,0672	24,7796	42,7459	15,4039	0,0261	63,7283
F3	92,5623	43,2243	0,2031	8,2024	139,6838	50,3365	0,0456	36,531
F4	124,6453	44,9143	0,3227	5,1636	160,4174	57,8080	0,2574	6,47492

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.

3.3. Preformularea capsulelor combinate pentru tratamentul hipoacuziei senzorie neurale cu conținut de PIR, NIC și EP

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 [26].

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 la preformularea picăturilor auriculare. Rezultatele obținute în urma analizelor DSC au fost interpretate din perspectiva absenței sau prezenței interacțiunilor de fază a substanțelor active NIC, PIR și UVB, precum și ale acestora cu excipienții lactoză monohidrat (LM), stearat de magneziu (SM) și amidon glicolat de sodiu (AGS). Analiza termogramelor NIC denotă prezența fenomenelor endoterme 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°C, apoi un maxim la 148°C, care denotă topirea componentelor extractului, în special a rutozidei. Încă o componentă majoră din EP – hiperozida – se topește la 262°C.

Comportamentul termic al amestecului NIC+PIR denotă prezența fenomenelor endoterme și al doilea prag de absorbție a căldurii, unde se topește PIR. NIC se descompune mai ușor, fiind urmat de PIR. În urma analizei termogramei amestecului NIC+EP se constată repetarea comportamentul EP

individual prin manifestarea efectului de deshidratare, urmat de topirea NIC, fiind vizibilă o nesemnificativă deplasare a picului cu circa 5°C față de cel al NIC individuale. În final se observă descompunerea ambelor substanțe din amestecul mecanic. Comportamentul termic al PIR în amestec cu EP este caracterizat de absorbția căldurii la deshidratarea amestecului, apoi are loc topirea PIR, urmată de descompunerea acestuia.

Analiza rezultatelor obținute prin evaluarea termogramelor substanțelor active în amestec unele cu altele și cu excipientii 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 excipientii 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 excipientii 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 [35].

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

Pentru studiul combinațiilor dintre principiile active acestea au fost obținute amestecuri mecanice 1:1. În combinație cu PIR, NIC își păstrează toate benzile de absorbție. Mai multe din benzile PIR fiind în suprapunere cu cele a NIC. Pe lângă acestea au apărut 2 benzi noi de absorbție, iar aspectul de bandă largă al absorbției indică asocierea prin legături de hidrogen. În combinația cu EP, NIC de asemenea își păstrează benzile caracteristice. Alte benzi ale EP nu se pot observa din cauza suprapunerii ca și în cazul PIR. Combinația dintre PIR și EP 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.

Spectrul FT-IR al amestecului binar NIC/LM prezintă benzi de absorbție a ambelor substanțe cercetate, unele fiind comune. Spectrul FT-IR al amestecului binar NIC/AGS prezintă aceleași benzi de absorbție caracteristice NIC, iar din picurile intense ale AGS s-au păstrat doar unele ce prezintă vibrații de alungire a hidroxizilor. Spectrul FT-IR al amestecului binar NIC/SM prezintă aceleași maximele de absorbție caracteristice ambelor substanțe. Spectrul FT-IR al amestecului binar PIR/LM prezintă aceleași benzi de absorbție caracteristice PIR, iar la LM s-au conturat doar câteva picuri separate. Spectrul FT-IR al amestecului binar PIR/AGS conturează spectrul substanței active, maximele amidonglicolatului se suprapun sau sunt absente. Spectrul FT-IR al amestecului binar PIR/SM repetă spectrul PIR cu mici excepții, toate maximele informative ale PIR sunt prezente în spectru, iar din picurile SM se pun în evidență doar două. Spectrul FT-IR al amestecului binar EP/LM amintește conturul păducelului, multe din picurile de bază fiind greu detectate din cauza suprapunerii lor și pierderii intensității. Pe spectrul FT-IR al amestecului binar EP/AGS, picurile EP sunt mai puțin pronunțate în comparație cu cele de pe spectrul individual. Spectrul FT-IR al amestecului binar EP/SM prezintă aceleași maximele de absorbție caracteristice ambelor substanțe.

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.

Modelul XRPD al NIC, PIR și NIC/PIR (Figura 9a), denotă prezența a numeroase vârfuri distincte în spectrele XRPD, ceea ce indică faptul că toate trei substanțe studiate sunt materiale cristaline. 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.

Modelul XRPD al NIC, EP și NIC/EP (Figura 9b) la fel prezintă mai multe vârfuri distincte în spectrele XRPD a NIC, 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 2θ ale vârfurilor EP este dificil, se poate constata o creștere a intensității difracției la valori 2θ 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 al PIR, EP și PIR/EP (Figura 9c) 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.

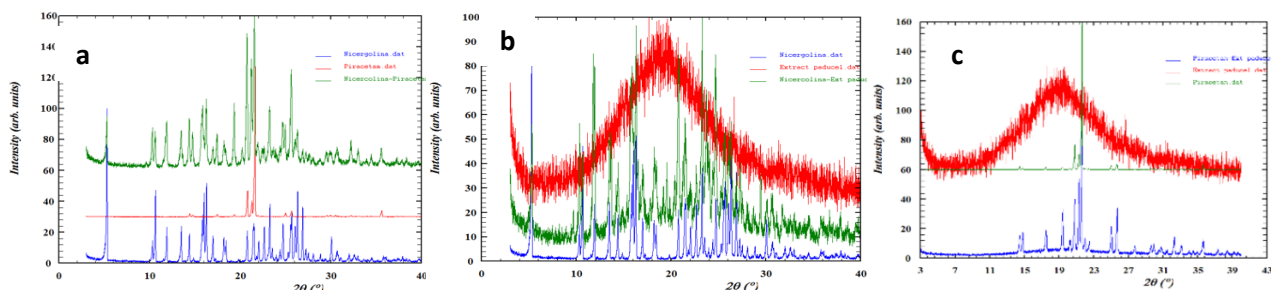


Fig. 9. Difractogramele XRPD ale substanțelor active individuale și ale amestecurilor lor mecanice: NIC/PIR (a), NIC/EP (b), EP/PIR (c)

Analiza modelelor XRPD ale substanțelor active cu excipienții au arătat, că spectrele substanțelor auxiliare individuale sunt în corespundere cu standardele farmaceutice de referință, 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 senzorieurale.

Elaborarea capsulelor combinate și determinarea parametrilor tehnologici.

Excipienții utilizați la preformularea capsulelor au o influență decisivă pentru biodisponibilitate. 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; 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.

Au fost elaborate patru formule cu substanțele active NIC, PIR și EP. Substanțele active au fost amestecate cu diferite tipuri și cantități de excipienți (tabelul 5) pentru încapsulare. Au fost obținute 4 formulări de tip pulberi.

Tabelul 5. 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

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.

Rezultatele determinărilor unghiului de înclinare și de repaus sunt redată în tabelul 6.

Un alt parametru de descriere a fluidității pulberilor este determinarea capacității volumetrice, prin determinarea valorilor indicilor Carr și Hausner (tabelul 7). Rezultatele experiențelor

demonstrează că pulberile au o fluiditate excelentă.

Tabelul 6. Parametrii farmaco-tehnologici (unghiul de înclinare și de repaus) ale formulărilor

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

Tabelul 7. Indicele Carr și indicele Hausner determinați pentru 4 formulări

Formulări analizate	Unghiul de înclinare, °	Volumul inițial al pulberii V ₀ , cm ³	Volumul pulberii după tasare V _t , cm ³	Densitatea volumetrică inițială d _{vi} , g/cm ³	Densitatea volumetrică după tasare d _{vt} , g/cm ³	Indicele Carr, %	Indicele Hausner
Amestecuri de excipienți							
Lactoza monohidrat Stearat de magneziu Amidonglicolat (F1)	36	32	28	0,77	0,88	12,5	1,14
Celuloza microcristalina Stearat de magneziu PVP K30 (F2)	45	49	34	0,50	0,73	30,6	1,44
Lactoza monohidrat Stearat de magneziu PVPK30 (F3)	26	31	27	0,73	0,84	12,90	1,15
Celuloza microcristalina Stearat de magneziu Amidonglicolat (F4)	50	59	49	0,39	0,47	16,95	1,20
Excipienți cu substanțele active							
F1	31	30	25	0,33	0,40	16,67	1,21
F2	48	35	25	0,29	0,40	28,57	1,38
F3	21	30	23	0,33	0,43	23,33	1,30
F4	45	55	45	0,18	0,22	18,18	1,22

Notă: * valori medii, n=6 pentru fiecare formulare

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 valori ale indicilor Carr și Hausner mai mică.

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

Studiile de cedare *in vitro* au fost efectuate prin aplicarea testului de dizolvare în medii acid și neutru. Probele celor 4 formulări de capsulele cu conținut identic de principii active, dar diferit al excipienților au fost analizate spectrofotometric după diluțiile adecvate cu soluție metanolică de HCl 0,1 M. Pentru a asigura comparabilitatea datelor generate pentru formulările analizate, a fost adoptată aceeași procedură pentru toate seturile de probe.

În urma analizei profilurilor de dizolvare pentru NIC și PIR din formulările testate (figurile 10 și 11), 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 mediu acid (PIR, NIC) și formularea F1 din mediu neutru (PIR, NIC).

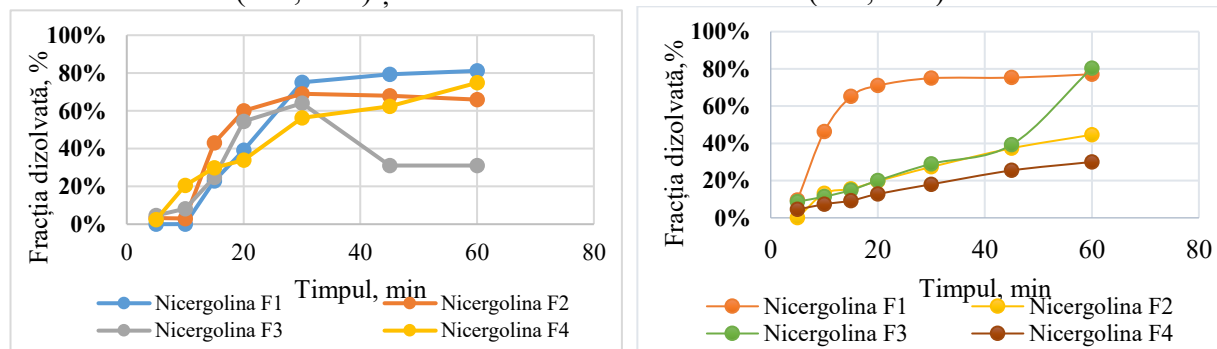


Fig. 10. Profilurile de dizolvare a NIC în mediul acid (a) și neutru (b) din cele 4 formulări

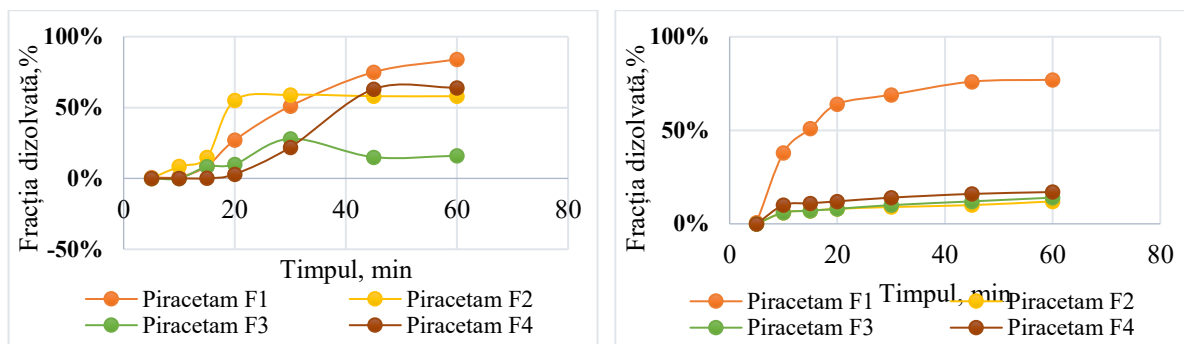


Fig. 11. Profilurile de dizolvare ale PIR în mediul acid (a) și neutru (b) din cele 4 formulări
Evaluarea cineticii dizolvării NIC și PIR din capsule în mediu acid.

Au fost calculați parametrii cinetici ai dizolvării substanțelor active din formulările F1 și F2 și evaluate constantele vitezei de dizolvare în urma cedării din mediu acid a NIC și PIR. 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. 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 avantajoasă.

3.4. Optimizarea și tehnologia de obținere a picăturilor auriculare combinate

Pentru determinarea compoziției optime a picăturilor combinate cu conținut de IHF și MU s-a utilizat designul factorial deplin 3^2 și analiza suprafețelor de răspuns [27, 28].

În calitate de variabile independente s-au selectat conținutul de PEG 400 (60%) și PG (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 $25 \pm 0,1^\circ\text{C}$ și $37 \pm 0,1^\circ\text{C}$, pH-ul forme farmaceutice și coeficienții de difuzie a principiilor activi din forma farmaceutică prin membrana biologică (Tabelul 8).

Tabelul 8. Rezultatele experimentale ale variabilelor dependente

Variabile dependente		Formularea					
		F1	F2	F3	F4	F5	F6
*Vâscozitatea la cea mai mică viteză de forfecare, $\text{cP} \cdot 10^2$	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 principiu-lui activ la 45 min, $D \cdot 10^{-3}$, $\text{cm}^2/\text{oră}$	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

Notă: * valori medii, $n=6$ pentru fiecare formulare

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. Pentru analiza variațiilor a fost aplicat testul ANOVA, care a arătat, că rezultatele obținute sunt semnificative din punct de vedere statistic. Analiza rezultatelor obținute în procesul de optimizare a datelor a permis evaluarea gradului de influență a variabilelor independente asupra proprietăților forme farmaceutice: vâscozitate, difuzie și nivel de pH. În urma rezultatelor obținute se poate constata că la ambele temperaturi, atât PEG 400, cât și PG au o influență negativă asupra vâscozității pentru cele șase formulări (Figura 12), cu un grad de contribuție în menținerea vâscozității optime mai mare pentru PEG 400. Analiza suprafețelor de răspuns relevă faptul că, valorile vâscozității pentru toate formulările cresc odată cu mărirea concentrației de PEG 400 și micșorarea cantității de PG.

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. Totodată, difuzia MU este influențată de ambii excipienți în egală măsură (Figura 13). 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.

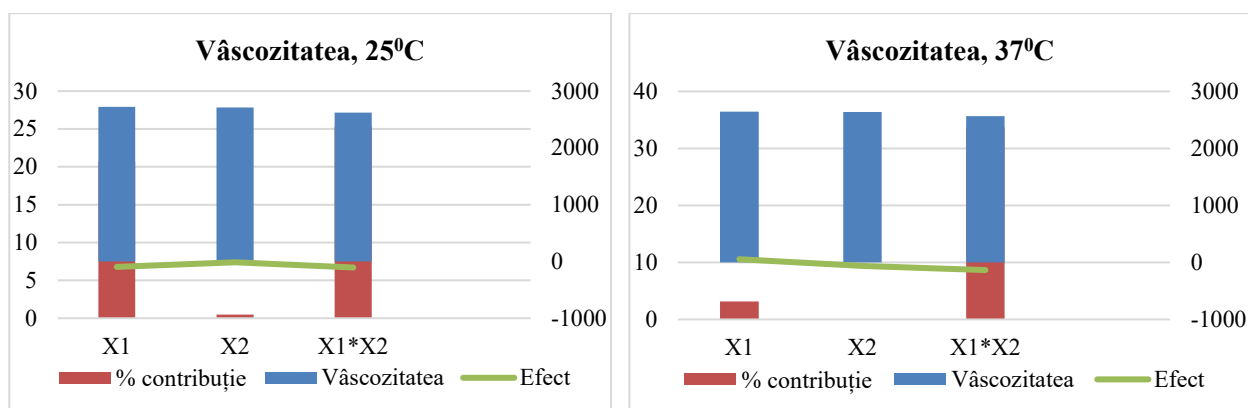


Fig. 12. Influența factorilor de formulare asupra vâscozității la 25±0,1°C și la 37±0,1°C

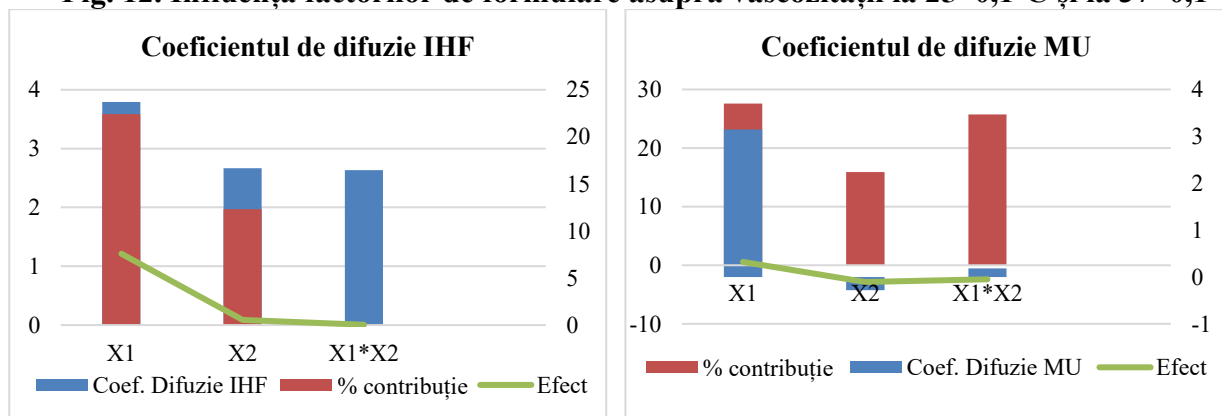


Fig. 13. Influența factorilor de formulare asupra coeficienților de difuzie a IHF și MU

Studiile experimentale efectuate au arătat, că ambii excipienți au o influență negativă asupra pH-ului, acesta scade odată cu mărirea cantităților de PEG 400 și PG, fapt confirmat și în urma analizei suprafețelor de răspuns.

