

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„CAROL DAVILA”, BUCUREȘTI
ȘCOALA DOCTORALĂ
DOMENIUL FARMACIE**

**APLICAREA PRINCIPIILOR QUALITY BY
DESIGN (QbD) ȘI ANALYTICAL QUALITY BY
DESIGN (AQbD) LA PROIECTAREA ȘI
EVALUAREA FORMELOR FARMACEUTICE
MODERNE**

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Conducător de doctorat:

PROF. UNIV. DR. LĂCRĂMIOARA POPA

Student-doctorand:

MAHER ABDULRAZZAQ AL-HAKEEM

Cuprins

Introducere

Capitolul 1

Conceptul de calitate prin proiectare (Quality by Design, QbD). Evoluție și perspective

1.1 Abordarea proiectării calității în consonanță cu înțelegerea produsului final

1.2. Abordarea proiectării calității în consonanță cu înțelegerea procesului tehnologic de obținere

1.3. Abordarea calității în proiectarea metodelor de analiză (Analytical Quality by Design, AQbD)

1.4 Abordarea calității prin proiectare în formularea farmaceutică. Formularea prin proiectare (Formulation by Design, FbD)

1.5 Implementarea conceptului calității prin proiectare (Quality by Design, QbD) în ciclul de viață al produsului

1.5.1 Aplicarea QbD în testarea stabilității, dizolvării și bioechivalenței

1.5.2 Emergența aplicării conceptului de calitate prin proiectare (QbD) în dezvoltarea unui produs și extinderea acestuia

1.6 Excipienții în conceptul de calitate prin proiectare (Quality by Design, QbD)

1.7 Spațiul de proiectare (Design Space, DS)

1.8 Evaluarea și gestionarea riscurilor

1.9 Conceptul de tehnologie de analiză a procesului (Process Analytical Technique, PAT)

1.9.1 Tehnologia de analiză a procesului (PAT) alături de calitatea prin proiectare (QbD. Abordare din perspectiva tehnologiei farmaceutice

1.9.2 Îmbunătățirea continuă a proceselor tehnologice prin PAT

1.10 Impactul calității prin proiectare (Quality by Design, QbD) în industria farmaceutică

1.11 Aplicarea QbD pentru validarea procesului tehnologic

1.12 Provocări în implementarea calității prin proiectare (QbD)

1.13 QbD și proiectarea experimentelor (Design of Experiments, DoE)

Capitolul 2

Conceptul de calitate analitică prin proiectare (Analytical Quality by Design, AQbD)

- 2.1 Analytical Quality by Design (AQbD) în cadrul ciclului de viață al unui produs sau al unui proces
- 2.2 Abordare convențională versus calitate analitică prin proiectare (Analytical Quality by Design - AQbD)
- 2.3 Proiectarea (elaborarea) metodelor din perspectiva AQbD
- 2.4. Validarea metodelor
 - 2.4.1 Verificarea continuă a performanței procedurii în cazul unui produs medicamentos
- 2.5 Perspectiva de reglementare

Capitolul 3

Stabilitate prin proiectare (Stability by Design, SbD)

- 3.1 Conceptul de stabilitate prin proiectare, ca abordare derivată a QbD
- 3.2 Profilul țintă de stabilitate (Stability Target Profile, STP) și atributele legate de stabilitate (Stability Related Attributes, SRA)
- 3.3 Evaluarea riscului în stabilitate
- 3.4 Proiectarea experimentelor (Design of Experiment, DoE)
- 3.5 Strategia de control (Control Strategy, CS)
- 3.6 Monitorizarea continuă a stabilității (Continuous Stability Monitoring, CSM)
- 3.7 Beneficiile potențiale ale SbD (Stability by Design)
- 3.8 Inspecția de reglementare și provocările acesteia
- 3.9 Stabilitatea ca atribut critic de calitate pentru produsele farmaceutice
- 3.10 Testarea stabilității în dezvoltarea de noi medicamente
- 3.11 Ghiduri de calitate ICH pentru studiile de stabilitate
- 3.12 Testarea în condiții de stres (condiții extreme)
- 3.13 Testarea stabilității primului lot clinic a unei substanțe medicamentoase
- 3.14 Stabilitatea de stocare

Capitolul 4

QbD - Dezvoltarea orientate a produsului: Formularea prin proiectare (Formulation by Design, FbD)

4.1 Introducere - Aplicarea proiectării sistematice și setarea intensivă a QbD practică în mediul industrial

4.2 Quality Target Product Profile (QTPP)

4.3 Terminologia FbD (Formulation by Design)

4.3.1 Dezvoltarea unui model de corelație

4.3.2 Software pentru proiectare și optimizare

4.3.3 Strategia generală FbD (Formulation by Design) pentru dezvoltarea produselor medicamentoase

4.3.4 Validarea optimizării

4.3.5 Opinia expertului

Capitolul 5

Ipoteza de lucru și obiectivele generale

Capitolul 6

Metodologia generală a cercetării

6.1 Profil analitic țintă (Analytical Target Profile, ATP)

6.2 Evaluarea riscurilor

6.3 Optimizarea metodei

6.4 Validarea metodei

6.4.1 Precizie și acuratețe

6.4.2 Liniaritate

6.4.3 Limita de detecție (Limit of Detection, LoD)

6.4.4 Limita de cuantificare (Limit of Quantification, LoQ)

6.4.5 Robustețea metodei

Capitolul 7

Aplicarea conceptului Analytical Quality by Design (AQbD) pentru dezvoltarea și validarea unei metode de evaluare cantitativă a Levetiracetamului din forme farmaceutice solide orale

7.1 Levetiracetam – aspecte de farmacocinetică și farmacodinamie

7.2 Profilul analitic țintă (Analytical Target Profile, ATP)

7.3 Evaluarea inițială a riscurilor

7.4 Instrumente și condiții cromatografice

7.5 Metodologia de lucru

7.5.1 Pregătirea soluției tampon

7.5.2 Pregătirea soluției standard

7.5.3 Pregătirea probelor

7.5.4 Procedura de injectare

7.6 Proiectarea spațiului experimental (Response Space, RS)

7.7 Analiza suprafețelor de răspuns (Response Space, RS)

7.8 Validarea metodei

7.8.1 Specificitatea

7.8.2 Liniaritatea

7.8.3 Acuratețea

7.8.4 Robustețea și strategia de control

7.9 Rezultate și discuții

Capitolul 8

Aplicarea principiilor AQbD pentru dezvoltarea și optimizarea unei metode analitice la determinarea diclofenacului sodic din supozitoare, ca forme farmaceutice cu administrare sistemică

8.1 Diclofenac sodic – supozitoare, pentru acțiune sistemică

8.2. Metodologia de lucru

8.2.1. Pregătirea soluției standard

8.2.2. Pregătirea soluției probei

8.2.3 Condiții cromatografice

8.3 Analiza metodelor de răspuns

8.4 Validarea metodei

8.4.1 Acuratețe

8.4.2 Precizie

8.4.3 Liniaritatea

8.4.4 Robustețea metodei

8.5 Rezultate și discuții

Capitolul 9

Aplicarea principiilor AQbD pentru dezvoltarea și optimizarea unei metode de evaluare cantitativă a Ciclesonidei din forma farmaceutică aerosol

9.1 Ciclesonida – forme farmaceutice inhalatorii (aerosoli)

9.2 Instrumente și condiții cromatografice

9.2.1. Pregătirea soluției tampon

9.2.2 Pregătirea soluției de recuperare

9.2.3. Pregătirea soluției standard

9.3 Metoda analizei răspunsurilor

9.4 Validarea metodei

9.4.1 Liniaritatea

9.4.2. Limita de detectare (Limit of detection, LoD)

9.4.3. Limita de cuantificare (Limit of Quantification, LoQ)

9.4.4 Specificitatea și degradarea forțată

9.4.5 Robustețea metodei

9.5. Rezultate și discuții

Concluzii și contribuții personale

Bibliografie

Anexe

În prezent, în literatura de specialitate, se pot decela o multitudine de definiții ale calității medicamentelor. De exemplu, calitatea farmaceutică poate stabili dacă produsul este conform cu atributele sale de calitate prestabilite, sau cu specificațiile reglementare. O altă definiție a calității ține cont de faptul ca medicamentul să fie fabricat în conformitate cu cele mai recente reglementări. În mod similar, într-o altă abordare, un atribut al calității care ar putea fi măsurat ar fi disponibilitatea medicamentului pentru pacient.

FDA nu a dat o definiție unificată a calității medicamentului, ci doar o definiție operațională ai cărei principii cheie sunt următoarele: oferă performanța clinică înscrisă pe etichetă; nu introduce riscuri suplimentare din cauza de exemplu a unor contaminanți neașteptați și, foarte important pentru industria din domeniu, asigură un sistem de producție robust care reduce defectele și asigură disponibilitatea medicamentelor pentru client (Woodcock, 2004). Încă de la începutul anilor 2000, FDA susține o abordare bazată pe risc și pe știința calității în domeniul farmaceutic, abordare cunoscută drept “calitate prin proiectare” (Quality by Design, QbD) [1, 2]. Accentul FDA pe QbD a început cu recunoașterea faptului că o creștere a frecvenței de testarea nu îmbunătățește neapărat calitatea produsului. În schimb, calitatea trebuie integrată în produs [2, 3].

QbD este considerat în prezent ca un agent cheie pentru realizarea unui adevărat salt „cuantic” [5, 6]. Încă de la început, QbD poate fi urmărit în domeniul Planificării Calității, una dintre cele trei coloane ale Calității propuse de Joseph M. Juran și cunoscută sub numele de Trilogia lui Juran (celelalte fiind Îmbunătățirea Calității și Controlul Calității) [7]. Această verificare a Calității, care ar trebui să înceapă înainte de momentul inițial al procesului și înainte de a se face alocări de capital, lucru care este considerat ca un adevăr fundamental.

Principiile conceptului QbD au fost aplicate și în dezvoltarea metodelor analitice și poartă numele de AQbD (Analytical Quality by Design). În mod similar cu procesul QbD, rezultatele obținute cu ajutorul AQbD sunt bine conturate și înțelese, dar și potrivite pentru obiectivele și robustețea metodei. Acest concept AQbD propune și atinge, în mod constant, performanța dorită a ciclului de viață, privind produsele medicamentoase.

Proiectarea studiilor prezentate în lucrarea de doctorat implică aplicarea conceptului Calității Analitice prin Proiectare (AQbD) pentru autentificarea și aplicarea abordărilor convenționale în timpul dezvoltării dinamice a unei metode de evaluare. Studiile desfășurate și prezentate în lucrarea de doctorat au avut ca scop dezvoltarea unei noi abordări

cuprinzătoare care să indice stabilitatea următoarelor substanțe medicamentoase: levetiracetam, diclofenac sodic și ciclesonidă, în formele farmaceutice clasice (tablete, supozitoare și respectiv, dispozitiv pentru inhalare), utilizând AQbD.

În cadrul **Capitolului 1** al tezei de doctorat sunt prezentate obiectivele bine conturate ale conceptului Quality by Design (Calitate prin Proiectare) și anume: îmbunătățiri substanțiale ale calității produselor, ale robusteții proceselor datorită cunoștințelor științifice sporite, extinse spre produs.

Capitolul 2 al prezentei lucrări include descrierea conceptului de Analytical Quality by Design (Calitatea Analitică prin Proiectare) ca și component al Quality by Design, și care oferă oportunitatea de dezvoltarea a unei metode analitice, proiectând calitatea, odată cu aceasta.

Pentru **Capitolul 3** al tezei de doctorat este rezervat conceptul derivat de Stability by Design (Stabilitate prin Proiectare) care are la bază strategii științifice și evaluarea riscurilor care se aplică pentru cunoașterea produselor în vederea celei mai adecvate stabilități.