Compoziția optimizată a picăturilor auriculare, care include IHF și MU, a fost determinată folosind modulul de optimizare al programului Design Expert 7. Datele obținute sunt foarte apropiate de compoziția formulării F1, care a fost identificată ca una din cele mai optimale și în studiile de preformulare (Tabelul 9).

Tabelul 9. 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°C, cP	2752,64	2724,71	-0,0098
Vâscozitate la 37±0,1°C, cP	2664,22	2698,90	0,0001
Coeficient de difuzie IHF, $D \cdot 10^{-3}$, cm ² /oră	0,5257	0,5268	0,2092
Coeficient de difuzie MU, $D \cdot 10^{-3}$, cm ² /oră	0,1397	0,1375	1,574
pH	5,3378	5,3360	-0,1461

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. Incorporarea 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.

Pentru determinarea compoziției optime a picăturilor combinate cu conținut de CIP, EC și UVB

cu utilizarea designului factorial deplin 3^2 și analiza suprafețelor de răspuns [27], în calitate de variabile independente s-au selectat conținutul de PEG 400 și PS (Tabelul 10). 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.

Tabelul 10. 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

Designul de optimizare a fost analogic ca și la formularea cu IHF și MU. Graficele reziduale ale răspunsurilor obținute față de răspunsurile prezise au arătat corelații de fitare satisfăcătoare. Analiza variațiilor ANOVA a arătat, că rezultatele obținute sunt semnificative din punct de vedere statistic. 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, pe când PS are o influență negativă pentru cele patru formulări (Figura 14).

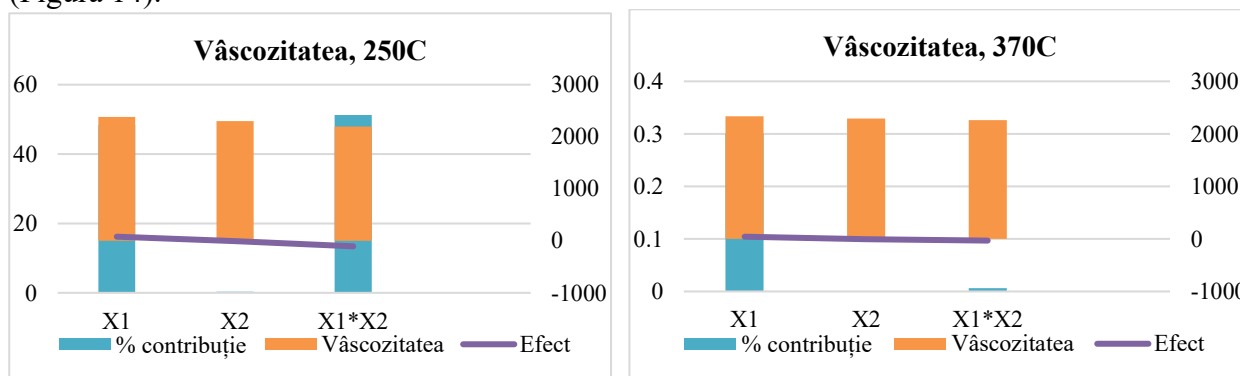


Fig. 14. Influența factorilor de formulare asupra vâscozității la $25 \pm 0,1^\circ\text{C}$ și la $37 \pm 0,1^\circ\text{C}$

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. 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.

Totodată, difuzia EC este influențată negativ de către ambele variabile (Figura. 15). 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. Studiile experimentale efectuate au arătat, că ambii excipienți au o influență pozitivă asupra pH-ului, acesta crește odată cu mărirea cantităților de PEG 400 și PS.

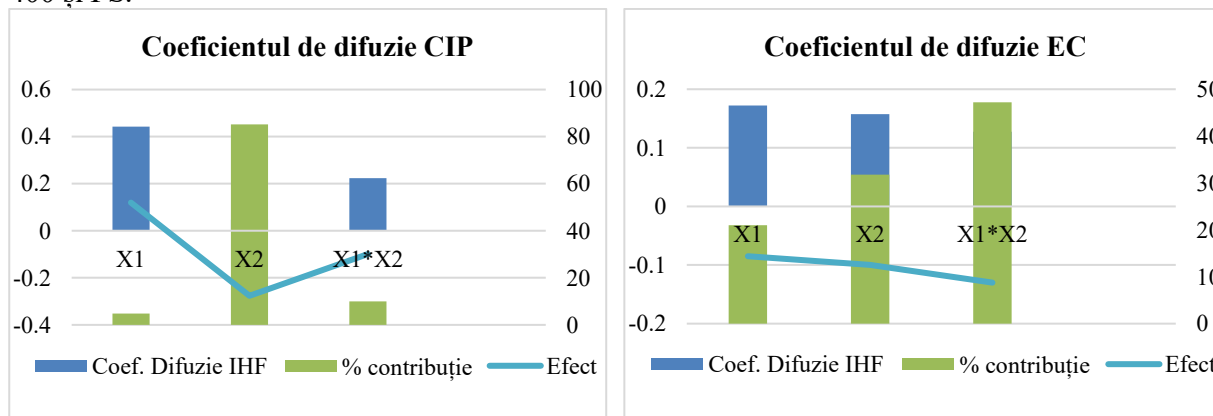


Fig. 15. Influența factorilor de formulare asupra coeficienților de difuzie a CIP și EC

Studiile de preformulare, dar și analiza suprafețelor de răspuns a planurilor experimentale, au demonstrat importanța cantităților de excipienți pentru o formulare optimă. Compoziția optimizată a picăturilor auriculare, care include CIP, EC și UVB, a fost determinată folosind modulul de optimizare al programului Design Expert 7 (Tabelul 11).

Tabelul 11. 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 experimentale obținute sunt foarte apropiate de valorile teoretice, confirmând astfel validitatea planului experimental utilizat. Formularea optimă selectată pentru studiile analitice și de standardizare a fost F4, cu cele mai optimale valori ale parametrilor cercetați.

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 generale din Ph.Eur. Incorporarea 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 CIP 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.

3.5. Optimizarea și tehnologia de obținere a capsulelor combinate

Pentru determinarea compoziției optimale a capsulelor operculate cu conținut de NIC, PIR și EP la fel s-a utilizat designul factorial deplin 3² [27]. În calitate de variabile independente s-au selectat conținutul de LM și SM (Tabelul 12).

Tabelul 12. 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 redate în Tabelul 13. Datele experimentale au fost evaluate prin două modele: factorial și suprafețe de răspuns. 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.

Tabelul 13. Rezultatele experimentale ale variabilelor dependente

Variabile dependente		Formularea			
		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

Notă: * valori medii, n=6 pentru fiecare formulare

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 16). Gradul de contribuție în asigurarea unei compresivități optimale este mult mai mare pentru SM (65,58%) în comparație cu LM (18,73%).

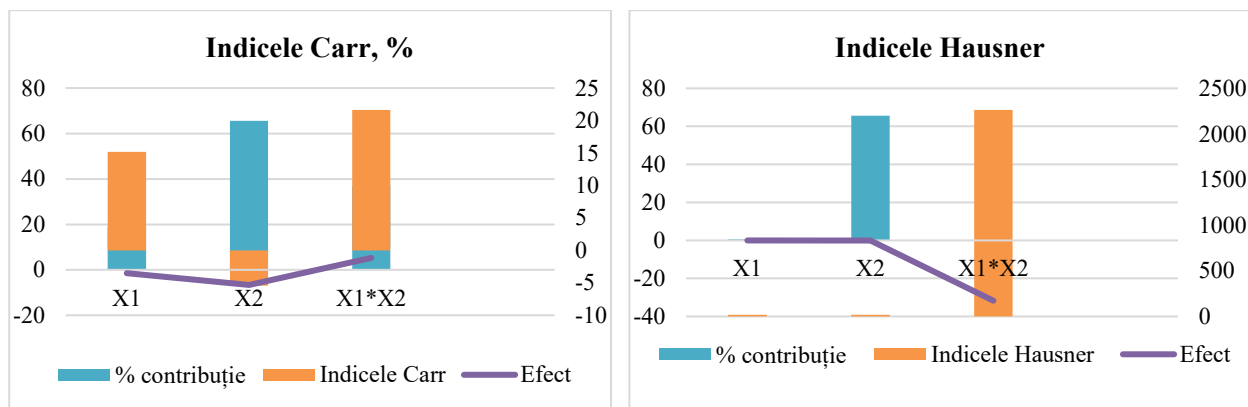


Fig. 16. Influența factorilor de formulare asupra indicilor Carr și Hausner

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.

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. 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 17).

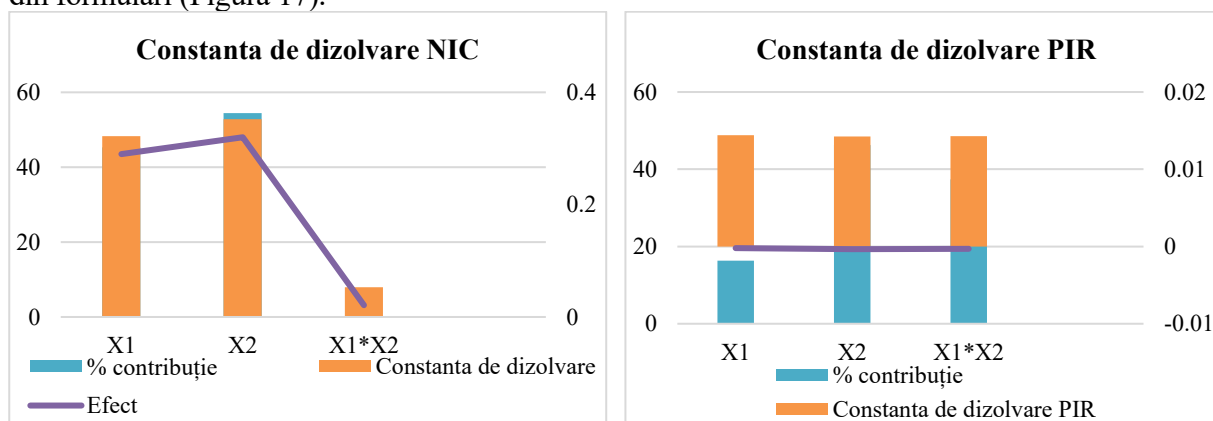


Fig. 17. Influența factorilor de formulare asupra constantelor de dizolvare ale NIC și PIR

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. 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. Compoziția optimizată a capsulelor operculate combinate, care include NIC, PIR și EP, a fost determinată folosind modulul de optimizare al programului Design Expert 7.

Rezultatele experimentale obținute sunt foarte apropiate de valorile teoretice, confirmând astfel validitatea planului experimental utilizat. Formularea optimă selectată (tabelul 14) pentru studiile analitice și de standardizare a fost F1, cu cele mai optimale valori ale parametrilor cercetați.

Tehnologia de preparare a capsulelor operculate combinate cu conținut de NIC, PIR și EP.

Prepararea capsulelor operculate este un proces complex și precis care implică mai multe etape.

Pentru umplerea capsulelor operculate, s-a folosit dispozitivul numit „gelulier”, care este de obicei utilizat pentru umplerea manuală a capsulelor în condiții de farmacie [9]. Capsulele au fost preparate în condiții de laborator (3 serii), fiind 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. Capsulele goale, alcătuite din două părți - corp și capac – au fost alimentate în dispozitivul de încapsulare cu distribuirea amestecului de pulbere în capsulele goale. După aceasta, cele două părți ale capsulelor au fost unite împreună, sigilând conținutul în interiorul capsulei. După încapsulare, capsulele au fost supuse unei inspecții riguroase pentru a asigura că sunt sigilate corect și că nu prezintă defecte sau contaminări, apoi s-a efectuat controlul calității. Capsulele sigilate și verificate sunt ambalate în flacoane de sticlă, și etichetate corespunzător. Ulterior, procesul tehnologic a fost ajustat pentru condiții industriale și elaborat Regulamentul tehnologic de producere. Prepararea și condiționarea pulberilor în capsule operculate s-a efectuat în condiții aseptice.

Tabelul 14. 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 ⁻¹	0,060388	0,06187	2,4541
Const. de diz. PIR, min ⁻¹	0,0156898	0,015354	-2,1352

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. Au fost luate în considerare și metodele de analiză a substanțelor active în alte forme farmaceutice.

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. 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. IHF a fost identificat prin reacția cu soluție de hidroxid de sodiu (sensibilitatea 20 μg/ml): colorație roșu-brun pentru substanța pură; brună pentru amestec mecanic și galben-oranj pentru IHF din forma farmaceutică. La interacțiune cu N,N-dimetilformamidă (sensibilitatea 20 μg/ml), se obține colorație oranj cu fluorescență pentru substanța pură; galben pentru amestec mecanic și gălbuie pentru IHF din forma farmaceutică. MU a fost identificat prin reacția cu soluție alcoolică de Co(NO₃)₂ (sensibilitatea 10 μg/ml): se obține colorație albastră pentru substanța pură; albastru întunecat pentru amestec mecanic și albastru-verzui pentru MU din forma farmaceutică.

Identificarea IHF și MU și determinarea purității formei farmaceutice prin metoda CSS.

Pentru determinările CSS au fost utilizate fazele mobile cu polaritate diferită; în cadrul analizei au fost elaborate patru tehnici de lucru, care au fost aplicate inițial pe substanțele individuale, unde variază solvenții pentru dizolvarea probei, fazele mobile și metodele de revelare (tabelul 15.)

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 (tabelul 16).

Metoda CSS a fost aplicată pentru identificarea substanțelor medicamentoase IHF și MU în forma farmaceutică prin măsurarea factorului de retenție R_f și compararea lui cu substanțele individuale. În rezultatul analizei efectuate s-a determinat că valorile R_f ale compușilor în forma medicamentoasă și

substanțele pure sunt foarte apropiate și permit identificarea lor la prezența concomitentă. Aprecierea purității formei farmaceutice s-a efectuat prin excluderea apariției spoturilor suplimentare pe cromatogramele soluțiilor probă de picături auriculare.

Tabelul 15. Rezultatele analizei prin cromatografie pe strat subțire a substanțelor individuale

	IHF	MU
Faza mobilă: 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. R_f = 0,32; R_f = 0,27	Spoturi nedeterminate.
Faza mobilă: acid acetic glacial- apă-butanol (1:1:4)	Spoturi nedeterminate.	Spoturi nedeterminate.
Faza mobilă: 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. R_f = 0,87
Faza mobilă: cloroform - metanol – acid acetic glacial (95:10:2)	Spot roz la pulverizare cu sol. 1% de p dimetilaminobenzaldehidă în acid sulfuric. R_f = 0,78	Spoturi nedeterminate.
Faza mobilă: etilacetat-hexan (2:1)	Spot roșu la pulverizare cu soluție de piridină și vizualizarea în UV la lungimea de undă 366 nm. R_f =0,37	Spot roșu la pulverizare cu soluție de piridină și vizualizarea în UV la lungimea de undă 254 nm. R_f = 0,72

Tabelul 16. Rezultatele analizei prin CSS a amestecului mecanic și formei farmaceutice

	Amestec mecanic (1:1)		Forma farmaceutică	
	IHF	MU	IHF	MU
Faza mobilă 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

Aprecierea purității formei farmaceutice s-a efectuat prin excluderea apariției spoturilor suplimentare pe cromatogramele soluțiilor probă de picături auriculare.

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 probelor de IHF 5 $\mu\text{g/ml}$, MU 10 $\mu\text{g/ml}$ în DMFA, emise în regiunea 230-450 nm au prezentat un maxim de absorbție specific IHF: la 373 ± 1 nm și 1 maxim de absorbție caracteristic MU: la 267 ± 1 nm, fiind înregistrate și pe spectrele UV-VIS al soluțiilor standard de substanțe medicamentoase (Figura 18).

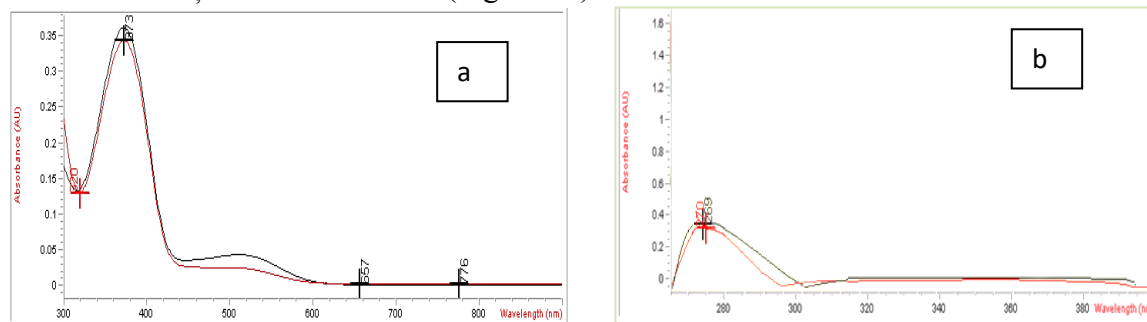


Fig. 18. Spectrele de absorbție UV-VIS ale soluțiilor standard și probă de IHF 5 $\mu\text{g/ml}$ (a) și ale soluțiilor standard și probă de MU 10 $\mu\text{g/ml}$ în DMFA (b) din picături combinate cu IHF și MU

Metoda spectrofotometrică a fost aplicată și pentru dozarea principiilor active. Se înregistrează spectrele UV-Vis ale soluțiilor standard și probe cu concentrațiile nominalizate de IHF și MU, ca soluție de referință a servit soluția placebo. 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. Valorile conținutului de IHF și MU s-au situat în limita abaterilor admisibile ($\bar{X}=0,051$; $SD=0,00044$; $RSD<1,0$; $P>0,05$).

Elaborarea și validarea metodei HPLC de dozare a IHF și MU din picături auriculare.

Ingredientele active (IHF și MU) au fost separate pe o coloană Teknokroma C1 5 μ 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; temperatura coloanei cromatografice a fost de 30°C; volum de injecție 20 μ 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. Au fost preparate soluțiile standard de IHF (10 μ g/ml) și MU (400 μ g/ml), soluția probă de picături auriculare și soluția placebo; solvent faza mobilă metanol : apă (60:40). Pentru a verifica dacă metoda propusă este capabilă să separe substanțele medicamentoase de substanțele înrudite chimic formate la degradare s-au efectuat studii de degradare forțată (hidroliză acidă și bazică, oxidare, stres termic și fotolitic). Fiecare 20 μ 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_{an}) și soluțiilor standard (S_{st}). Metoda a fost validată conform ghidului ICH [22]. Metoda dezvoltată a permis analiza a două ingrediente active în picături într-un singur test (Figurile 19 și 20).