Capitolul 4 este destinat în totalitate prezentării conceptului Formulation by Design (Formulare prin Proiectare) care reprezintă o extensie a conceptului Quality by Design și care permite îmbunătățirea cunoașterii produsului și dezvoltării procesului printr-o modalitate general acceptată.

Partea de contribuție personală debutează în **Capitolele 5 și 6**, care cuprind ipoteza de lucru și obiectivele generale ale tezei, precum și metodologia generală a cercetării. Aceasta se continuă cu **Capitolele 7, 8 și 9** ce reprezintă partea de studiu experimental.

Obstacolele evidențiate în cadrul acestei lucrări, care împiedică aplicarea calității analitice prin proiectare sunt reprezentate, în principal, în acest moment, de absența unei înțelegeri complete ale acestui concept în industria farmaceutică și de absența unei descrieri clare a elementelor (AQbD).

Lucrarea de doctorat, realizată în cadrul Laboratorului Disciplinei de Chimie - Fizică și Coloidală din Facultatea de Farmacie, a Universității de Medicină și Farmacie "Carol Davila" din București, se dorește o teză de pionierat și o modestă contribuție la îmbunătățirea cunoștințelor din acest domeniu emergent.

Scopul lucrării actuale este acela de a stabili o nouă abordare analitică prin utilizarea tehnicii HPLC. Etapa de optimizare se face utilizând abordarea QbD combinată cu metodologia suprafeței de răspuns. Toți pașii au fost efectuați conform ghidurilor (instrucțiunilor) ICH.

Abordarea generală a calității analitice prin proiectare – Analytical Quality by Design (AQbD) se concretizează în analiza detaliată a unor forme de dozare farmaceutică, cum ar fi comprimatele, supozitoarele și formele dozate inhalatorii, cu aplicarea etapelor AQbD; modelele sunt abordate pentru proiectarea analizei farmaceutice, aducând ca element de noutate modul de optimizare a metodei analitice, calitatea proiectată în cadrul acestor metode analitice, prin aplicarea unui program algorimic, a acestor produse specifice.

Punctul de plecare al cercetării personale este caracterizarea profilelor analitice țintă - Analytical Target Profiles (ATPs), împreună cu attributele critice de calitate - Critical Quality Attributes (CQAs). Următorul pas este identificarea factorilor de risc care afectează procesul. Elaborarea spațiului de proiectare adaptat folosind proiectarea experimentelor - Design of Experiments (DoE) a fost unul dintre obiectivele tezei alături de modalitățile de optimizare a suprafețelor de răspuns (RSM) folosind diferite tehnici (cum ar fi cele de proiectare experimentală de tip Central Composite Design), pentru dezvoltarea metodei analitice.

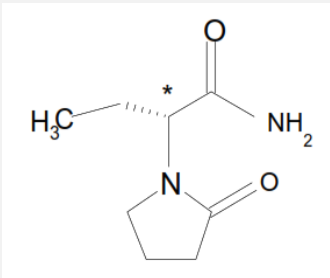
Unul din obiectivele programului experimental (**Capitolul 7**) a constat în dezvoltarea și validarea unei metode analitice de evaluare cantitativă a substanței medicamentoase, Levetiracetam (antiepileptic), din formulări solide pentru administrare orală, prin folosirea tehnicilor AQbD.

Levetiracetam este o substanță medicamentoasă cu acțiune antiepileptică (utilizată pentru tratamentul crizelor convulsive). Levetiracetam este indicat ca monoterapie în tratamentul crizelor convulsive parțiale, cu sau fără generalizare secundară, la pacienți adulți și adolescenți cu epilepsie nou diagnosticată, începând cu vârsta de 16 ani.

Abordarea și aplicarea AQbD, dezvoltată și prezentată în cele ce urmează, s-a bazat pe utilizarea metodologiei suprafețelor de răspuns (Response Surface Methodology, RSM) pentru evidențierea nivelelor optime ale variabilele studiate. Metoda analitică conturată este rapidă și are nivele superioare de precizie și acuratețe. În esență, principalele obiective ale acestei abordări sunt: înțelegerea scopului fundamental al metodei, propunerea unor măsuri semnificative de control ale calității și în final, proiectarea unor proceduri aflate în concordanță cu sistemul vizat.

În tabelele 1 și 2 sunt prezentate: profilul general al levetiracetamului ca substanță medicamentoasă și principalele metode de analiză cantitativă, alături de o scurtă descriere a acestor metode.

Tabel 1. Levetiracetam – generalități

Substanța medicamentoasă	Levetiracetam [8-11]
Clasificarea	Anticonvulsivante
CAS ID	102767-28-2
Formulă	$C_8H_{14}N_2O_2$
Greutate moleculară	170,209 g/mol
Structura	
IUPAC ID	(S)-2-(2-oxopyrrolidin-1-yl) butanamide
Punct de topire	115-119 °C
Solubilitate	Apă 104g/100mL
Log p	-0,6
Forma de dozare	Comprimate, sirop, forme injectabile

Tabel 2. Levetiracetam – metode de analiză cantitativă cromatografică. Caracteristici ale metodelor de analiză

Nr.	Ingredient activ analizat	Metodă	Condiții de cromatografie	Referință bibliografică
1	Levetiracetam comprimat	HPLC în fază inversă	Coloană Prontosil C18 (5 μ m, 150 $\times$ 4,6 cm), Faza mobilă : soluție tampon și a cetonitril (90:10)	[12]
2	Levetiracetam comprimat	HPLC în fază inversă	Coloană Hypersil C 8 (250 $\times$ 4,6 mm, 5 μ m), Faza mobilă : MeOH, tampon KH ₂ PO ₄ (38.4:61.6, v/v)	[13]
3	Levetiracetam comprimat	HPLC în fază inversă	Coloană Gemini C18 (4,6 $\times$ 100 mm, 5 μ m), Faza mobilă : apă și a cetonitril, (90:10:20v/v/v)	[14]
4	Levetiracetam comprimat	HPLC	Coloană Sun Fire C18 (4,6 $\times$ 250mm, 5 μ m), Faza mobilă : a cetonitril și dihidrogen fosfat de potasiu (f 15:85 v/v)	[15]
5	Levetiracetam comprimat	HPLC în fază inversă	Coloană Symmetry C18 (4,6 $\times$ 250 mm, 5 μ m), Faza mobilă: metanol: apă (45:55 v/v)	[15]

Profilul țintă de calitate al metodei analitice (Quality Target Method Profile, QTMP) reprezintă o etapă preliminară a abordării calității analitice prin proiectare și este o înglobare a tuturor factorilor posibili care definesc criteriile caracteristice ale metodei analitice țintă. Pentru a putea atinge obiectivele QTMP, au fost alese mai multe atribute analitice critice (Critical Analytical Attributes, CAA) posibile: timp de retenție (timpul la care un analit specific eluează), factor de eluare, numărul de talere teoretice, toate acestea reflectând eficiența metodei. Astfel, elementele semnificative de risc sunt descoperite în timpul

experimentelor preliminare și sunt evaluate utilizând diagrama Ishikawa (având formă de “os de pește”).

Proiectarea experimentelor s-a realizat folosind Central Composite Design, ca și tehnică de proiectare a spațiului de răspuns (Response Space, RS) în vederea construirii unui model de ordinul doi (model pătratic) pentru fiecare variabilă de răspuns fără a utiliza strict un plan factorial complet

Valorile variabilei de răspuns – timp de retenție analizate statistic în cadrul unui model pătratic sunt redate în tabelul 3.

Tabel 3. Timp de retenție și parametrii statistici în model pătratic

Sursă	Suma de pătrate	Df (Degree of freedom)	Medie pătratică	F - valoare	p - valoare	
Model	27,43	9	3,05	82,09	< 0,0001	semnificativ
A - Debit	6,81	1	6,81	183,30	< 0,0001	
B - Temperatura coloanei	13,08	1	13,08	352,26	< 0,0001	
C - Concentrația de metanol	0,9610	1	0,9610	25,88	0,0005	
AB	0,0045	1	0,0045	0,1215	0,7346	
AC	0,0378	1	0,0378	1,02	0,3367	
BC	0,0105	1	0,0105	0,2831	0,6063	
A²	2,71	1	2,71	72,95	< 0,0001	
B²	4,45	1	4,45	119,77	< 0,0001	
C²	0,0939	1	0,0939	2,53	0,1429	
Rezidual	0,3713	10	0,0371			
Lack of fit	0,2620	5	0,0524	2,40	0,1798	nu semnificativ
Eroare pură	0,1093	5	0,0219			
Cor Total	27,80	19				

În figura 1 este redată reprezentarea suprafeței de răspuns (3D) pentru variabila – timp de retenție în funcție de factorii cromatografici: A – debit (mL min^{-1}) și B – temperatura ($^{\circ}\text{C}$), iar în figura 7.4 graficul de contur cu evidențierea curbilor de nivel.

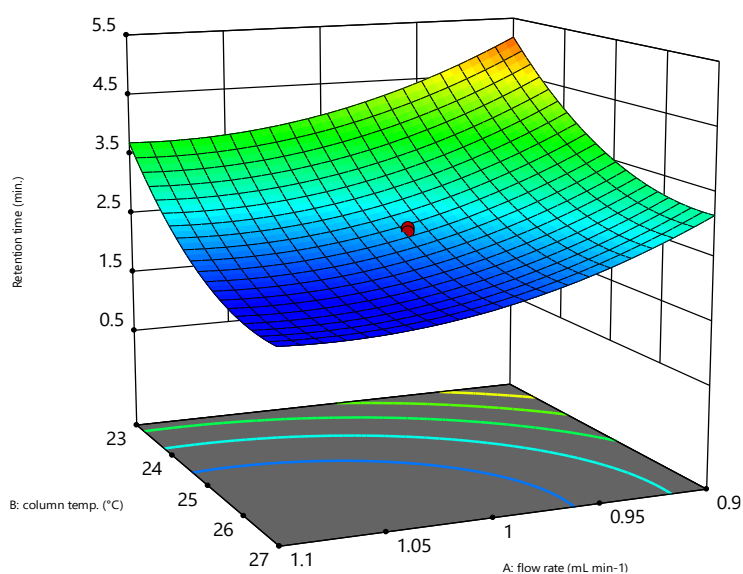
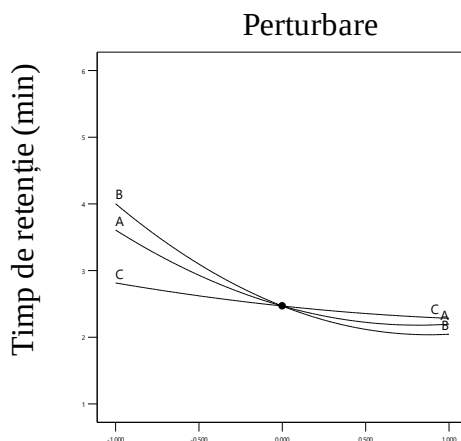


Fig. 1. Diagrama 3D a suprafeței de răspuns, timp de retenție, funcție de debit și temperatura coloanei

Devierea față de punctul de referință (nivel central, de “0”) pentru factorii analitici A, B, C testați, pe intervalul de referință $[-1, +1]$, față de valorile variabilei de răspuns analizate (timp de retenție) este ilustrată în figura următoare (Figura 2).



Deviere de la punctul de referință

Fig. 2. Graficele de perturbare pentru tehnica HPLC pentru levetiracetam care demonstrează influența variabilelor cromatografice (A,B și C) asupra răspunsurilor

Graficul probabilității normale indică și o distribuție normală, după o linie dreaptă a rezidualelor obținute după aplicarea modelului polinomial ca în figura 3.