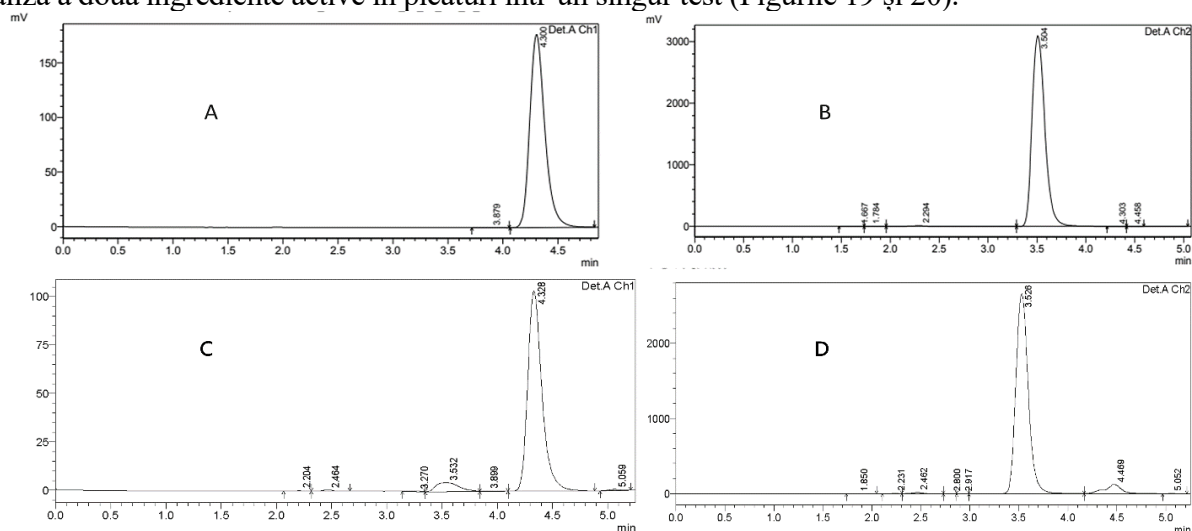


Fig. 19. Cromatogramele soluțiilor standard și probă: IHF (A, 360 nm) și MU (B, 240 nm) la 360 nm (IHF, C) și 240 nm (MU, D)

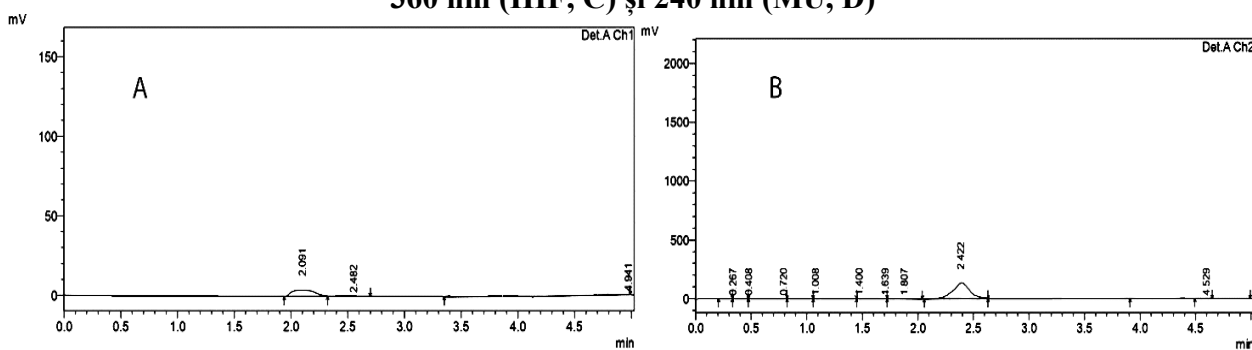
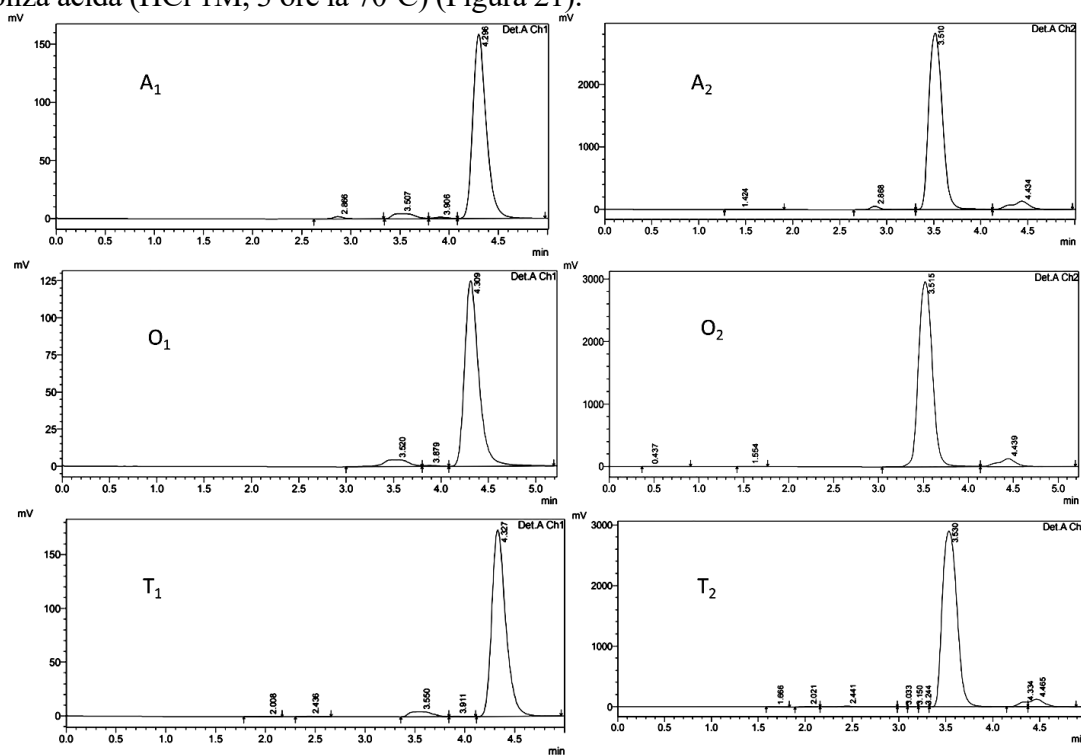


Fig. 20. Cromatogramele soluției placebo la 360 nm (A) și 240 nm (B)

Rezultatele studiului de liniaritate au arătat o relație liniară în intervalul de concentrație de 8-12 μ g/ml pentru IHF și 320-480 μ g/ml pentru MU. 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 ($p > 0,05$). Rezultatele determinărilor limitelor de detectare și de cuantificare (LOD și LOQ) au arătat un LOD de 0,5478 μ g/ml pentru IHF; 8,3795 μ g/ml pentru MU; LOQ de 1,6600 μ g/ml pentru IHF și, respectiv, 25,3926 μ g/ml pentru MU [19]. După cum se poate observa în figura 19, nu există vârfuri de interferență la timpii de retenție corespunzătorii analizilor, 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% [22]. 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%. 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% H₂O₂, agitare timp de 6 ore la 25°C) și la hidroliză acidă (HCl 1M, 3 ore la 70°C) (Figura 21).



Note: *₁ = 360 nm, IHF; *₂ = 244

Fig. 21. Cromatogramele probelor expuse la condiții de stres hidrolitic acid (A1 și A2), oxidare (O1 și O2), temperatură (T1 și T2)

Cromatogramele au fost identice cu cromatograma probei care nu a fost supusă nici unei condiții de stres (Figura 19 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 22). 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.

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. 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

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. CIP a fost identificat prin reacția cu clorură de fier (III) (sensibilitatea 20 μg/ml): apare o colorație roșu-

brună. În reacția cu sulfat de cupru (sensibilitatea 20 $\mu\text{g/ml}$) efectul analitic a fost culoarea albastră deschisă a complexului. EC a format colorație galben-portocalie (reactivul Dragendorf), precipitat alb (reactivul Mayer), colorație roșie (reactiv Lugol), colorație galbenă (acid picric) cu reactivii de precipitare. Anionul nitrat a fost pus în evidență cu difenilamina (colorație albastră).

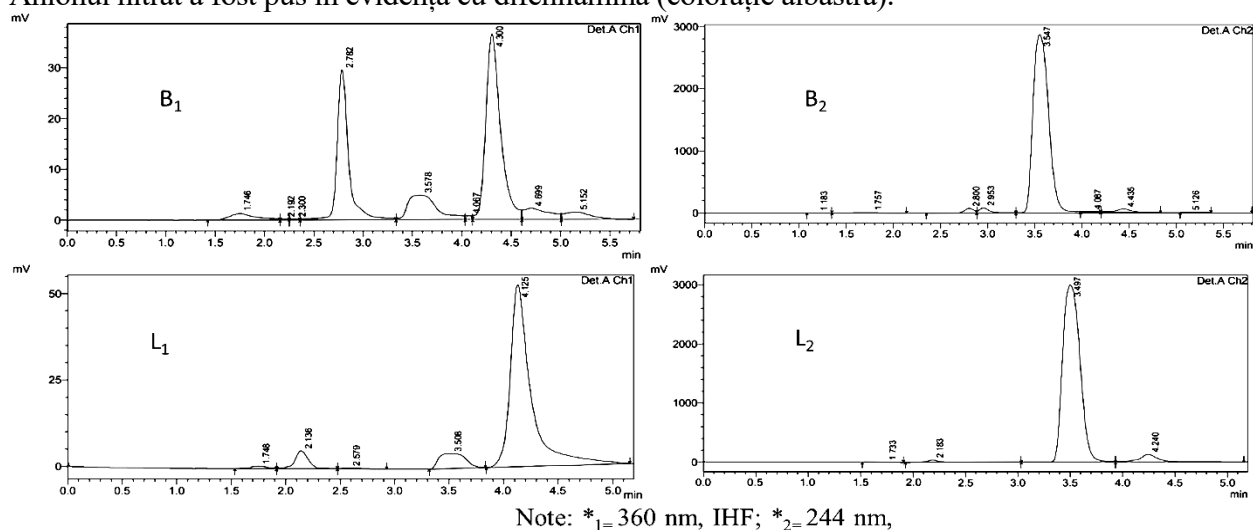


Fig. 22. Cromatogramele probelor expuse la condiții de stres hidrolitic basic (B1 și B2), lumină (L1 și L2)

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. Inițial s-a efectuat determinarea calitativă a substanțelor medicamentoase individuale (soluții standard) pentru stabilirea fazei mobile și a condițiilor optime de cromatografiere. 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 17).

Tabelul 17. Rezultatele analizei prin CSS a substanțelor în amestec mecanic și formă farmaceutică

Faza mobilă	Amestec mecanic (1:1)		Forma farmaceutică	
	CIP	EC	CIP	EC
Metanol: Acetonitril 40:60	Spoturi bine conturate, fluorescență în UV și colorație galben-oranj la revelare cu reactivul Dragendorf Rf =0,32	Spoturi bine conturate, separare bună; fluorescență în UV și colorație galben-oranj la revelare cu reactivul Dragendorf Rf=0,87	Spoturi bine conturate, fluorescență în UV și colorație galben-oranj la revelare cu reactivul Dragendorf Rf=0,30	Spoturi bine conturate, separare bună; fluorescență în UV și colorație galben-oranj la revelare cu reactivul Dragendorf Rf=0,77

Ambele substanțe medicamentoase pot fi detectate la iradiere cu lampa UV și la pulverizare cu reactivul Dragendorf. CIP și EC 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 probelor (cu concentrația CIP 10 $\mu\text{g/ml}$ și EC 40 $\mu\text{g/ml}$ în metanol), înregistrate în regiunea 210-350 nm au prezentat un maxim de absorbție specific CIP: la 280 \pm 1 nm și 1 maxim de absorbție caracteristic EC: la 228 \pm 1 nm, fiind înregistrate și pe spectrele UV-VIS al soluțiilor standard de substanțe medicamentoase (Figura 23).

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. Spectrele de masă obținute prin metoda de ionizare *electrospray* cuplată cu HPLC au arătat (Figura 24) picuri de intensitate maximă corespunzătoare

linaloolului și metilcavicolului, care sunt componente majoritare în uleiul volatile de busuioc utilizat în calitate de principiu active pentru prepararea formei farmaceutice combinate, împreună cu clorhidratul de ciprofloxacina și nitratul de econazol.

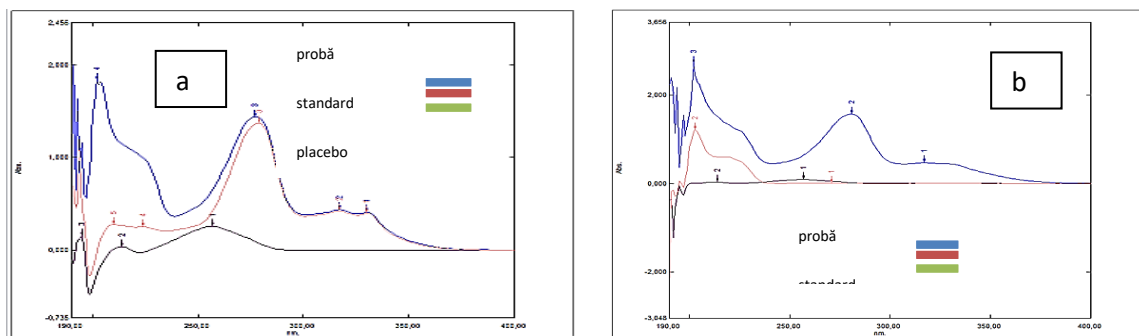


Fig. 23. Spectrele de absorbție UV-VIS ale soluțiilor standard și probă de CIP 10µg/ml (a), ale soluțiilor standard și probă de EC 10µg/ml (b) și a soluției placebo din picături combinate cu CIP, EC și UVB (solvent: metanol)

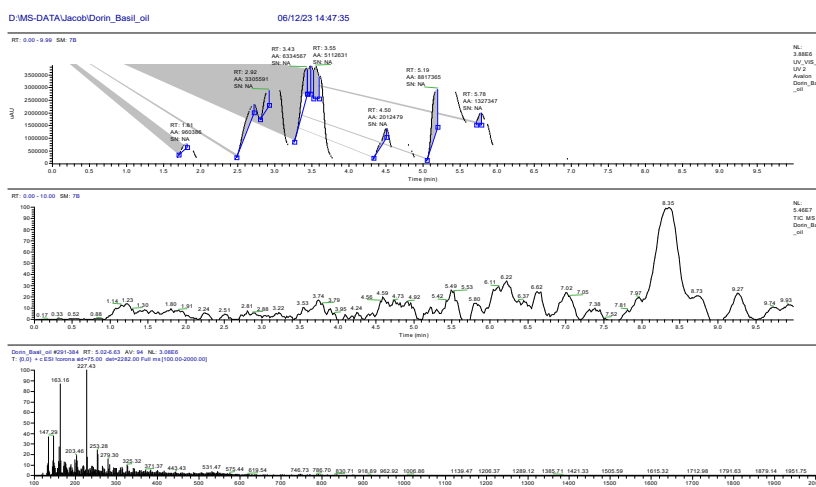


Fig. 24. Spectrul de masa și cromatogramele uleiului volatile de busuioc

S-a efectuat dezvoltarea și validarea tehnicii spectrofotometrică în UV pentru determinarea simultană a CIP și a EC în combinație fără separare prealabilă. Studiile efectuate au soldat cu selectarea în calitate de solvent a metanolului. Validarea metodei spectrofotometrică de dozare a CIP clorhidrat și EC nitrat din picături combinate a avut loc după parametrii de validare: precizie și robustețe, exactitate, limita de detecție, limita de cuantificare, linearitate.

S-a cercetat linearitatea metodei spectrofotometrică de dozare a CIP și EC din picături combinate pe domeniile de concentrație 5-40 µg/ml, fiind trasate câte 3 drepte de etalonare ale celor 3 determinări pentru fiecare serie de formă medicamentoasă (Figura 25). Valoarea limitei de detecție pentru CIP este de 0,3844 µg/ml, iar pentru EC este de 1,2628 µg/ml. Valoarea limitei de cuantificare calculate pentru CIP este de 1,1648 µg/ml, iar pentru EC - 3,8266 µg/ml. În urma determinărilor s-a stabilit că metoda este exactă, RSD pentru ambele substanțe nu depășește 1%.

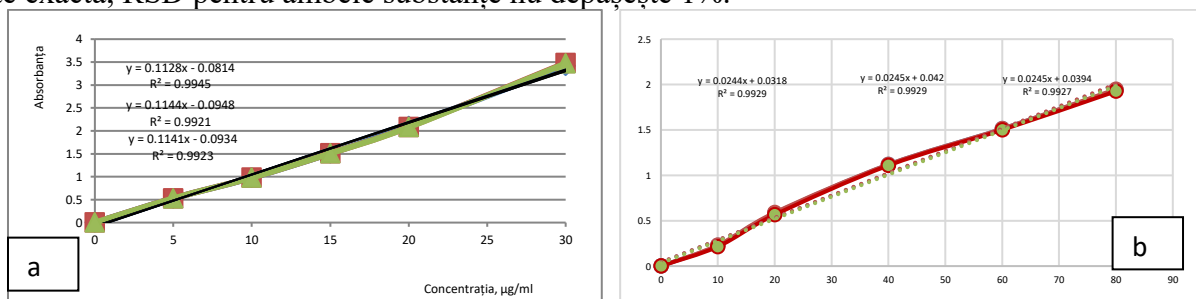


Fig. 25. Graficele de etalonare ale soluțiilor metanolice standard de CIP (a) și EC (b) (n=3 determinări)

Pentru a determina gradul de precizie, s-a cercetat repetabilitatea și precizia intermediară.

Rezultatele determinării preciziei la dozarea CIP și EC din picături auriculare combinate prin metoda spectrofotometrică denotă că, metoda elaborată este precisă, valorile deviației standard relative fiind mai mici decât 1%. Robustețea s-a determinat prin variația lungimilor de undă ± 2 nm, demonstrându-se că metoda spectrofotometrică elaborată este robustă, deviația standard relativă fiind mai mică decât 1,0%. 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, care a fost inclusă în Monografia Farmacopeică pentru picăturile combinate cu conținut CIP, EC și UVB.