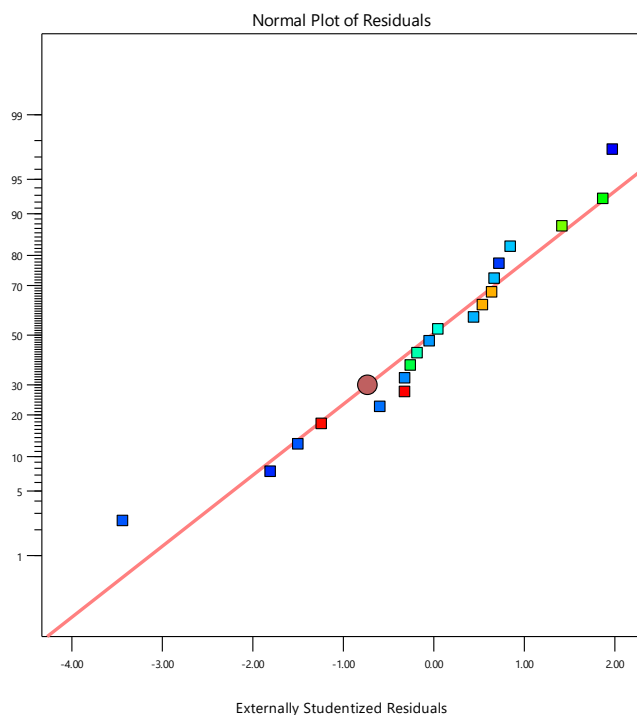


Fig 3. Probabilitate normală: graficul probabilității normale indică dacă reziduurile urmează o distribuție normală, urmând astfel linia dreaptă

Capitolul 7 continuă cu determinarea robusteții prin modificarea ușoară a debitului fazei mobile, a pH-ului soluției tampon, a temperaturii și a compoziției fazei mobile. S-a derulat o analiză pentru o concentrație a Levetiracetamului de 6 ppm, în condițiile experimentale modificate. Nu au existat modificări observabile, marcate în cromatograme, fapt care a demonstrat că s-a dezvoltat o metodă robustă, așa cum se arată în tabelul de mai jos (Tabel 7.11).

S-a propus o strategie de control, bazată pe evaluarea riscului, pe setul de attribute critice de metodă (Critical Method Attributes, CMA) și pe rezultatele testelor de robustețe și precizie care definesc criteriile de potrivire ale sistemului. Considerând că CMA sunt direct conectate cu ATP și furnizează informații despre calitatea cromatogramei, ar trebui să fie monitorizate și controlate pentru asigurarea dovezilor pe baza că metoda furnizează date analitice de încredere.

Tabel 4. Validarea robusteții pentru Levetiracetam

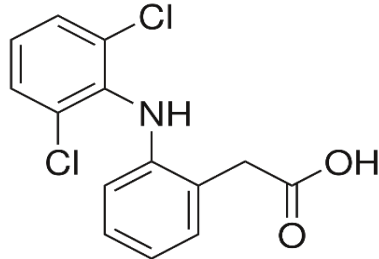
Parametru	Aria Implicită	Aria după schimbare	Media ariei	SD	RSD	RSD %
Modificarea coloanei de temperatură 25 la 26 °C	1821,8	1839,01	1822,3 înainte	2,28 înainte	0,125 înainte	0,463
	1829,14	1840,84	1837,4 după	1,85 după	0,135 după	
	1823,13	1832,45				
Modificarea în fază mobilă *	1825,28	1832,54	1822,3 înainte	2,29 înainte	0,125 înainte	0,214
	1819,14	1832,33	1828,99	2,46 după	0,135 după	
	1824,44	1829,90				
Modificarea debitului (1 la 1,02)	1821,43	1777,44	1822,45 înainte	2,28 înainte	0,125	0,143
	1824,78	1772,45	1774,88	2,18 după	0,123	
	1823,44	1774,62				

În **Capitolul 8**, cercetarea se adresează aplicării principiilor AQbD pentru dezvoltarea și optimizarea unei metode analitice la determinarea diclofenacului sodic din supozitoare, ca forme farmaceutice cu administrare sistemică.

Diclofenacul sodic, din forme farmaceutice cu administrare sistemică, aparține unui grup de medicamente denumite medicamente antiinflamatoare nesteroidiene (AINS), care sunt utilizate în tratarea durerii și inflamației. Supozitoarele conținând diclofenac sodic pot fi utilizate în tratamentul de lungă durată al următoarelor afecțiuni: boli reumatismale, precum: poliartrita reumatoidă, spondilita anchilopoietică, poliartrita reumatoidă juvenilă, sindrom Reiter, dar și artroze invalidante însoțite de dureri.

În tabelele 5 și 6 sunt redate o serie de generalități și o sinteză a metodelor analitice de evaluare a diclofenacului sodic.

Tabel 5. Diclofenac sodic – generalități

Substanța medicamentoasă	Diclofenac sodic [16-18]
Clasa de medicamente	Antiinflamatoare nesteroidiene (AINS)
CAS ID	15307-79-6
Formulă	$C_{14}H_{10}Cl_2NNaO_2$
Solubil în	Apă
Greutate moleculară	318,1 g/mol
Structura	
IUPAC ID	sodium;2-[2-(2,6-dichloroanilino)phenyl]acetate
Forma de dozare	Comprimate, capsule, supozitor, forme injectabile, gel
Punct de topire	284,0 °C
Log P	0,7

Tabel 6. Metode de analiză cromatografică pentru Diclofenac sodic. Caracteristici ale metodelor de determinare cantitativă

Nr.	Ingredient activ analizat	Metodă	Condiții de cromatografie	Referință
1	Diclofenac sodic - supozitoare	HPLC	coloană Lichrospher 18 (5 μ m, 25 $\times$ 4 cm), Faza mobila: metanol și tampon fosfat (76:24 v/v)	[19]
2	Diclofenac sodic - supozitoare	HPLC-DAD (Diode-Array Detection)	coloană Zorbax C8 (4,6 $\times$ 250 mm, 5 μ m), Faza mobila: fosfat, acetonitril metanol (40:48:12 v/v/v)	[20]
3	Diclofenac sodic - supozitoare	HPLC	coloană Shimadzu C8 (4,6 $\times$ 15 cm, 5 μ m), Faza mobila: metanol acetonitril și apă deionizată, (60:20:20v/v/v)	[21]
4	Diclofenac sodic - supozitoare	HPLC	coloană Supelco C18 (4,6 $\times$ 25 cm, 5 μ m), Faza mobila: metanol	[22]
5	Diclofenac sodic - supozitoare	RP-HPLC (Reversed Phase – HPLC)	coloană Symmetry C18 (4,6 $\times$ 250 mm, 5 μ m), Faza mobila: metanol: apă, acid acetic (82:17:1.0)	[23]

Analiza cromatografică sistematică a fost efectuată folosind proiectarea experimentală prin Design Expert 12.0, care oferă o abordare eficientă și competentă pentru studierea tuturor parametrilor critici în același timp, pentru a determina efectul unui factor în prezența altora.

Pentru a determina variabilele semnificative și pentru a optimiza condițiile cromatografice cu cel mai mic număr de rulări, s-a utilizat tehnica Central Composite Design (CCD) descrisă în capitolul 6 – Metodologia generală a cercetării, tehnică abordată și anterior.

Pentru cele trei variabile analitice (factori cromatografici) luați în lucru: debit, pH și componenta organică – metanol – a fazei mobile, s-au luat în calcul 5 nivele de variație (-

1,68; -1; 0; +1; +1,68) adică cele trei nivele de variație inițiale (-1; 0; +1), la care s-au adăugat alte două puncte de replicare axială (-1,68; +1,68), conducând la un număr de 20 de experiențe (tabelul 7), așa cum s-a descris anterior în Metodologia generală a cercetării (Capitol 6).

Tabel 7. Planul de experimentare CCD (Central Composite Design) aplicat pentru parametrii metodei

		Factor 1	Factor 2	Factor 3	Răspuns
Std	Probă	A: Debit	B: pH	C: Faza mobilă	Timp de retenție
		mL min ⁻¹	-	%	Min.
2	1	1,10	5,50	60,00	7,95
3	2	0,90	6,50	60,00	8,35
4	3	1,10	6,50	60,00	5,65
19	4	1,00	6,00	70,00	7,65
10	5	1,16	6,00	70,00	5,95
14	6	1,00	6,00	86,81	6,42
11	7	1,00	5,15	70,00	7,95
8	8	1,10	6,50	80,00	4,98
12	9	1,00	6,84	70,00	6,95
13	10	1,00	6,00	53,18	8,12
18	11	1,00	6,00	70,00	7,65
9	12	0,83	6,00	70,00	8,55
17	13	1,00	6,00	70,00	7,69
6	14	1,10	5,50	80,00	6,85
7	15	0,90	6,50	80,00	7,98
20	16	1,00	6,00	70,00	7,91
15	17	1,00	6,00	70,00	7,19
16	18	1,00	6,00	70,00	7,48
5	19	0,90	5,50	80,00	7,72
1	20	0,90	5,50	60,00	8,98

În figurile 4 și 5 este reprezentată (din diferite unghiuri), suprafața de răspuns (3D) a variabilei timp de retenție funcție de variabilele operaționale cromatografice considerate drept factori (debit mL/min și pH). Figura 6 ilustrează graficul de contur (2D) pentru aceeași reprezentare.

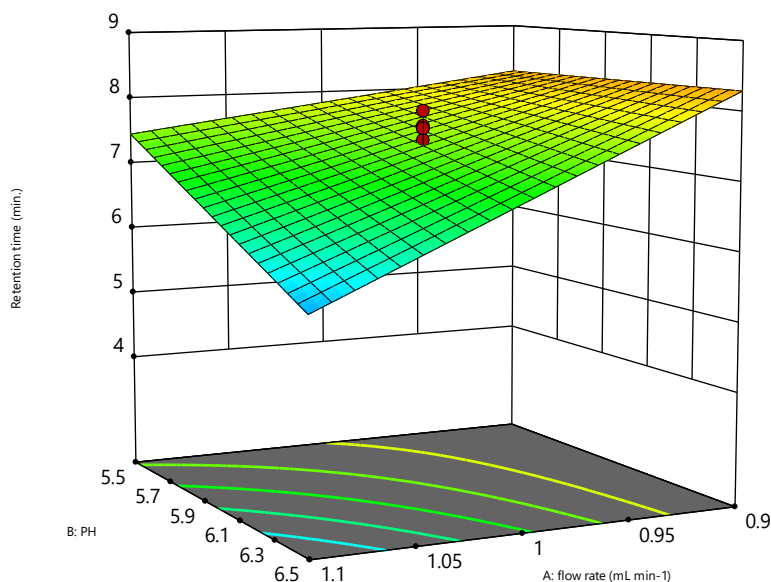


Fig. 4 Răspuns pentru timpul de retenție în funcție de debit și pH (A)