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 μm 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; temperatura coloanei – 35°C. Concentrația soluțiilor standard de ambele substanțe și a fiecărui component în soluția probă a fost de 50 $\mu\text{g/ml}$. 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. Evaluarea statistică a rezultatelor dozării CIP și EC în picături auriculare prin metoda HPLC denotă valori IQR<0,02, P>0,05. Metoda dezvoltată permite cuantificarea substanțelor active concomitent, este reproductivă și poate fi aplicată cu succes pentru analizele de rutină a formei farmaceutice.

Analiza gaz-cromatografică a UVB din picături auriculare.

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. În acest studiu s-a utilizat cromatograful Agilent Technologies 7890A, utilat cu coloană capilară, 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, UVB – substanță farmaceutică, standarde de linalool, camfor, alfa terpineol; 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 optimală. 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 $^{\circ}\text{C}$. S-au înregistrat cromatogramele standardelor de linalool, camfor și α -terpineol. Pe cromatograma se poate urmări aria picurilor și timpul de retenție ale acestora (Figura 26).

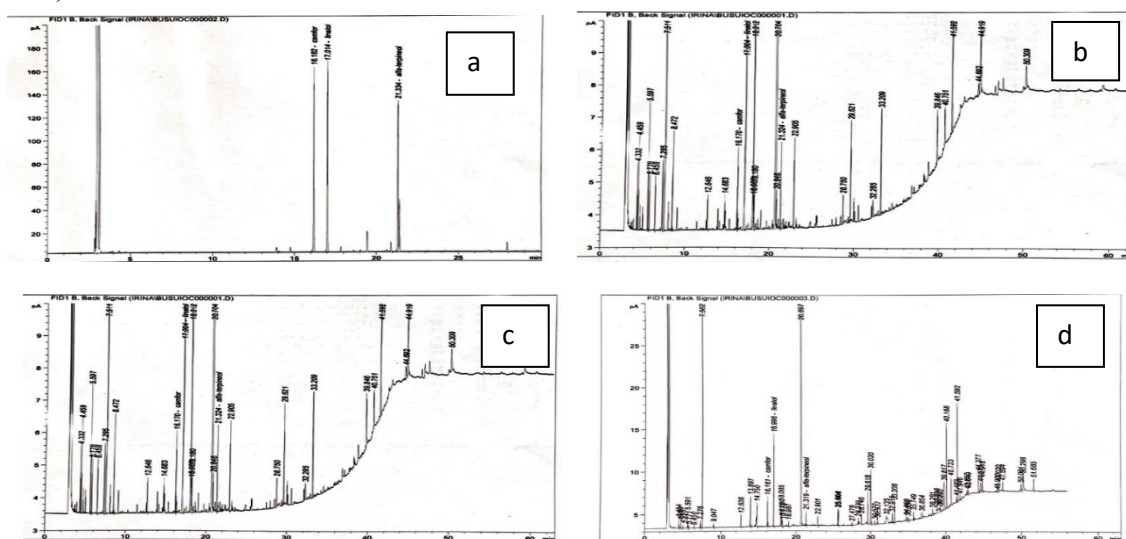


Fig. 26. Gaz- Cromatogramele standardelor de linalool, camfor și α -terpineol (a); standardului de UVB (b); UVB substanță farmaceutică (c) și a soluției probă de picături auriculare cu conținut de CIP, EC și UVB (c)

Pe cromatograma standardului de UVB au fost detectate picurile de linalool, camfor și α -

terpineol, cu valori foarte apropiate ale timpilor de retenție cu cele ale standardelor de referință. 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 redată în tabelul 18.

Tabelul 18. 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
Linalool	S, mV/sec	385.802	8.593	8.698	28.246
	t _R , min	17.014	17.001	17.012	16.996
Camfor	S, mV/sec	416.578	1.296	1.301	9.131
	t _R , min	16.182	16.167	16.171	16.161
α-terpineol	S, mV/sec	321.813	1.307	1.299	4.106
	t _R , 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 ($\bar{X} = 7,3480 \pm 0,0247$; 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.

4.3. Analiza capsulelor combinate cu PIR, NIC și EP

Prezența în molecula NIC a azotului terțiar s-a demonstrat cu ajutorul reactivilor de precipitare. Acidul sulfuric concentrat pune în evidență nicergolina prin reacție de culoare (albastru). Grupa aminică alifatică din structura PIR poate fi ușor eliminată la încălzire cu hidroxid de sodiu (miros de amoniac). Determinările s-au efectuat pentru substanțe pure, amestec mecanic (1:1) și din forma farmaceutică capsule combinate cu NIC, PIR și EP. 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.

Spectrele UV-VIS atât a substanțelor individuale cât și a amestecurilor mecanice au fost analizate în solvenții: C₂H₅OH 96%, fază mobilă ACN- CH₃OH - Tampon fosfat (40:35:25), caracteristică nicergolinei (Ph. Eur), soluție HCl 0.1M, soluție metanolică de HCl 0.1M. 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. 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.

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.

Dozarea spectrofotometrică a capsulelor combinate s-a realizat pe 3 serii de capsule operculate combinate, fiind efectuate câte 6 analize distincte repetate. Evaluarea statistică a rezultatelor dozării a arătat valori IQR<0,001, P>0,05. Metoda spectrofotometrică UV-Vis elaborată a fost validată în conformitate cu ghidurile ICH "Q2R1: Pentru proceduri analitice și validare". S-a cercetat linearitatea metodei spectrofotometrice de dozare a PIR și NIC pe domeniile de concentrație 5-40 μg/ml (Figura 27), fiind trasate câte 3 drepte de etalonare ale celor 3 determinări pentru fiecare serie de formă medicamentoasă.

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 a constituit pentru PIR 1,118 μg/ml și pentru NIC 5,265 μg/ml. În urma determinărilor s-a stabilit că metoda este exacta, RSD pentru ambele

substanțe nu depășește 1%. Pentru a determina gradul de precizie, s-a cercetat repetabilitatea și precizia intermediară pentru PIR. Rezultatele obținute denotă că, metoda elaborată este precisă și robustă, valorile deviației standard relative fiind mai mici decât 1%.

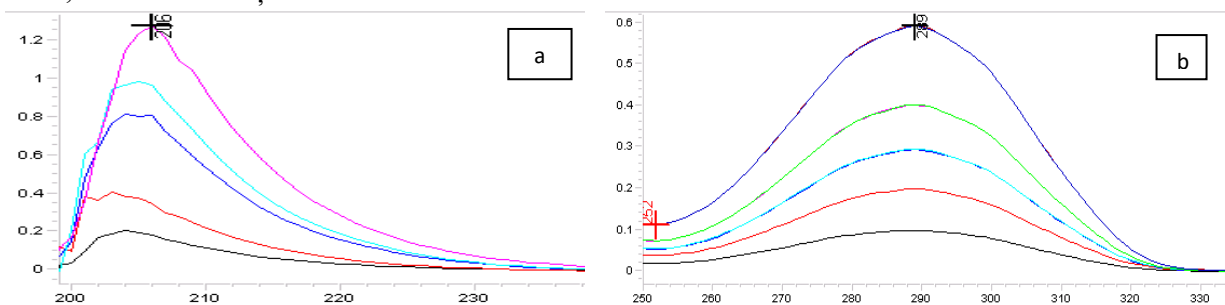


Fig. 27. Spectrele de absorbție ale soluțiilor standard de PIR (a) și NIC (b) în soluție metanolică de HCl 0,1 M la determinarea liniarității

Determinarea PIR și NIC din capsule operculate prin HPLC.

Ingredientele active (NIC și MU) au fost separate pe o coloană EC/Nucleosil C18 5 μ m (100*4,6mm), detector UV-Vis; faza mobilă a fost preparată prin amestecarea acetonitrilului metanol și cu tampon fosfat pH 7,0 în raport de 40:35:25 la volum; temperatura coloanei cromatografice a fost de 30°C; volum de injectare 20 μ 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.

Au fost înregistrate cromatogramele soluțiilor standard și probă cu concentrații de 20 μ g/ml NIC și 1000 μ g/ml PIR, conținutul de NIC și PIR în formă farmaceutică (Xg) a fost calculat conform standardelor. Metoda a fost validată conform ghidului ICH [124]. Linearitatea metodei cromatografice a fost evaluată în intervalul 5,0–30,0 μ g/ml pentru NIC și 600,0 – 1200,0 μ g/ml pentru PIR, utilizând soluții de cinci niveluri de concentrație. 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 ($p > 0,05$). Rezultatele determinărilor au arătat un LOD de 0,9556 μ g/ml pentru NIC; 50,5719 μ g/ml pentru PIR; LOQ de 2,8895 μ g/ml pentru NIC și, respectiv, 153,2732 μ g/ml pentru PIR [98]. S-a determinat, că nu există vârfuri de interferență la timpii de retenție corespunzători analiților, 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%. 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%.

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%: \bar{X} =0,0045450, SD=0,00003886; IQR=0,00008; $P>0,05$. Metoda dezvoltată a fost inclusă în Monografia Farmaceutică pentru capsule combinate cu conținut NIC și PIR.

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. S-a utilizat coloană cromatografică: EC/4,6 NUCLEOSIL 100-5 C18; detecția în UV – 325 nm; temperatura coloanei –30°C; volumul injecției – 20 μ l; faza mobilă: acetonitril: tampon fosfat pH=3,0 într-un raport de 18:82 (v/v). Conținutul de flavonozide în recalcul la rutozidă în capsule (X, %) se calculează în baza rezultatelor standardelor (Figura 28).

Cantitatea de flavonozide în extractul de păducel din capsule s-a încadrat în limitele 0,400%/500mg până la 0,600%/500 mg. Rezultatele determinărilor arată, 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.

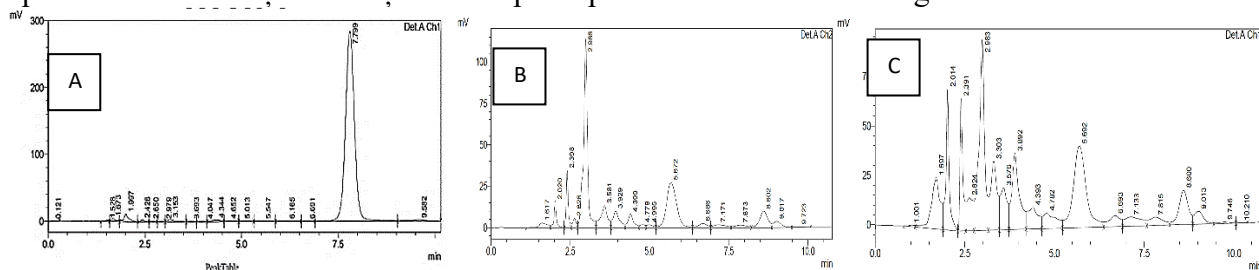


Fig. 28. Cromatogramele soluției standard de rutozidă (A), a soluției standard de EP (B) și a soluției probă din capsule combinate (C)

Evaluarea statistică a rezultatelor dozării flavonozidelor în recalcul la rutozidă din capsule combinate: $\bar{X}=0,5204117$, $SD=0,00825760$; $IQR=0,01648$; $P>0,05$.

4.4. Standardizarea picăturilor auriculare combinate

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. Profilurile de degradare ale substanțelor active au servit drept reper pentru desfășurarea studiilor de stabilitate.

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. După expunerea la diverși factori nocivi, au fost analizate prin HPLC probele cu concentrații de 10 $\mu\text{g/ml}$ IHF și 400 $\mu\text{g/ml}$ MU.

A fost evaluat conținutul cantitativ de IHF și MU în intervalul orar 0-48 ore. În urma testelor efectuate, s-a constatat, ca MU este stabil la hidroliza acidă, iar IHF este instabil, observându-se o degradare practic completă după 48 de ore (70%). La hidroliza bazică 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. MU își menține constant valorile concentrației pe parcursul studiului. S-a constatat, 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. 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. Ambele substanțe nu sunt stabile la temperatură, observându-se o micșorare a concentrațiilor pe parcursul testului. A fost evaluată vâscozitatea picăturilor auriculare pe întreaga perioadă de testare a stabilității; consistența și a proprietățile reologice a picăturilor auriculare la depozitare în condiții normale nu s-a modificat. pH-ul soluției a fost monitorizat pe tot parcursul perioadei de depozitare, toate seriile pilot luate în studiu au avut o fluctuație de pH, în mare parte având tendință de micșorare a acestuia, dar se încadrează în limitele permise (4.5 - 7.0).

Forma farmaceutică a fost depozitată pentru 24 de luni, și 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). După păstrarea timp de 24 luni, parametrii de calitate selectați au fost în limitele stabilite de specificația de calitate. 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 25⁰C.

Stabilitatea picăturilor auriculare cu conținut de EC, CIP și UVB în condiții de stres și determinarea termenului de valabilitate în condiții obișnuite.

Studiile privind cercetările de stabilitate efectuate au arătat, că CIP are o tendință majoră spre degradare fotochimică la expunerea UV. A fost evaluat profilul pH-ului la degradarea fotolitică a CIP. Studiile de degradare accelerate, la temperatura de 60⁰C 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). Evaluarea conținutului de principii active EC și CIP s-a efectuat prin metoda spectrofotometrică. 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. După oxidarea cu H₂O₂ 35% timp de 72 de ore absorbanta CIP crește, aceasta însă nu se explică prin mărirea concentrației, dar prin faptul, că apar produse de degradare, care manifestă absorbanta 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 evaluării cantitative a conținutului de CIP și EC după acțiunea luminii denotă, că lumina este un factor distructiv pentru ambele substanțe. CIP degradează substanțial după primele 3 ore, apoi, produsele de degradare măresc absorbanta, provocând fluctuații de concentrație. EC degradează la lumină după 48 de ore, pierde din concentrație 3,33%. 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.

Forma farmaceutică a fost depozitată pentru o perioadă de 24 de luni, în condiții obișnuite, la temperatura de 25 °C ± 2 °C; umiditatea relativă 60% ± 5%. 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 25⁰C. 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.

Standardizarea picăturilor auriculare 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. Toate cercetările analitice au servit drept bază pentru procesul de standardizare.

Picăturile auriculare au fost standardizate după parametrii: *Descriere* (organoleptic); *Identificare* (reacții chimice, CSS și HPLC); *pH* (potențiomtric); *Impurități înrudite chimic* (CSS); *Dozare* (HPLC, spectrofotometrie UV-Vis, GC); *Conservare*; *Marcare*; *Ambalare*; *Termen de valabilitate* (24 de luni); *Cod ATC* și grupa farmacoterapeutică. S03A A07 Preparate oftalmologice și auriculare – antiinfecțioase.

În urma aplicării procedurii de standardizare au fost alcătuite Specificațiile de calitate pentru produsele farmaceutice: „Izofural M”, picături auriculare pentru tratamentul otitelor; „Otocibex”, picături auriculare pentru tratamentul otomicozelor; Monografiile Farmaceutice și Regulamentele Tehnologice de producere pentru ambele produse.

4.5. Standardizarea capsulelor combinate

Stabilitatea capsulelor cu conținut de PIR, NIC și EP în condiții de stres și determinarea termenului de valabilitate.

Au fost efectuate studii privind influența factorilor de stres (temperatură, hidroliză, oxidare și lumină) asupra stabilității NIC, PIR și EP din capsule combinate. Dozarea principiilor activi în urma degradărilor forțate s-a efectuat prin metoda HPLC. Cele mai importante modificări pe cromatogramele probelor supuse degradării forțate s-au petrecut sub acțiunea luminii și oxidanților. S-a constatat, că după 24 de ore de stres oxidativ cu peroxid de hidrogen de 5 %, NIC degradează cu circa 12%, iar PIR tocmai cu 30%. 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 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 degradare a 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. 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.

Forma farmaceutică a fost depozitată pentru 24 de luni, în condiții obișnuite, la temperatura de 25°C ± 2 °C; umiditatea relativă 60% ± 5%. În această perioadă s-au monitorizat principalii parametri de calitate: identificare, aspect, dizolvare și conținutul substanțelor active (determinat prin metoda HPLC). 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°C.

Standardizarea capsulelor combinate și elaborarea DAN.

Pentru standardizarea capsulelor combinate au fost selectați parametrii de standardizare, care sunt prevăzuți în Farmacopeea Română ed. X și Farmacopeea Europeană ed.11.0. pentru capsule [14, 16]. Toate cercetările analitice au servit drept bază pentru procesul de standardizare.

Capsulele combinate au fost standardizate după parametrii: *Descriere* (organoleptic); *Identificare* (reacții chimice, spectrofotometrie UV-Vis); *Masa medie și uniformitatea masei*; *Dezagregare*; *Dizolvare* (spectrofotometric); *Uniformitatea unităților dozate* (spectrofotometric); *Contaminare microbiană*; *Dozare* (HPLC și spectrofotometrie UV-Vis); *Conservare*; *Marcare*; *Ambalare*; *Termen de valabilitate* (24 de luni); *Cod ATC* și grupa farmacoterapeutică 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” capsule combinate pentru tratamentul surdității senzorieurale; Monografia Farmaceutică și Regulamentul Tehnologic de producere.

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

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). 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* [31, 42]. Compozițiile studiate și cele 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).

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) (tabelul 19). Rezultatele obținute au permis stabilirea LD₀ (lipsa letalității) pentru administrarea enterală este de 300 mg/kg și pentru administrarea parenterală – 100 mg/kg. LD₁₇ (letalitatea a 17% din animale) pentru administrarea enterală a fost stabilită la dozele 1000, 2000 mg/kg. Astfel, matematic, s-a calculat posibila LD₂₅ = 1471 mg/kg. Dozele LD₅₀,

LD₈₄, LD₁₀₀ nu au fost stabilite pe parcursul experimentului. LD₅₀ a fost estimată după metoda TG 423 la doza de 2500 mg/kg. LD₁₀₀ pentru administrarea parenterală a fost stabilită la doza de 1000 mg/kg. După metoda Kurber, LD₅₀ a fost stabilită la doza de 525 mg/kg. S-a calculat posibila LD₂₅ = 263 mg/kg și LD₈₄ la doza de 840 mg/kg. Rezultatele studiului denotă toxicitate acută redusă atât la administrarea enterală, cât și parenterală.

Tabelul 19. Mortalitatea și toxicitatea acută la șoriciei

Dozele	Produsul	Masculi (intraperitoneal)		Femele (intraagastral)		Decesul animalelor (%)
		Nr. anim.	Nr. deces.	Nr. anim.	Nr. deces.	
Lotul-martor	CIP+EC+UVB	6	-	6	-	0
	IHF+MU	6	-	6	-	0
	NIC+PIR+EP	6	-	6	-	0
100 mg/kg	CIP+EC+UVB	6	-	6	0	0
	IHF+MU	6	-	6	0	0
	NIC+PIR+EP	6	-	6	0	0
500 mg/kg	CIP+EC+UVB	6	-	6	3	0
300 mg/kg	IHF+MU	6	-	6	2	0
500 mg/kg	NIC+PIR+EP	6	-	6	0	0
1000 mg/kg	CIP+EC+UVB	6	-	6	6	0
	IHF+MU	6	-	6	4	0
	NIC+PIR+EP	6	-	6	0	0
2000 mg/kg	CIP+EC+UVB	6	-	6	6	0
	IHF+MU	6	-	6	4	0
	NIC+PIR+EP	6	-	6	0	0

La administrarea enterală a dozei de 50 mg/kg la șobolani, 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 20).

Tabelul 20. Toxicitatea acută la șobolani

Dozele, mg/kg	Numărul animalelor	Numărul deceselor
Lotul-martor	6	-
CIP+EC+UVB 300	6	0
CIP+EC+UVB 2000	6	4
<i>Lotul-martor</i>	6	-
IHF+MU 300 mg/kg	6	0
IHF+MU 2000 mg/kg	6	3
<i>Lotul-martor</i>	6	-
NIC+PIR+EP 300 mg/kg	6	0
NIC+PIR+EP 2000 mg/kg	6	0

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, 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.

Rezultatele experimentale au arătat că produsele administrate unimomentan animalelor de laborator (șoareci, șobolani) practic nu manifestă efecte toxice. La șoareci, administrarea intraagastrală și intraperitoneală nu a provocat decesul animalelor și nici modificări macroscopice ale organelor interne. S-a determinat, că produsele investigate posedă toxicitate redusă: clasa de toxicitate 3 și LD₅₀ estimat > 200 mg/kg pentru CIP+EC+UVB, clasa de toxicitate 5 și LD₅₀ estimat > 2500 mg/kg pentru produsul NIC+PIR+EP și clasa de toxicitate 4 pentru produsul IHF+MU (LD₅₀ estimat > 1000 mg/kg). (Tabelul 21). Rezultatele cercetării pot servi ca premisă pentru evaluarea toxicității subacute și cronice a produsele medicamentoase combinate elaborate în cadrul CSM.

Tabelul 21. Determinarea clasei de toxicitate a produsului

<i>Denumirea</i>	<i>Clasa de toxicitate</i>	<i>DL50/LD50 estimat mg/kg</i>
CIP+EC+UVB	3	500 - 300 = 200
IHF+MU	4	3000 - 2000 = 1000
NIC+PIR+EP	5 (practic netoxică)	2000 - 5000 > 2500

5.2. Studii de ototoxicitate pentru produsele farmaceutice combinate elaborate

Studiul farmacologic a fost efectuat 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 NaCl 0,9%), grupul 2 - ototoxicitate medicamentoasă indusă cu sol. Gentamicină, grupul 3 – NaCl 0,9% + picături auriculare IHF+MU și grupul 4 – NaCl 0,9% + capsule NIC+PIR+EP intern prin gavaj. Cercetarea sa efectuat conform cerințelor naționale și internaționale privind efectuarea experimentelor cu implicarea animalelor de laborator [40, 41]. Evaluarea auzului s-a efectuat înainte de experiment și după tratament; Otoscopie – AD (urechea dreaptă), AS (urechea stânga); Reflexul Preyer la zgomot de 80 dB; Impedansmetrie (determinarea funcției urechii medii) : AD - tip A, B, C; AS - tip A, B, C și înregistrarea otoemisiilor acustice tranzitorii (TOEA) și otoemisiilor acustice pe produs de distorsiune (PDOEA) - (determinarea funcției urechii interne) [15, 17, 40].

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 s-a 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 timpanogramă (mobilitate normală a membranei timpanice), și otoemisiile acustice prezente la ambele urechi sunt caracteristice pentru auz normal. La animalele din grupul 2 se constată ototoxicitate medicamentoasă indusă prin Gentamicina (lipsa reflexului Preyer și TOEA, PDOEA). În același timp timpanogramă de tip A, a indicat la funcția normală a timpanului și urechii medii în toate grupurile. Schimbările sunt caracteristice pentru afectarea organului Corti al urechii interne – surditate senzorială (grupul 2). Rezultatele studiului indică, ca la toate animalele din grupul de control, grup 3 și 4 au indici asemănători, caracteristici pentru auz normal și funcționarea adecvată a analizatorului auditiv, fapt ce denota despre lipsa efectelor ototoxice a preparatelor studiate (Tabelul 22.).

Tabelul 22. Inofensivitatea ototoxică a picăturilor auriculare cu IHF și MU și a capsulelor cu NIC, PIR și EP

Grup	Reflex Preyer	Otoscopie	Timpanometrie AD, AS	Otoemisie acustică (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 medicamentoşi IHF+MU; NIC+PIR+EP nu posedă efect ototoxic.

Determinarea ototoxicității picăturilor auriculare cu CIP+EC+UVB s-a determinat după aceeași metodologie, în iulie 2021 (lotul 6 experimental). Rezultatele obținute denotă, că în lotul de studiu nu au fost constatate modificări în comportamentul animalelor. La efectuarea otoscopiei, s-a observat bilateral membrana timpanică de culoare gri și lipsa eliminărilor auriculare, ceea ce denotă lipsa procesului inflamator în urechi. La animalele din lotul tratat cu Gentamicină s-a constatat ototoxicitate medicamentoasă indusă (lipsa reflexului Preyer și TOEA, PDOEA).

Potrivit rezultatelor studiului (Tabelul 23.), toate animalele din lotul experimental 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.

Tabelul 23. 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) *

5.3. Cercetarea activității antibacteriene și antifungice a picăturilor auriculare antibacteriene și antifungice

Determinarea activității antibacteriene a picăturilor auriculare de IHF și MU.

Studiul activității antibacteriene a picăturilor auriculare cu IHF și MU s-a realizat pe următoarele probe: 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 până la concentrații de 125 μg/ml ale substanțelor active, fiind diluate ulterior până la concentrațiile necesare cu BP. Rezultatele obținute pentru activitatea antibacteriană arată, că 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 – nitrofurazolul 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. (Figura 29).

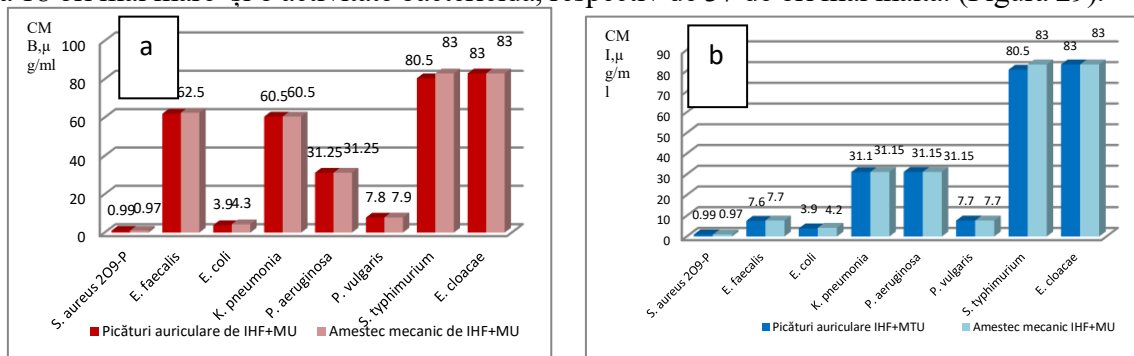


Fig. 29. Acțiunea bactericidă (a) și bacteriostatică (b) a picăturilor auriculare cu IHF și MU comparativ cu amestecul mecanic de IHF și MU

Picăturile auriculare combinate IHF și MU 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. pneumoniae* 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*.

Determinarea activității antibacteriene și antifungice prin testele PCR în timp real (RT-PCR) cu timp scurt de transformare a produsului combinat cu CIP, EC și UVB s-a realizat utilizând tulpinile certificate 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), 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 CIP, EC și UVB a manifestat activitatea antimicrobiană pe toate tulpinile testate, fiind stabilă aceeași CMI=0,5 mg/ml pentru toate tulpinile de microorganisme din studiu. După expoziția de

48 ore și 120 ore forma farmaceutică picături auriculare combinate nu și-a modificat activitatea antibacteriană și fungistică (Figura 30).

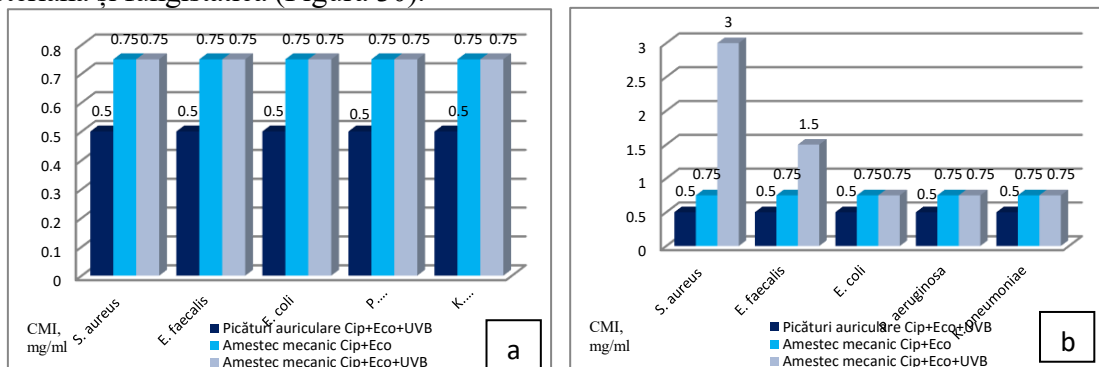


Fig. 30. Acțiunea bacteriostatică a picăturilor auriculare combinate cu CIP+EC+UVB, amestecului mecanic CIP+EC și amestecului mecanic CIP+EC+UVB, după expoziția de 24 și 48 ore (a) și 120 ore (b)

Amestecul mecanic cu 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 31). 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.

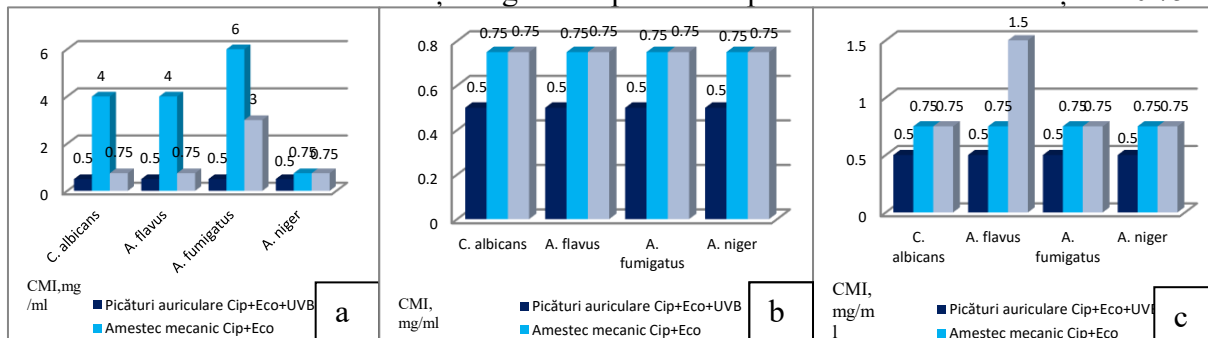


Fig. 31.

31. 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

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 microorganisme testate, cu excepția *A. fumigatus*, față de care a fost înregistrată o CMI=3 mg/ml (Figurile 30, 31).

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 31). După expoziția de 24 ore și 48 ore uleiul volatil de busuioc a potențat acțiunea antibacteriană și antifungică a nitraturii 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*.

5.4. Studiul activității antioxidante a capsulelor combinate

A fost determinată activitatea antioxidantă a extractului uscat de păducel individual și a capsulelor utilizând metodele de captare a radicalului organic DPPH și de decolorare a cation-radicalului ABTS⁺; totodată a fost determinată și capacitatea de chelare a Fe²⁺.

La evaluarea activității antioxidante prin reacția cu radicalul DPPH în calitate de antioxidant standard a fost folosit Trolox în intervalul de concentrații de 1-7,5 μg/ml, și a fost obținută graficul de calibrare: R²=0,9902; y=7,9021x+25,366. 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 μg/ml, iar capsulele

combinat la o concentrație de 99,596 $\mu\text{g/ml}$.

Evaluarea activității antioxidante prin reacția cu radical-cationul $\text{ABTS}^{+\cdot}$ a demonstrat, că activitatea antioxidantă scade nesemnificativ la capsule în comparație cu extractul individual ($p = 0,003948$) (Tabelul 24). Conform testului neparametric Spearman ($p = 0,547$), a fost demonstrată o corelație directă între activitatea extractelor uscate de a reduce cation-radicalul $\text{ABTS}^{+\cdot}$ și concentrația de flavonozide.

Tabelul 24. Activitatea antioxidantă a extractului uscat de păducel și a capsulelor combinate, determinată prin metodele DPPH și ABTS

Probe de analizat	DPPH, IC_{50} , $\mu\text{g/ml}$, Me (IQR)	ABTS, $\mu\text{M TE/g}$ 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)	-	-

În urma evaluării capacității de chelare a fierului de către extractul de păducel individual și de capsulele combinate 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.

CONCLUZII ȘI RECOMANDĂRI

CONCLUZII GENERALE

1. 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. 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.
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 optimale 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 dor 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 optimale 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 $\mu\text{g/ml}$. 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 – nitrofurul. 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 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.
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 sensorineurale.

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 sensorineurale, 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 SELECTIVĂ

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. 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.
4. 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.
5. BRIAN, G., ET AL. Fixed dose drug combinations – are they pharmacoeconomically sound? Findings and implications especially for lower- and middle-income countries. In: *Expert Review of Pharmacoeconomics & Outcomes Research*, 2020, nr. 20:1, pp. 1-26. DOI: [10.1080/14737167.2020.1734456](https://doi.org/10.1080/14737167.2020.1734456).
6. CHAPPE, M., VRIGNAUD, S., DE GENTILE, L., LEGRAND, G., LAGARCE, F., LE GOVIC, Y. Tratatamentul de succes al unei otomicoze recidivante de *Aspergillus niger* cu aplicare locală de voriconazol. In: *J. Mycol. Med*. 2018 , nr. 28 , pp. 396–398.
7. 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>.
8. 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>.
9. 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.
10. DOYTCHINOVA, I. Drug Design-Past, Present, Future. In: *Molecules*. 2022, nr. 27(5), pp. 1496. PMID: 35268598. <https://doi.org/10.3390/molecules27051496>.
11. 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>
12. 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>
13. 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>
14. 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>
15. 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.
16. Farmacopeea Română. ediția a X-a ed. Editura Medicală: București; 2011, 1315 p.
17. 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.
18. Fixed-dose Combination Drugs. [citat 18.12.2023]. Disponibil: <https://www.growthplusreports.com/report/fixeddose-combination-drugs-market/8498>.
19. FOROOTAN A, RSJ*OBACK, JBJ*ORKMAN, B.J*OGREEN, 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.

20. 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>
21. 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>
22. 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>
23. 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>
24. JEYAKUMAR, A., FRANCIS, D. et al. Treatment of idiopathic sudden sensorineural hearing loss. In: *Acta Otolaryngol.* 2006, nr.126(7), pp. 708-713.
25. 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>.
26. LEUCUȚA, SE. *Tehnologie farmaceutica industrială*. Cluj-Napoca: Editura Dacia; 2001. 561 p.
27. LEUCUȚĂ, S.E., TOMUȚĂ, I. *Planuri experimentale și optimizarea formulării medicamentelor*. In: *Risoprint*. 2011. ISBN 978-973-53-0630-4.
28. MITITELU, M., HÎNCU, L. Formularea unor unguente cu clorhidrat de ciprofloxacina 2%. In: *Craiova Medicală*. 2007, vol. 9, nr.1, pp. 56-59. ISSN 1454-6876.
29. Novel Drug Approvals for 2024. [citat 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>.
30. 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.rroij.com/peer-reviewed/quality-by-design-qbd-approach-for-formulation-development-and-evaluation-of-fixeddose-combination-tablets-a-comprehensive-review-93114.html>.
31. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. ISSN: 20745788. <https://doi.org/10.1787/20745788>. [citat 23.09.2023]. Disponibil: https://www.oecd-ilibrary.org/environment/oecd-guidelines-for-the-testing-of-chemicals-section-4-health-effects_20745788
32. 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>.
33. 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].
34. 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).
35. TOSCANI, S., CORNEVIN, L., BURGOT, G. Weak interactions în clobazam-lactose mixtures examined by differential scanning calorimetry: Comparison with the captopril-lactose system. In: *Elsevier*. 2012, pp. 197-204.
36. 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>
37. 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.
38. WALEED, B., ALSHUAIB, JM., SONIA, M. Update On Hearing Loss. In: *Rijeka, IntechOpen*. 2015, pp. 198.
39. 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)
40. ЖУРАВСКИЙ С.Г. Сенсоневральная тугоухость: молекулярно-генетические, структурные и лечебно-профилактические аспекты (клинико-экспериментальное исследование). Автореферат диссертации доктора медицинских наук. 2006, 40 стр.
41. КАРКИЩЕНКО, Н.Н и соавт. *Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях*. Москва. 2010, 358 с.
42. ХАБРИЕВ, Р.У. и соавт. *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ*. Москва, 2005, 827 с. ISBN 5-225- 04219-8

LISTA PUBLICAȚIILOR LA TEMA TEZEI

1. Monografie

1.1. Monografie monoautor

- 1.1.1. UNCU, L. *Metode instrumentale în cercetarea și analiza medicamentelor*. Monografie. Chișinău: Fox trot. 2024. 203 p. ISBN 978-9975-89-300-8.