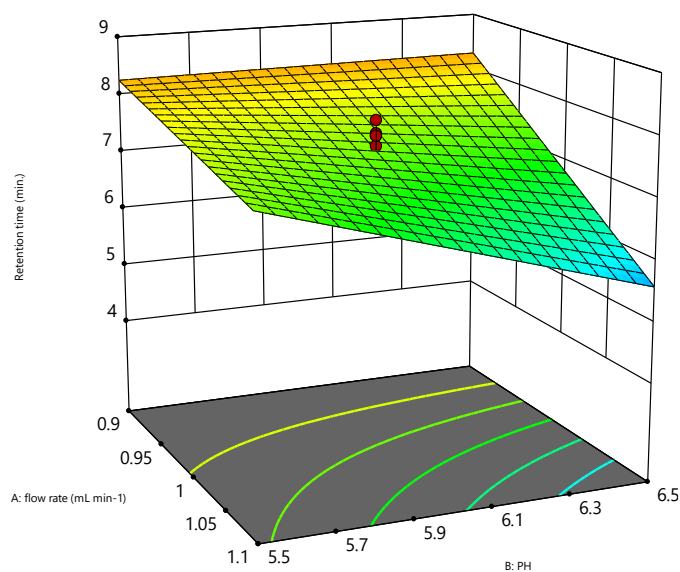


Fig. 5. Răspuns pentru timpul de retenție în funcție de debit și pH

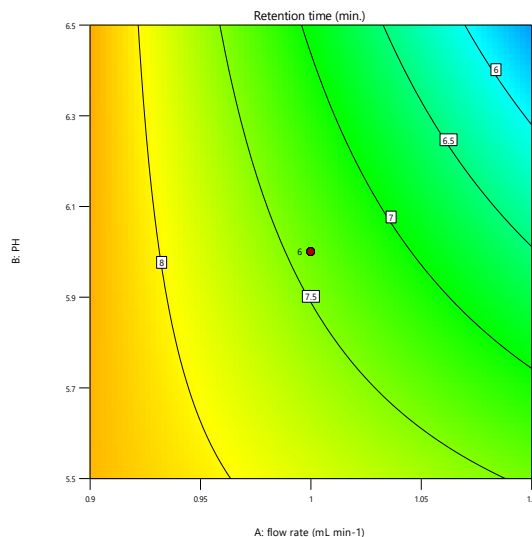
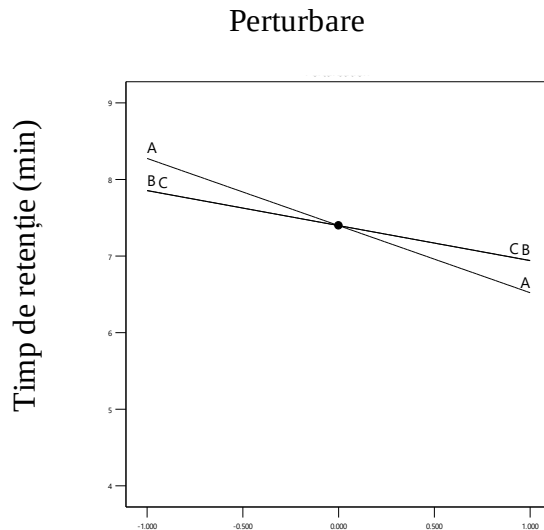


Fig. 6. Graficele de contur ale variabilei timp de retenție în funcție de debit și pH

Devierea față de punctul de referință (nivel central, de “0”) pentru factorii analitici A, B, C testați, pe intervalul de referință [-1, +1], față de valorile variabilei de răspuns analizate (timp de retenție) este ilustrată în figura următoare (Figura 7).



Devieri de la punctul de referință

Fig. 7. Graficele de perturbare pentru tehnica HPLC de fază inversă pentru diclofenac sodic demonstrează influența variabilelor cromatografice asupra răspunsului analizat (timp de retenție)

Robustețea este măsura capacității metodei de a rămâne neafectată de variații mici, dar deliberate ale parametrilor metodei și oferă o indicație a fiabilității acesteia în timpul utilizării normale. Pentru această metodă, modificarea a fost efectuată în debitul $\pm 10\%$ (tabel 8).

Tabel 8. Validarea robusteții pentru Diclofenac sodic

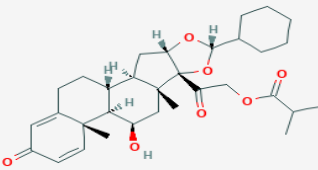
	Debit		
Diclofenac sodic	10 % Mai puțin	10 % Mai mult	Wt (mg)
Std (Aria)	418,53	342,48	47,5
Test (Aria)	444,54	364,01	1221
% Recuperare	100,82	100,89	

Capitolul 9 se adresează aplicării principiilor Analytical Quality by Design (AQbD) pentru dezvoltarea și optimizarea unei metode de evaluare cantitativă a Ciclesonidei din forma farmaceutică aerosol.

Inhalarea orală de ciclesonidă este utilizată pentru a preveni dificultăți de respirație, senzație de apăsare a pieptului, respirație șuierătoare și tuse cauzată de astm la adulți și copii cu vârsta peste 12 ani (tabele 9 și 10).

Rezultatele a numeroase studii pe o perioadă de 12 săptămâni efectuate la diverși pacienți (inclusiv copii) cu stadii diferite de astm bronșic arată că doza de ciclesonidă administrată dimineața sau seara este mai eficientă decât placebo, și cel puțin echivalentă cu alți corticosteroizi inhalatori, cum ar fi budesonida și fluticazona, în ceea ce privește îmbunătățirea spirometriei, a simptomelor și o scădere a necesității administrării de medicamente.

Tabel 9. Ciclesonidă - generalități

Substanță medicamentoasă	Ciclesonida [24-26]
Clasa de medicamente	Glucocorticoid
CAS ID	126544-47-6
Formulă	C ₃₂ H ₄₄ O ₇
Greutate moleculară	540,697 g·mol ⁻¹
Structura	
IUPAC ID	[2-[(1S,2S,4R,6R,8S,9S,11S,12S,13R)-6-cyclohexyl-11-hydroxy-9,13-dimethyl-16-oxo-5,7-dioxapentacyclo[10.8.0.0 ^{2,9} .0 ^{4,8} .0 ^{13,18}]jicosa-14,17-dien-8-yl]-2-oxoethyl] 2-methylpropanoate
Forma de dozare	Inhalare orală și nazală
Log p	5,3

Tabel 10. Condiții cromatografice pentru ciclesonida

Nr.	Ingredient activ analizat	Metodă	Condiții cromatografice	Referință
1	Ciclesonida	HPLC	coloană Hypersil 18 (5 μm, 250 × 4,6 cm), Faza mobilă: acid ortofosforic și acetonitril (35:65 v/v)	[27]
2	Ciclesonida	RP-HPLC	coloană Zorbax C8 (4,6×150 mm, 5 μm), Faza mobilă: acid percloric ca solvent-A și acetonitril ca solvent-B	[28]
3	Ciclesonida	RP-HPLC	coloană Symmetry C18 (4,6×250 mm, 5 μm), Faza mobilă: Etanol : Millie-Q- Apă (85:15 v/v)	[29]

Pentru cele trei variabile analitice (factori cromatografici) luați în lucru: debit, pH și componenta organică – metanol – a fazei mobile, s-au luat în calcul 5 nivele de variație (-1,68; -1; 0; +1; +1,68) adică cele trei nivele de variație inițiale (-1; 0; +1), la care s-au adăugat alte două puncte de replicare axială (-1,68; +1,68), conducând la un număr de 20 de experiențe (tabelul 11), așa cum s-a descris anterior în Metodologia generală a cercetării (Capitol 6).