2. Articole în reviste științifice

2.1. în reviste din bazele de date Web of Science și SCOPUS

- 2.1.1. 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. nr. 9, pp. 1463-1466. ISSN: 0034-7752 (IF: 0.956). https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/178996.
- 2.1.2. VIERIU, M., TANTARU, G., APOSTU, M., PANAINTE, A.D., AGORAEI, 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. nr. 10, pp.1563-1566. ISSN: 0034-7752 (IF: 0.956). https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/178998
- 2.1.3. NEGREȘ, S., ZANFIRESCU, A., IONICĂ, F., MOROȘAN, E., VELESCU, B., ȘEREMET, O., ZBÂRCEA, 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 (for the Printed Edition). ISSN: 2066-8279 (for the On-Line Edition) (IF: 0.811). <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28002512/>
- 2.1.4. 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 (for the Printed Edition), ISSN: 2065-0019 (for the On-Line Edition) (IF: 1.162). <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/>
- 2.1.5. 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 (for the Printed Edition), ISSN: 2065-0019 (for the On-Line Edition) (IF: 1.84). <https://farmaciajournal.com/issue-articles/design-synthesis-molecular-docking-and-antibacterial-activity-evaluation-of-some-novel-norfloxacin-analogues/>
- 2.1.6. 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 α -demethylase inhibitors. In: *Revista de chimie*. 2019, vol. 70, nr. 10, pp. 3522-3526. ISSN: 0034-7752 (for the Printed Edition), ISSN: 2668-8212 (for the On-Line Edition) (IF: 1.605). <https://doi.org/10.37358/RC.19.10.7589>
- 2.1.7. 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(for the Printed Edition), ISSN: 1873-4294 (for the On-Line Edition) (IF: 3.442). DOI: <http://doi.org/10.2174/15680266190304125740>
- 2.1.8. 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 (print), ISSN: 2065-0019 (online). (IF: 1,527). <https://farmaciajournal.com/issue-articles/development-physical-chemical-characterization-and-in-vitro-antibacterial-activity-evaluation-of-a-fixed-dose-combination-isohydrofural-methyluracil-hydrophilic-ointment/>
- 2.1.9. 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 (print), ISSN 2345-1688 (online). (SCOPUS, IF: 0.52). DOI: <http://dx.doi.org/10.19261/cjm.2019.607>
- 2.1.10. STINGACI, E., ZVEAGHINTEVA, M., POGREBNOI, S., LUPAȘCU, L., VALICA, V., UNCU, L., SMETANSCAIA, A., DRUMEA, M., PETROU, A., CIRIC, A., GLAMOCLIIA, J., SOKOVIC, M., KRAVTSOV, V., GERONIKAKI, A., MACAEV, F. 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: 7368, pp. 1-12. ISSN 0960-894X. (IF: 2.7). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2020.127368>
- 2.1.11. 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: 1619, pp. 1-31. (IF: 4.082). DOI: <https://doi.org/10.3390/biom10121619>
- 2.1.12. ZVEAGHINTSEVA, M., STINGACI, E., POGREBNOI, S., SMETANSCAIA, A., VALICA, V., UNCU, L., KRAVTSOV, V.C., MELENIC, E., PETROU, A., GLAMOCLIIA, 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: 4304, pp. 1-21. ISSN 1420-3049. (IF: 4.927) DOI:

<https://doi.org/10.3390/molecules26144304>

- 2.1.13. 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: 588, pp. 1-20. ISSN: 2079-6382 (IF: 4.8). DOI: <https://doi.org/10.3390/antibiotics11050588>
- 2.1.14. 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. 11: 2554, pp.1-51. ISSN: 1999-4923. (IF: 5.4). DOI: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15112554>
- 2.1.15. UNCU, L. Determination of isohydrofural and methyluracil in ear drops by high performance liquid chromatography. In: *Acta Marisiensis - Seria Medica*. 2023, vol. 69, nr. 4, pp. 285-291. ISSN: 2668-7755 (print), ISSN: 2668-7763 (online). DOI: <https://doi.org/10.2478/amma-2023-0049> (SCOPUS).

2.2. în reviste din străinătate recunoscute

- 2.2.1. UNCU, L., CIOBANU, N., GHICAVÎI, V., VALICA, V., COZMIC, V. Elaborarea metodei spectrofotometrice de analiză pentru soluția nazală „Ravirin”. În: *Revista Medico-Chirurgicală a Societății de Medici și Naturaliști din Iași*. 2007, nr. 2, pp. 364-368. ISSN 00487848.
- 2.2.2. PARIU, S., UNCU, L., VALICA, V., NICOLAI, E., MANIUC, M. 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*. 2016, vol. 120, nr.2, supl. 1, pp. 61-69. ISSN 0048-7848.
- 2.2.3. NICOLAI, E., PARIU, S., UNGUREANU, A., MANIUC, M., VALICA, V., UNCU, L. Evaluarea toxicității acute a unui nou produs medicamentos combinat pentru tratamentul afecțiunilor inflamatorii ale urechii. În: *Revista Medico-Chirurgicală a Societății de Medici și Naturaliști din Iași*. 2019, vol. 123, nr. 2, supl.1, pp. 230-239. ISSN 0048-7848

2.3. în reviste din Registrul Național al revistelor de profil cu indicarea categoriei:

categoria B+

- 2.3.1. NICOLAI, E., VISLOUH, O., VALICA, V., PARIU, S., UNCU, L. Stability studies of combined ear drops for the treatment of otitis. In: *Moldovan Medical Journal*. September 2020, vol. 63, nr. 3, pp. 43-50. ISSN 2537-6373 (Print) ISSN 2537-6381 (Online). DOI: [10.5281/Zenodo.3958557](https://doi.org/10.5281/Zenodo.3958557)
- 2.3.2. MAZUR, E., SCHMID, M., UNCU, L. Compatibility determination of potassium orotate with spironolactone by high-performance liquid chromatography. In: *Moldovan Medical Journal*. October 2020, vol. 63, nr. 4, pp. 35-42. ISSN: 2537-6373 (Print) ISSN: 2537-6381 (Online). DOI: [10.5281/zenodo.4016810](https://doi.org/10.5281/zenodo.4016810)
- 2.3.3. DONICI, E., VALICA, V., UNCU, L. Stability studies of isohydrofural and fluocinolone acetonide combined ointment. In: *Moldovan Medical Journal*. October 2020, vol. 63, nr. 4, pp. 12-17. ISSN: 2537-6373 (Print) ISSN: 2537-6381 (Online). DOI: [10.5281/zenodo.4016802](https://doi.org/10.5281/zenodo.4016802)
- 2.3.4. 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, vol. 64, nr. 4, pp. 10-16. ISSN: 2537-6373 (Print). ISSN: 2537-6381 (Online). DOI: <https://doi.org/10.52418/moldovan-med-j.64-4.21.02>

categoria B

- 2.3.5. CIOBANU, N., UNCU, L., DAMASCHIN, N., FABIAN, L., POSTICA, M. Evaluarea fitochimică a uleiului volatil de busuioc. În: *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
- 2.3.6. TIHON, I., UNCU, L. Analiza Izohidrafuralului prin spectroscopie de rezonanță magnetică nucleară. În: *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe Medicale*. 2010, nr. 1(24), pp. 119-123. ISSN 1857-0011. https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare_articol/10874
- 2.3.7. PARIU, 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. În: *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
- 2.3.8. UNCU, L. Aspecte de elaborare și utilizare a produselor farmaceutice combinate. În: *Revista de Științe ale Sănătății din Moldova*. 2020, nr.3(25), pp. 206-215. ISSN 2345-1467. https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/113606
- 2.3.9. 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). În: *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>
- 2.3.10. OHINDOVSCI, A., CICHNA-MARKL, M., COJOCARU-TOMA, M., CALALB, T., CIOBANU, N., FURSENCO, C., CIOBANU, C., BENE, 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>

categoria C

- 2.3.11. UNCU, L., TRIGUBENCO, I., CIOBANU, N., ANGHELICI, N. Elaborarea tehnologiei și cercetarea unguentelor combinate cu cloramfenicol și metiluracil. În: *Anale științifice ale Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”. Materialele conferinței anuale „Zilele Universității”. Probleme medico-biologice și farmaceutice*. Chișinău, 2000, ediția I, volumul 1., pp. 221-224. ISSN 1857-1719. <https://repository.usmf.md/handle/20.500.12710/4003>
- 2.3.12. UNCU, L. Metoda fotometrică de dozare pe bază de extracție pentru un derivat tiazolinic. În: *Anale științifice ale*

- Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”. Materialele conferinței anuale „Zilele Universității”. Probleme medico-biologice și farmaceutice. Chișinău, 2000, ediția I, volumul 1., pp. 252-256. ISSN 1857-1719.*
- 2.3.13. UNCU, L. Utilizarea cromatografiei în strat subțire în analiza difeturului și a formelor lui farmaceutice. În: *Anale științifice ale Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”. Materialele conferinței anuale „Zilele Universității”. Probleme medico-biologice și farmaceutice. Chișinău, 2001, ediția I, volumul 1, pp. 327-330. ISSN 1857-1719.*
- 2.3.14. UNCU, L., CASIAN, I., CASIAN, A., VALICA, V. Metoda HPLC pentru determinarea compușilor alchilzotiuronici în formele farmaceutice. În: *Anale științifice ale Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”. Materialele conferinței anuale „Zilele Universității”. Probleme medico-biologice și farmaceutice. Chișinău, 2002, ediția a III-a, volumul 1, pp. 303-305. ISSN 1857-1719.*
- 2.3.15. UNCU, L., VALICA, V. Elaborarea metodei de neutralizare în mediu anhidru pentru dozarea nitrului de propiconazol. În: *Anale științifice ale Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”. Materialele conferinței anuale „Zilele Universității”. Probleme medico-biologice și farmaceutice. Chișinău, 2004, ediția a V-a, volumul 1, pp. 278-281. ISSN 1857-1719.*
- 2.3.16. UNCU, L., TIHON, I., CAMERZAN, A. Elaborarea metodei spectrofotometrice de dozare a difeturului în capsule operculate. În: *Anale științifice ale Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”. Materialele conferinței anuale „Zilele Universității”. Probleme medico-biologice și farmaceutice. Chișinău, 2006, ediția a VII-a, volumul 1, pp. 284-286. ISSN 1857-1719.*
- 2.3.17. UNCU, L., VALICA, V., GHICAVÎI, V., CAMERZAN, A. Standardizarea capsulelor cu difetur. În: *Anale științifice ale Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”. Probleme medico-biologice și farmaceutice. Chișinău, 2006, ediția a VII-a, volumul 1, pp. 264-266. ISSN 1857-1719.*
- 2.3.18. UNCU, L., STAVER, O., VALICA, V., VÎSLOUH, O., GROSU, P. Elaborarea metodelor de dozare pentru Izohidrafural. În: *Anale științifice ale Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”. Materialele conferinței anuale „Zilele Universității”. Probleme medico-biologice și farmaceutice. Chișinău, 2007, ediția a VIII-a, volumul 2, pp. 216-220. ISSN 1857-1719.*
- 2.3.19. UNCU, L., GHICAVÎI, V., VALICA, V., TIHON, I., COZMIC, V. Utilizarea cromatografiei pe strat subțire în analiza soluției nazale „Ravirin”. În: *Anale științifice ale Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”. Materialele conferinței anuale „Zilele Universității”. Probleme medico-biologice și farmaceutice. Chișinău, 2007, ediția a VIII-a, volumul 2, pp. 225-227. ISSN 1857-1719.*
- 2.3.20. UNCU, L., CIOBANU, N., GHICAVÎI, V. Tehnologia și standardizarea soluției nazale “Ravirin”. În: *Anale științifice ale Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”. Materialele conferinței anuale „Zilele Universității”. Probleme medico-biologice și farmaceutice. Chișinău, 2007, ediția a VIII-a, volumul 2, pp. 247-251. ISSN 1857-1719.*
- 2.3.21. UNCU, L., STAVER, O., VALICA, V., GURANDA, D., PRISACARI, V. Tehnologia, analiza și standardizarea soluției Izofural 0,05%. În: *Anale științifice ale Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”. Materialele conferinței anuale „Zilele Universității”. Probleme medico-biologice și farmaceutice. Chișinău, 2008, ediția a IX-a, volumul 1, pp. 270-273. ISSN 1857-1719. <http://repository.usmf.md/handle/20.500.12710/1710>*
- 2.3.22. UNCU, L., CIOBANU, N., CIOBANU, C., PRISACARI, V., VÎSLOU, O. Tehnologia și determinarea disponibilității farmaceutice pentru unguentele cu Izohidrafural. În: *Anale științifice ale Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”. Materialele conferinței anuale „Zilele Universității”. Probleme medico-biologice și farmaceutice. Chișinău, 2008, ediția a IX-a, volumul 1, pp. 273-279. ISSN 1857-1719. <https://www.researchgate.net/publication/352693343>*
- 2.3.23. TIHON, I., UNCU, L., VALICA, V., VÎSLOU, O., CIOBANU, R. Elaborarea metodei spectrofotometrice de dozare a Metiferonului. În: *Anale științifice ale Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”. Materialele conferinței anuale „Zilele Universității”. Probleme medico-biologice și farmaceutice. Chișinău, 2008, ediția a IX-a, volumul 1, pp. 279-282. ISSN 1857-1719. https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/2030*
- 2.3.24. TIHON, I., UNCU, L., VALICA, V., GHICAVÎI, V., SUVORCHINA, O. Utilizarea cromatografiei pe strat subțire pentru identificarea Metiferonului. În: *Anale științifice ale Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”. Materialele conferinței anuale „Zilele Universității”. Probleme medico-biologice și farmaceutice. Chișinău, 2008, ediția a IX-a, volumul 1, pp. 282-285. ISSN 1857-1719. https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/2045*
- 2.3.25. 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. În: *Anale științifice ale Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”. Materialele conferinței anuale „Zilele Universității”. Probleme medico-biologice și farmaceutice. Chișinău, 2010, ediția a XI-a, volumul 1, pp. 420-423. ISSN 1857-1719. <http://repository.usmf.md/handle/20.500.12710/4003>*
- 2.3.26. UNCU, L., BOBROV, E., VÎSLOUH, O., ANTON, M., VALICA, V., TIHON, I. Studiul compatibilității izohidrafuralului și metiluracilului în aceeași formă farmaceutică. În: *Anale științifice ale Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”. Materialele conferinței anuale „Zilele Universității”. Probleme medico-biologice și farmaceutice. Chișinău, 2010, Ediția a XI-a, volumul 1., pp. 423-427. ISSN 1857-1719. https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare_articol/2890*
- 2.3.27. PRISACARI, V., BURACIOV, S., UNCU, L., VÎSLOUH, O., ȚAPCOV, V. Unguent „Izofural” – preparat antibacterian nou. În: *Anale științifice ale Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”. Materialele conferinței anuale „Zilele Universității”. Probleme medico-biologice și farmaceutice. Chișinău, 2010, ediția a XI-a, volumul 1, pp. 12-15. ISSN 1857-1719. https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare_articol/2939*
- 2.3.28. UNCU, L., IURESCO, T., PARI, 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.
- 2.3.29. UNCU, L., VÎSLOUH, O., BOBROV, E., VALICA, V., PRISACARI, V., SUVORCHINA, O., TREAPIȚINA, T. Studiul stabilității și determinarea termenului de valabilitate a unguentului «Izofural». În: *Anale științifice ale Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”*. *Materialele conferinței anuale „Zilele Universității”*. *Probleme medico-biologice și farmaceutice*. Chișinău, 2012, ediția a XIII-a, volumul 1, pp. 254-259. ISSN 1857-1719. <http://repository.usmf.md/handle/20.500.12710/4722>
- 2.3.30. UNCU, L., BOBROV, E., UNCU, A., TIHON, I. Studiul disponibilității farmaceutice a unguentului combinat cu Izohidrafural și Metiluracil. În: *Anale științifice ale Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”*. *Materialele conferinței anuale „Zilele Universității”*. *Probleme medico-biologice și farmaceutice*. Chișinău, 2012, ediția a XIII-a, volumul 1, pp. 259-262. ISSN 1857-1719. https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare_articol/18132
- 2.3.31. BOBROV, E., UNCU, L., VALICA, V., STAVER, O., UNCU, A. Preparate antibacteriene și regenerante combinate pe piața farmaceutică a Republicii Moldova. În: *Anale științifice ale Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”*. *Materialele conferinței anuale „Zilele Universității”*. *Probleme medico-biologice și farmaceutice*. Chișinău, 2013, ediția a XIV-a, volumul 1, pp. 353-357. ISSN 1857-1719. <http://repository.usmf.md/handle/20.500.12710/2670>
- 2.3.32. PODGORNÎI, A., VALICA, V., MACAEV, F., UNCU, L. Aspecte farmaceutice ale isoconazolului. În: *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, volumul 1, pp. 392-395. ISSN 1857-1719. https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare_articol/28258

2.4. proces de acreditare

- 2.4.1. UNCU, L., EFROS, O. Elaborarea metodelor de analiză pentru unele picături oftalmice. În: *Revista Farmaceutică a Moldovei*. 2004, nr. 1, pp. 28-33. ISSN 1812-5077.
- 2.4.2. DONICI, E., CREȚU, D., VALICA, V., MAZUR, E., UNCU, L. Aplicarea proiectării experimentelor în analiza farmaceutică. În: *Revista Farmaceutică a Moldovei*. 2021, vol.47, nr.3, 2021. pp. 19-22. ISSN: 1812 – 5077. https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare_articol/142190
- 2.4.3. UNCU, L., EVTODIENCO, V., MORAR, A., CAZACU, M., DONICI, E. Aplicarea difracției cu raze X în cercetarea compatibilității substanțelor active cu excipienții. În: *Revista Farmaceutică a Moldovei*. 2021, vol. 47, nr. 3, 2021. pp. 23-26. ISSN: 1812 – 5077. https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare_articol/142192

3. Articole în culegeri științifice

3.1. în lucrările conferințelor științifice internaționale (peste hotare)

- 3.1.1. UNCU, L. Produse farmaceutice multicomponent în tratamentul otomicozelor. În: *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. https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/108455
- 3.1.2. 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. https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/108457
- 3.1.3. NICOLAI, E., PARI, S., VALICA, V., UNCU, L. Evaluarea conținutului de impurități de etilendiaminoderivat 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. https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/108472
- 3.1.4. 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 г. Минск: БГМУ, 2021, с. 2085-2089. ISBN 978-985-21-0904-8. <https://chimiefarmaceutica.usmf.md/ro/chimie-farmaceutica-cercetare/publicatii>
- 3.1.5. УНКУ, Л.В., ЧОБАНУ, Н.Т., ВАЛИКА, В.В. Научные исследования в области фармации на фармацевтическом факультете Государственного Университета Медицины и Фармации Им. Николая Тестемичану. 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 г. Минск: БГМУ, 2021, с. 2090-2092. ISBN 978-985-21-0904-8. <https://chimiefarmaceutica.usmf.md/ro/chimie-farmaceutica-cercetare/publicatii>*

3.2. în lucrările conferințelor științifice naționale cu participare internațională

- 3.2.1. 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” dedicată memoriei Vasile Procopișin și Nadejda Ciobanu. Lucrări în extenso. 19-21 aprilie 2018*. Chișinău, 2018, pp. 85-89. ISBN 978-99-75-3159-5-1. https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/124790
- 3.2.2. 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, 28 aprilie 2023, Chișinău, pp. 104-116. ISBN 978-

4. Teze în culegeri științifice

4.1. în lucrările conferințelor științifice internaționale (peste hotare)

- 4.1.1. 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.
- 4.1.2. UNCU, L., VALICA, V., TIHON, I. Analiza spectrală a izohidrofuralului. În: *Materialele Congresului XIII Național de Farmacie*, Cluj-Napoca, România, 2006, p. 96.
- 4.1.3. UNCU, L., CIOBANU, N., VALICA, V., PRISACARI, V., TIHON, I., VISLOUH, O., BURACIOVA, S. Analysis of ointment containing Isohydrafural. In: *The XIV National Congress of Pharmacy from România. Scientific Abstracts, 13-16 oct. 2010*. Târgu-Mureș, România, 2010, Acta Medica Mariesensis nr. 56(2), pp. 27-29. ISSN 2068-3324.
- 4.1.4. УНКУ, Л., ЮРЕСКО, Т., ПАРИЙ, С., ВЫСЛОУХ, О., СУВОРКИНА, О., УНКУ, А. Предпосылки разработки новых комбинированных ушных капель. В: *Материалы Конференции молодых ученых "Молодёжь — медицине будущего", посвященной 165-летию со дня рождения В.В. Подвысоцкого*. Одесса, Украина, 2012, с. 75. ISBN 978-966-443-053-8.
- 4.1.5. МАНЮК, М., ВАЛИКА, В., ПАРИЙ, С., АБАБИЙ, П., УНКУ, Л., РУСНАК, Л. 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
- 4.1.6. BOBROV-DONICI, E., UNCU, L. The study of physical and chemical compatibility of Izohydrafural, 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. <https://repository.usmf.md/handle/20.500.12710/16375>
- 4.1.7. UNCU, L., VALICA, V., DONICI, E., CIOBANU, N., VÎSLOUH, O., SUVORCHINA, O., POPA, C., UNCU, A. 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.
- 4.1.8. MANIUC, M., VALICA, V., PARII, S., UNCU, L., ABABII, P., RUSNAC, L., NICOLAI, E. 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.
- 4.1.9. 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 „Пятнадцатая наукова конференція “Львівські хімічні читання - 2015”*. Liviv, Ucraina, 2015, p. 38.
- 4.1.10. PARII, S., UNCU, L., VALICA, V., NICOLAI, E., MANIUC, M. Elaborarea și evaluarea toxicității acute a unui nou produs medicamentoasă pentru tratamentul otitelor. În: *Volumul de rezumate Conferința Zilele Spitalului Clinic de Recuperare „Prevenția și recuperarea: continuitate sau contradicție”*. Ediția a XIV-a. Iași, România, 2016, p. 47.
- 4.1.11. PARII, S., UNCU, L., NICOLAI, E., VALICA, V., MANIUC, M. Preclinical studies of a new drug combination of ear drops form. În: *Volumul de rezumate al II-lea Congres Național de ORL Pediatrie. Iași, România, 2016, "Revista specializata ORL.ro"*. București, România, nr. 31(2), 2016, p. 65. <https://www.medichub.ro/reviste-de-specialitate/orl-ro/abstracte-orl-id-714-cmsid-63>
- 4.1.12. NICOLAI, E., UNCU, L., VÎSLOUH, O., STAVER, M., PARII, S. 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, p. 75.
- 4.1.13. 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"*. Ediția I. București, România, 2016, p. 17. ISBN 978-973-0-21752-0.
- 4.1.14. 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, metiuracil și floclonolol acetat. 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.
- 4.1.15. UNCU, L. The use of HPLC method in analysis of multicomponent drugs. In: *Book of abstracts, the 17th International Symposium and Summer School on Bioanalysis. Congress Centre. Ohrid, Republic of Macedonia, 2017, p. 15. <https://repository.usmf.md/handle/20.500.12710/5597>*
- 4.1.16. UNCU, L., NICOLAI, E., PARII, S., VÎSLOUH, O., VALICA, V. Modification of pH in the preformulation of combined ear drops with ciprofloxacin. In: *Book of abstracts, the 18th International Symposium and Summer School on Bioanalysis*. Komarno, Slovakia, 2018, p. 73. ISBN 978-80-8122-241-2.
- 4.1.17. CIOBANU, C., UNCU, L. Development and validation of HPLC method for quantification of chlorogenic acid in plant extracts. In: *Book of abstracts, the 19th International Symposium and Summer School on Bioanalysis*. Suior, Romania, 2019, pp. 68-69. ISBN 978-973-0-29898-7.
- 4.1.18. MAZUR, E., VALICA, V., PARII, S., GASPAR, A., UNCU, L. Compatibility studies of active pharmaceutical ingredients in combined formulation through FT-IR analysis. In: *Book of abstracts, the 19th International Symposium and Summer School on Bioanalysis*. Suior, Romania, 2019, pp. 92-93. ISBN 978-973-0-29898-7.

- 4.1.19. UNCU, L. Incompatibilități și interacțiuni in vitro la combinarea medicamentelor într-o seringă sau perfuzie. În: *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.
- 4.1.20. NICOLAI, E., PARII, 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.
- 4.1.21. RUS, L.M., KACSO, I., PARII, S., VALICA, V., UNCU, L., IUGA, C. A. 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. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7010338/pdf/2019-supplement-6.pdf>
- 4.1.22. FURSENCO, C., CALALB, T., UNCU, L. Antibacterial and antifungal activities of some solidago species. B: *Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів»: матеріали IV Міжнар. наук.-практ. конф.* March 12-13, 2020, Kharkov, Ukraine, 2020, pp. 28-29. ISSN 2412-0456.
- 4.1.23. UNCU, L., VIRLAN, V., MAZUR, E., DONICI, E., VALICA, V. Validarea metodei spectrofotometrice de dozare a unor picături auriculare combinate. În: *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://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/155319
- 4.1.24. 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.* June 24-30, 2022, Pécs, Hungary p. 86. <http://bioanalitika.aok.pte.hu/meetings/SummerSchool2022/SummerSchool2022.html>
- 4.1.25. 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*, December 7-8, 2022, at the National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine. УДК 615.1– Харків: НФаУ, 2022, pp. 86-88. https://nuph.edu.ua/wp-content/uploads/2021/04/yps_materiali-konferencii_2022.pdf
- 4.1.26. 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, 10-15th july, 2023, p.41. ISSN: 2668-7755, ISSN: 2668-7763 (Online). https://actamedicamarisiensis.ro/wp-content/uploads/2023/07/AMM_69_S5_web.pdf
- 4.1.27. 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 (21stISSSB)*. Târgu Mureș, Romania, 10-15th july, 2023, p.16. ISSN: 2668-7755, ISSN: 2668-7763 (Online). https://actamedicamarisiensis.ro/wp-content/uploads/2023/07/AMM_69_S5_web.pdf
- 4.1.28. UNCU, L., VALICA, V. Cercetări de elaborare și analiză a unor forme farmaceutice combinate pentru farmacoterapia maladiilor auriculare. În: *Materialele Congresului Național de Farmacie, Ediția a XIX-a*, 27-29 septembrie, 2023. Cluj-Napoca, România., Editura Medicală Universitară "Iuliu Hațieganu", p. 185. ISBN 978-606-10-2144-4. https://ibn.idsi.md/project_articles/17166
- 4.2. în lucrările conferințelor științifice internaționale (Republica Moldova)**
- 4.2.1. UNCU, L., PARII, 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. (SCOPUS, IF 0,16). https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/166576
- 4.2.2. DONICI, E., UNCU, L., UNCU, A., VÎSLOUH, O. Combined ointments used in the treatment of infected wounds. In: *Archives of the Balcan Medical Union. The official journal of the Balcan Medical Union, Celsius Publishing House.* Vol. 48, 2013, pp. 104-105. ISSN 0041-6940. (SCOPUS, IF 0,16). https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/166567
- 4.2.3. NICOLAI, E., PARII, S., UNCU, L., RUSNAC, L., VALICA, V. Perspectivele utilizării picaturilor auriculare noi. În: *Materialele Conferinței Științifice Internaționale a doctoranzilor „Tendențe contemporane ale dezvoltării științei: viziuni ale tinerilor cercetători”*. Chișinău, Republica Moldova, 2014, p. 25. ISBN 978-9975-4257-2-8. https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/71788
- 4.2.4. 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.
- 4.2.5. 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. June 7-9, 2023*. Chisinau: În:Tip. Taicom „Ridgeone Group” SRL, 2023, p. 270. Print: ISSN 1584-9244 ISSN-L 1584-9244 Online: ISSN 2558-815X. <https://chimiefarmaceutica.usmf.md/ro/chimie-farmaceutica-cercetare/publicatii>
- 4.3. în lucrările conferințelor științifice naționale cu participare internațională**
- 4.3.1. BOBROV, E., UNCU, L., VALICA, V., TIHON, I., MOVILĂ, L., VÎSLOUH, O. Elaborarea metodelor de identificare pentru unguentul combinat cu izohidrafural și metiluracil. În: *Revista Farmaceutică a Moldovei*. 2011, nr. 1-4, pp. 13-15. ISSN 1812-5077
- 4.3.2. UNCU, L., CIOBANU, N., VOLOIȘN, A. Studii de preformulare a unor picături auriculare cu acțiune antimicrobică.

- 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., 31 octombrie 2014. În: *Revista Farmaceutică a Moldovei*. Chișinău, 2014, nr. 3-4, p. 44. ISSN 1812-5077. https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/41641
- 4.3.3. DONICI, E., UNCU, L., PRISACARI, V. Studiul compatibilității fizico-chimice a izohidrafuralului, metiluracilului și benzocainei prin metoda HPLC. 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., 31 octombrie 2014. În: *Revista Farmaceutică a Moldovei*. Chișinău, 2014, nr. 3-4, p. 48. ISSN 1812-5077. https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/41648
- 4.3.4. UNCU, L., GADIRCA, A., PARII, S., VÎSLOUH, O., SUVORCHINA, O. Medicamente combinate utilizate în tratamentul hipoacuziei neurosenzoriale. 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., 31 octombrie 2014. În: *Revista Farmaceutică a Moldovei*. Chișinău, 2014, nr. 3-4, p. 52. ISSN 1812-5077. https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/41654
- 4.3.5. UNCU, L., COJOCARU-TOMA, M., PAȘCAN, D., VÎSLOUH, O., SUVORCHINA, O. Dozarea flavonozidelor prin metoda HPLC. 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., 31 octombrie 2014. În: *Revista Farmaceutică a Moldovei*. Chișinău, 2014, nr. 3-4, p. 54. ISSN 1812-5077. https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/41657
- 4.3.6. 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. 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., 31 octombrie 2014. În: *Revista Farmaceutică a Moldovei*. Chișinău, 2014, nr. 3-4, p. 56. ISSN 1812-5077. https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/41661
- 4.3.7. MĂTĂSARI, M., PODGORNÎI, A., VALICA, V., MACAEV, F., UNCU, L. Analiza spectrofotometrică a soluției etanolică de isoconazol nitrat. 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., 31 octombrie 2014. În: *Revista Farmaceutică a Moldovei*. Chișinău, 2014, nr. 3-4, p. 60. ISSN 1812-5077. https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/41666
- 4.3.8. 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. Materialele Conferinței științifice cu participare internațională “De la design-ul medicamentului la calitate și inofensivitate” în memoria profesorului Filip Babilev 80 ani de la naștere. În: *Revista Farmaceutică a Moldovei*. 2016, nr. 1-4, p.13. ISSN 1812-5077. https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare_articol/124596
- 4.3.9. UNCU, L., NICOLAI, E., POMANĂ, E., VALICA, V., PARII, S., DONICI, E. Studiul stabilității picăturilor auriculare cu conținut de ciprofloxacina 3 mg/ml. Materialele Conferinței științifice cu participare internațională “De la design-ul medicamentului la calitate și inofensivitate” în memoria profesorului Filip Babilev 80 ani de la naștere. În: *Revista Farmaceutică a Moldovei*. 2016, nr. 1-4, pp. 65-67. ISSN 1812-5077. <http://repository.usmf.md/handle/20.500.12710/16360>
- 4.3.10. 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”, 19-21 aprilie 2018*. Chișinău: Tipogr. „Imprint Star”, 2018, pp. 172-174. ISBN 978-9975-3159-5-1. ISBN 978-99-75-3159-5-1. https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/124816
- 4.3.11. 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”*, 21-23 octombrie 2020. Chișinău, 2020, p. 660. https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare_articol/126922
- 4.3.12. 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”*, 21-23 octombrie 2020. Chișinău, 2020, p. 663. https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare_articol/126926
- 4.3.13. OHINDOVSCI, A., UNCU, L. Evaluarea pieței farmaceutice autohtone a preparatelor combinate. În: *Culegere de rezumate, Congresul consacrat aniversării a 75-a de la fondarea USMF “Nicolae Testemițanu”*, 21-23 octombrie 2020. Chișinău, 2020, p. 674. https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/126943
- 4.3.14. 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”*, 21-23 octombrie 2020. Chișinău, 2020, p. 686. https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/126955
- 4.3.15. 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”*, 21-23 octombrie 2020. Chișinău, 2020, p. 688. https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/126957
- 4.3.16. GUJA, E., MAZUR, E., UNCU, L. Compatibilitatea substanțelor active cu cele auxiliare în preparate medicamentoase. În: *Congresul național consacrat aniversării a 75-a de la fondarea USMF “Nicolae Testemițanu”*. Chișinău, 2020, p. 667. https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare_articol/126930

- 4.3.17. VÎRLAN, V., DONICI, E., MAZUR, E., VALICA, V., UNCU, L. Cedarea *in vitro* a ciprofloxacinei și econazolului din picături auriculare combinate. În: *Materialele Conferinței științifice cu participare internațională „Perspective în Cercetarea Produselor Farmaceutice de Origine Sintetică și Naturală”*, 14 mai 2021. Chișinău, Republica Moldova, 2021, nr. 2 (46), pp. 34-35. ISSN 1812-5077. https://ibn.idsi.md/ru/vizualizare_articol/142445
- 4.3.18. UNCU, L., MORAR, A., CAZACU, M. Determinarea proprietăților fizico-chimice ale uleiului volatil de busuioc, utilizat pentru prepararea picăturilor auriculare combinate. În: *Materialele Conferinței Științifico-Practice Naționale cu Participare Internațională „Actualități și Perspective în Studiul Farmaceutic al Plantelor Medicinale”*, 1-2 octombrie 2021. Chișinău, 2021, p. 99. ISBN 978-9975-56-909-5. https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/143045
- 4.3.19. EVTODIENCO, V., UNCU, L. Evaluarea pieței produselor farmaceutice cu conținut de extract de păducel. În: *Materialele Conferinței Științifico-Practice Naționale cu Participare Internațională „Actualități și Perspective în Studiul Farmaceutic al Plantelor Medicinale”*, 1-2 octombrie 2021. Chișinău, 2021, p. 111. ISBN 978-9975-56-909-5. https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/143062
- 4.3.20. CAZACU, M., MORAR, A., DONICI, E., EVTODIENCO, V., UNCU, L. Evaluarea stabilității metiluracilului în produse monocomponente și în combinații. În: *Materialele Conferinței științifico-practice cu participare internațională “Sistemul de asigurare a calității medicamentului –probleme și soluții”*, 29 septembrie 2021. Chișinău, 2021, nr. 4, pp. 36-37. ISSN 1812 – 5077. <https://repository.usmf.md/handle/20.500.12710/18602>
- 4.3.21. MORAR, A., CAZACU, M., MAZUR, E., EVTODIENCO, V., UNCU, L. Stabilitatea econazolului la influența factorilor de stres. În: *Materialele Conferinței științifico-practice cu participare internațională “Sistemul de asigurare a calității medicamentului –probleme și soluții”*, 29 septembrie 2021. Chișinău, 2021, nr. 4, pp.38-39. ISSN 1812 – 5077. https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/142121
- 4.3.22. EVTODIENCO, V., MORAR, A., CAZACU, M., UNCU, L. Aplicarea difracției cu raze X în cercetarea compatibilității substanțelor active cu excipienții. În: *Materialele Conferinței științifice anuale “Cercetarea în biomedicină și sănătate: calitate, excelență și performanță”*, 20-22 octombrie 2021. Chișinău, 2021, p. 436. ISBN 978-9975-82-223-7. <http://repository.usmf.md/handle/20.500.12710/19258>
- 4.3.23. UNCU, L., EVTODIENCO, V., MAZUR, E. Validarea metodei spectrofotometrice pentru dozarea unor capsule combinate. În: *Materialele Conferinței științifice anuale “Cercetarea în biomedicină și sănătate: calitate, excelență și performanță”*, 20-22 octombrie 2021. Chișinău, 2021, p. 446. ISBN 978-9975-82-223-7. <http://repository.usmf.md/handle/20.500.12710/19279>
- 4.3.24. UNCU, L. CAPCELEA, V., GANDACOV, V., MAZUR, E., DONICI, E., VALICA, V. Determinarea gaz-cromatografică a uleiului volatil de busuioc în picături auriculare combinate. Culegere de rezumate, Conferința științifică anuală „Cercetare în biomedicină și sănătate: calitate, excelență și performanță”. În: *Moldovan Journal of Health Sciences*. 2022, nr. 3 nr. 1(29), p. 480. ISSN 2345-1467. https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/169560
- 4.3.25. CAZACU, M., MORAR, A., DONICI, E., UNCU, L. Aplicarea cromatografiei pe strat subțire în studiile de degradare accelerată a picăturilor auriculare combinate. Culegere de rezumate, Conferința științifică anuală „Cercetare în biomedicină și sănătate: calitate, excelență și performanță”. În: *Moldovan Journal of Health Sciences*. 2022, nr. 3 nr. 1(29), p. 481. ISSN 2345-1467. <https://repository.usmf.md/handle/20.500.12710/24930>
- 4.3.26. MORAR, A., CAZACU, M., GANDACOV, V., MAZUR, E., UNCU, L. Stabilitatea soluției în determinarea spectrofotometrică a picăturilor auriculare antimicotice combinate. Culegere de rezumate, Conferința științifică anuală „Cercetare în biomedicină și sănătate: calitate, excelență și performanță”. În: *Moldovan Journal of Health Sciences*. 2022, nr. 3 nr. 1(29), p. 482. ISSN 2345-1467. <https://repository.usmf.md/handle/20.500.12710/22458>
- 4.3.27. DONICI, E., BOGUȘ, D., UNCU, L. Evaluarea preclinică a formelor farmaceutice auriculare. În: *Direcții de reformare a sistemului farmaceutic din perspectiva cursului european al Republicii Moldova*, Ediția a 2-a, 28 aprilie 2023. Chișinău, 2023, pp. 135-136. ISBN 978-5-88554-205-0. https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare_articol/180987
- 4.3.28. CERENIUC, A., FORNEA, D., UNCU, L. Particularități de analiză HPLC a formelor farmaceutice combinate. În: *Direcții de reformare a sistemului farmaceutic din perspectiva cursului european al Republicii Moldova*, Ediția a 2-a, 28 aprilie 2023. Chișinău, 2023, pp. 138-139. ISBN 978-5-88554-205-0. https://ibn.idsi.md/sites/default/files/imag_file/138-139_32.pdf
- 4.3.29. FORNEA, D., CERENIUC, A., UNCU, L. Evaluarea stabilității nicergolinei în produse farmaceutice monocomponente și în combinații. În: *Direcții de reformare a sistemului farmaceutic din perspectiva cursului european al Republicii Moldova*, Ediția a 2-a, 28 aprilie 2023. Chișinău, 2023, pp. 142-143. ISBN 978-5-88554-205-0. https://ibn.idsi.md/sites/default/files/imag_file/142-143_24.pdf
- 4.3.30. FORNEA, D., CERENIUC, A., GANDACOV, V., UNCU, L. Stabilitatea piracetamului în forme farmaceutice solide. Culegere de rezumate. În: Conferința științifică anuală „Cercetare în biomedicină și sănătate: calitate, excelență și performanță”. În: *Moldovan Journal of Health Sciences*. 2023, nr. 10(3), p. 645. ISSN 2345-1467. https://conferinta.usmf.md/wp-content/uploads/Culegerea-Rezumate-MJHS_10_3_2023_anexa1.pdf
- 4.3.31. MAZUR, E., GANDACOV, V., UNCU, L. Stabilitatea unei forme farmaceutice ototopice combinate în condiții de degradare accelerate. Culegere de rezumate. Conferința științifică anuală „Cercetare în biomedicină și sănătate: calitate, excelență și performanță”. În: *Moldovan Journal of Health Sciences*. 2023, nr.10(3), p. 655. ISSN 2345-1467. https://conferinta.usmf.md/wp-content/uploads/Culegerea-Rezumate-MJHS_10_3_2023_anexa1.pdf
- 4.3.32. 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. Culegere de rezumate. Conferința științifică anuală „Cercetare în biomedicină și sănătate: calitate, excelență și performanță”. În: *Moldovan Journal of Health Sciences*. 2023, nr. 10(3), p. 661. ISSN 2345-1467. https://conferinta.usmf.md/wp-content/uploads/Culegerea-Rezumate-MJHS_10_3_2023_anexa1.pdf

4.3.33. **UNCU L.** Utilizarea metodelor instrumentale în cercetarea farmaceutică experimentală. Culegere de rezumate. Conferința științifică anuală „Cercetare în biomedicină și sănătate: calitate, excelență și performanță”. În: *Moldovan Journal of Health Sciences*. 2023, nr. 10(3), p. 679. ISSN 2345-1467. https://conferinta.usmf.md/wp-content/uploads/Culegere-Rezumat-MJHS_10_3_2023_anexa1.pdf

4.4. în lucrările conferințelor științifice naționale

4.4.1. FORNEA, D., CERENIUC, A., MAZUR, E., **UNCU, L.** Evaluarea stabilității extractului de păducel în forme farmaceutice combinate. În: *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, 2023, p. 96. ISBN 978-9975-89-295-7. <https://farmaciesociala.usmf.md/ro/cercetare-33/manifestari-stiintifice>

4.4.2. CERENIUC, A., FORNEA, D., GRIȚCAN, A., **UNCU, L.** Metode de analiză a extractelor vegetale cu conținut de flavonozide și polifenoli. În: *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, 2023, p.100. ISBN 978-9975-89-295-7. <https://farmaciesociala.usmf.md/ro/cercetare-33/manifestari-stiintifice>

4.4.3. BOGUȘ, D., BOZBEI, I., DONICI, E., **UNCU, L.** Aplicarea spectroscopiei de masă în analiza uleiului volatil de busuioc. În: *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, 2023, p.117. ISBN 978-9975-89-295-7. <https://farmaciesociala.usmf.md/ro/cercetare-33/manifestari-stiintifice>

5. Brevete de invenții și alte obiecte de proprietate intelectuală, materiale la saloanele de invenții

5.1. brevete de invenții

5.1.1. MANIUC, M., VALICA, V., PARI, S., **UNCU, L.**, ABABII, P., NICOLAI, E., STEFARTA, R. Preparat medicamentos pentru tratamentul otitelor. MD 4291 C1. Publicat 28.02.2015. În: *BOPI*. 2014 nr. 7, pp. 22-23.

5.2. materiale la saloanele de invenții

5.2.1. MANIUC, M., VALICA, V., PARI, S., **UNCU, L.**, ABABII, P., RUSNAC, L., STEFARTA, R. Preparat medicamentos pentru tratamentul afecțiunilor organelor ORL sub formă de picături auriculare. În: *Catalogul Oficial al Expoziției Internaționale Specializate „INFOINVENT-2013”*. Chișinău, 2013, pp. 100-101.

5.2.2. MANIUC, M., VALICA, V., PARI, S., **UNCU, L.**, ABABII, P., NICOLAI, E., STEFARTA, R. Medicinal preparation for the treatment of inflammation of the external and the middle ear. În: *Catalogul Oficial al Expoziției Internaționale Specializate Euroinvent*. Ediția a VII-a. Iași, România, 2015, p. 148. ISBN 978-606-13-2474-3.

5.2.3. MANIUC, M., VALICA, V., PARI, S., **UNCU, L.**, ABABII, P., NICOLAI, E., STEFARTA, R. Preparat medicamentos pentru tratamentul otitelor. În: *Catalogul Oficial al Salonului Internațional al Cercetării, Inovării și Inventicii Pro Invent*. Ediția a XIII-a. Cluj-Napoca, România, 2015, p. 247. ISBN 978-606-737-048-5.

5.2.4. PARI, S., RUDIC, V., MANIUC, M., VALICA, V., **UNCU, L.**, JUCOVSKI, C., NICOLAI, E. Noi metode de diagnostic audiologic, pronostic de eficacitate a protezării auditive și tratament medicamentos în afecțiunile ORL. În: *Expoziția Internațională Specializată Pro Invent*. Ediția a XIV-a. Cluj-Napoca, România, 2016, pp. 199-200. ISBN 978-606-737-048-5.

5.2.5. PARI, S., RUDIC, V., MANIUC, M., VALICA, V., **UNCU, L.**, ABABII, P., NICOLAI, E., JUCOVSKI, C. New methods for audiology diagnosis, predicting the hearing instrument care and pharmacological treatment in ear disorders. În: *Catalogul Oficial al Expoziției Internaționale Specializate Euroinvent*. Ediția a VIII-a. Iași, România, 2016, p. 181. ISBN: 978-606-775-212-0

5.2.6. PARI, S., RUDIC, V., MANIUC, M., VALICA, V., **UNCU, L.**, ABABII, P., NICOLAI, E., JUCOVSKI, C. New methods for audiology diagnosis, predicting the hearing aids care and drug treatment in ear disorders. În: *Catalogul Oficial al Salonului Internațional Specializat Inventica*. Ediția a XIX-a. Iași, România, 2016, pp. 233-234. ISSN 1844 – 7880.

5.2.7. MANIUC, M., VALICA, V., PARI, S., **UNCU, L.**, ABABII, P., NICOLAI, E., ȘTEFARȚĂ, R. Medicinal preparation for treatment of otitis. În: *Katalog 43 Hrvatski Salon Inovacija INOVA – BUDI UZOR*. Zagreb, Hrvatska, 2018, pp. 191-192.

5.2.8. PARI, S., GONCIAR, V., CUROCICHIN, G., **UNCU, L.**, BUZA, A., NICOLAI, E., VALICA, V. Improvement of diagnosis and pharmacotherapy of the ear disorders. În: *Expoziția Internațională Specializată INVENTICA 2020*. Iași, România, 2020, p. 363. ISSN:1844-7880

5.2.9. PARI, S., MANIUC, M., VALICA, V., GONCIAR, V., CUROCICHIN, G., **UNCU, L.**, BUZA, A., NICOLAI, E. Eficientizarea diagnosticului și farmacoterapiei afecțiunilor analizatorului auditiv. În: *Catalogul Oficial al Salonului Internațional de Invenții și Inovații „TRAIAN VUIA”* Timișoara, România, ediția a VII-a, 2022. pp. 55-56. ISBN 978-606-35-0496-9.

5.2.10. PARI, 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. În: *Catalogul oficial al Expoziției Internaționale Specializate EUROINVENT, ediția a 15-a*. Iași, Romania, 2023, pp. 167-168. https://www.euroinvent.org/cat/EUROINVENT_2023.pdf

5.3. certificat cu drept de autor

5.3.1. BENE, A., CIOBANU, N., **UNCU, L.** Obținerea și studiul chimic al extractelor uscate din *Hyperici herba* și *Hyperici flores*. IP USMF „Nicolae Testemițanu” din Republica Moldova, Seria O, Nr. 6919 din 02.06.2021

5.4. *certIFICATE DE INOVATOR*

- 5.4.1. MANIUC, M., VALICA, V., PARII, S., UNCU, L., ABABII, P., RUSNAC, L., NICOLAI, E. *Picături auriculare pentru tratamentul afecțiunilor inflamatorii ale urechii*. Nr. 5308. Publicat: 15.02.2014. IP USMF „Nicolae Testemițanu”, Chișinău.
- 5.4.2. VALICA, V., UNCU, L., PARII, S. *Preparat medicamentos pentru tratamentul afecțiunilor neuro-senzoriale ale analizatorului auditiv*. Nr. 5415. Publicat: 27.01.2015. IP USMF „Nicolae Testemițanu”, Chișinău.
- 5.4.3. VALICA, V., CABAC, V., UNCU, L., PARII, S., CIOBANU, N., VÎSLOUH, O., NICOLAI, E., POGOREVICI, D. *Picături auriculare pentru tratamentul otitelor și otomicozelor*. Nr. 5497. Publicat: 28.03.2016. IP USMF „Nicolae Testemițanu”, Chișinău.
- 5.4.4. UNCU, L., PRISACARI, V., VALICA, V., VÎSLOUH, O., UNCU, A., DONICI, E. *Medicamentul combinat nou: Unguent Izoformal M pentru tratamentul plăgilor infectate*. Nr. 5677. Publicat: 20.02.2019. IP USMF „Nicolae Testemițanu”, Chișinău.
- 5.4.5. UNCU, L., PRISACARI, V., VALICA, V., VÎSLOUH, O., UNCU, A., DONICI, E. *Medicamentul combinat nou: Unguent Izoformal MB pentru tratamentul arsurilor infectate*. Nr. 5678. Publicat: 20.02.2019. IP USMF „Nicolae Testemițanu”, Chișinău.
- 5.4.6. DONICI, E., PRISACARI, V., VALICA, V., VÎSLOUH, O., UNCU, A., UNCU, L. *Medicamentul combinat nou: Unguent Izoformal F pentru tratamentul unor afecțiuni dermatologice infectate de origine inflamatorie*. Nr. 5679. Publicat: 20.02.2019. IP USMF „Nicolae Testemițanu”, Chișinău.
- 5.4.7. UNCU, L., VALICA, V., PARII, S., MAZUR, E., BENEĂ, A., GANGACOV, V., DONICI, E. *Aplicarea metodologiei de elaborare și validare a metodei spectrofotometrie UV-VIS de dozare pentru produse farmaceutice combinate*. Nr. 6213. Publicat: 12.03.2024. IP USMF „Nicolae Testemițanu”, Chișinău.
- 5.4.8. UNCU, L., VALICA, V., PARII, S., MAZUR, E., GRIȚCAN, A., GANGACOV, V., DONICI, E. *Aplicarea metodologiei de elaborare și validare a metodei cromatografiei de lichide de înaltă presiune (HPLC) de dozare pentru produse farmaceutice combinate*. Nr. 6214. Publicat: 12.03.2024. IP USMF „Nicolae Testemițanu”, Chișinău.
- 5.4.9. UNCU, L., VALICA, V., PARII, S., MAZUR, E., GRIȚCAN, A., GANGACOV, V., DONICI, E. *Aplicarea metodologiei perfectate de studii de stabilitate pentru produse farmaceutice combinate*. Nr. 6215. Publicat: 12.03.2024. IP USMF „Nicolae Testemițanu”, Chișinău.
- 5.4.10. UNCU, L., RUS L. M., TOMUȚĂ I., ȘEPELI, D., HEGHEȘ, S. C., IUGA, C. A., KACSO, I., PARII, S., VALICA, V. *Determinarea compatibilității nicergolinei, piracetamului și extractului de păducel în capsule combinate*. Nr. 6216. Publicat: 12.03.2024. IP USMF „Nicolae Testemițanu”, Chișinău.
- 5.4.11. UNCU, L., RUS L. M., TOMUȚĂ I., ȘEPELI, D., HEGHEȘ, S. C., IUGA, C. A., PARII, S., VALICA, V. *Determinarea compatibilității clorhidratului de ciprofloxacină, nitratului de econazol și uleiului volatil de busuioc în picături auriculare combinate*. Nr. 6217. Publicat: 12.03.2024. IP USMF „Nicolae Testemițanu”, Chișinău.
- 5.4.12. UNCU, L., VALICA, V., PARII, S., CIOBANU, N., MAZUR, E., GRIȚCAN, A., ADAUJI, S., DONICI, E. *Prepararea picăturilor auriculare combinate cu conținut de clorhidrat de ciprofloxacină, nitrat de econazol, ulei volatil de busuioc*. Nr. 6218. Publicat: 12.03.2024. IP USMF „Nicolae Testemițanu”, Chișinău.
- 5.4.13. UNCU, L., VALICA, V., PARII, S., CIOBANU, N., MAZUR, E., GRIȚCAN, A., ADAUJI, S., DONICI, E. *Prepararea picăturilor auriculare combinate cu conținut de izohidrafural și metiluracil*. Nr. 6219. Publicat: 12.03.2024. IP USMF „Nicolae Testemițanu”, Chișinău.

6. Manuale

6.1. *manuale pentru învățământul universitar*

- 6.1.1. VALICA, V., UNCU, L., DONICI, E., TREAPIȚÎNA, T., MAZUR, E., ȘTEFANEȚ, T. *Chimie farmaceutică Vol.I*. Manual. Sub redacție Valica V. Chișinău: *Garomont-Studio*, 2022. 330 p. ISBN 978-9975-162-36-4.

6.2. *indicații/îndrumări metodice*

- 6.2.1. UNCU, L., DONICI, E., MAZUR, E., TREAPIȚÎNA, T., ȘTEFANEȚ, T., VALICA, V. *Inorganic drug substances*. Methodical recommendation. Under the editorship VALICA V. SRL” Foxtrot”, Chișinău, 2023, 56 p. ISBN: 978-9975-89-278-0.
- 6.2.2. UNCU, L., DONICI, E., MAZUR, E., TREAPIȚÎNA, T., ȘTEFANEȚ, T., VALICA, V. *Substanțe medicamentoase anorganice*. Recomandare metodică. Sub redacție VALICA V. Chișinău: „Foxtrot”, 2023. 56 p. ISBN: 978-9975-89-280-3.
- 6.2.3. UNCU, L., DONICI, E. *Validation of methods of analysis*. Methodical recommendation. Under the editorship UNCU L. Chișinău: „Foxtrot”, 2023. 56 p. ISBN: 978-9975-89-281-3.
- 6.2.4. UNCU, L., DONICI, E. *Validarea metodelor de analiză*. Recomandare metodică. Sub redacție UNCU L. Chișinău: „Foxtrot”, 2023. 56 p. ISBN: 978-9975-89-282-3.

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 farmacopeice 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 УХА

Диссертация доктора habilitat 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 изогидрофура, 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 изогидрофуралом 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, изогидрофурал, 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 Тестемицану.

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 Procopis* University Pharmaceutical Center and the laboratories Scientific Centre for Drug Research of the *Nicolae Testemitanu* State University of Medicine and Pharmacy.

UNCU LIVIA

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

316.01 – FARMACIE

Rezumatul tezei de doctor habilitat în științe farmaceutice

Aprobat spre tipar: 10.06.2024

Hârtie 80 gr/m². Tipar digital.

Coli de tipar: 5,95

Formatul hârtiei 60x84 1/16

Tiraj: 100 ex.

Comanda nr.: 15

Tipografia: ÎI „Covalciuc Maria”

Chișinău, str. Vl. Korolenko 61/3

Tel.: +373 68 044 510