Tabel 11. Planul de proiectare Central Composite Design (CCD) pentru parametrii metodei

		Factor 1	Factor 2	Factor 3	Răspuns
Std	Probă	A: Debit	Temperatura coloanei	C: Faza mobilă	Timp de retenție
		mL min ⁻¹	°C	%	Min.
5	1	1,40	38,00	40,00	4,45
6	2	1,60	38,00	40,00	3,62
3	3	1,40	42,00	30,00	3,84
10	4	1,66	40,00	35,00	4,10
1	5	1,40	38,00	30,00	4,22
15	6	1,50	40,00	35,00	3,78
8	7	1,60	42,00	40,00	3,22
2	8	1,60	38,00	30,00	4,12
17	9	1,50	40,00	35,00	3,75
4	10	1,60	42,00	30,00	3,88
16	11	1,50	40,00	35,00	3,72
7	12	1,40	42,00	40,00	4,02
18	13	1,50	40,00	35,00	3,72
9	14	1,33	40,00	35,00	4,78
12	15	1,50	43,36	35,00	3,42
13	16	1,50	40,00	26,59	3,65
19	17	1,50	40,00	35,00	3,74
14	18	1,50	40,00	43,40	3,34
20	19	1,50	40,00	35,00	3,73
11	820	1,50	36,63	35,00	4,07

În figura 8 este reprezentată suprafața de răspuns (3D) a variabilei timp de retenție funcție de variabilele operaționale cromatografice considerate drept factori (temperatură, debit și pH).

Figura 9 ilustrează graficul de contur (2D) pentru aceeași reprezentare.

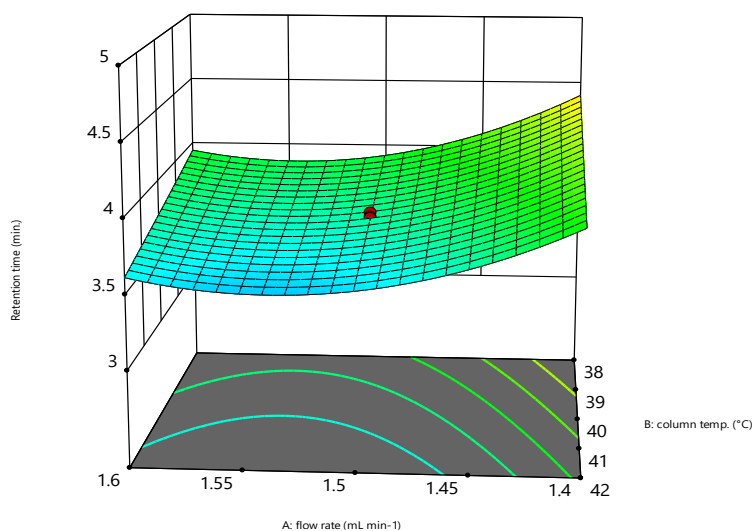


Fig. 8. Răspunsul pentru timpul de retenție ca o funcție a fazei mobile și temperaturii

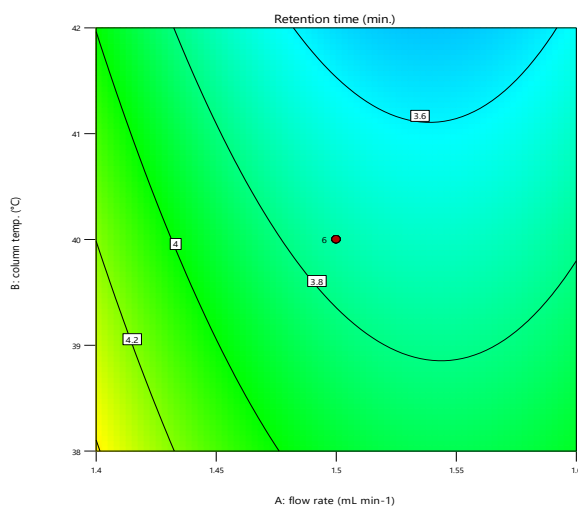


Fig. 9.2. Graficele de contur ale variabilei timp de retenție funcție de faza mobilă și temperatura coloanei

Capitolul 9 a subliniat modificarea condițiilor cromatografice care a fost utilizată pentru a evalua robustețea metodei proiectate, iar constatările au arătat că toate valorile se încadrau în intervalul ghidurilor (tabele 12 și 13).

Tabel 12. Efectul schimbării numărului lotului coloanei pentru soluția standard

Precizia coloanei lot QDSN 56 coloana T 002				Robustețea coloanei lot QDSN 56 coloană T 001		
Std.	Analit Rt	RRT	Raportul zonei de vârf	Raportul zonei de vârf	RRT	Analit Rt
1	9,048	1,219	5,023	5,926	1,307	9,037
2	9,044	1,218	5,023	5,913	1,305	9,035
3	9,041	1,216	5,020	5,921	1,304	9,035
4	9,038	1,216	5,020	5,937	1,304	9,038
5	9,034	1,215	5,013	5,932	1,307	9,067
6	9,027	1,213	5,013	5,925	1,306	9,061
Media	0,039	1,216	5,019	5,926	1,306	9,046
SD	0,007	0,002	0,004	0,009	0,001	0,015
RSD(%)	0,083	0,157	0,088	0,144	0,098	0,160

Tabel 13. Validarea robusteții metodei analitice pentru evaluarea Ciclesonidei

Precizia metodei	100 % test conc.	10	µg/mL	
	Precizie: coloana lot QDSN 56 coloana T 002	Robustețe: coloana lot QDSN 56 coloana T 002	Recuperare %	Criteriul de acceptare
Substanță	%	%	%	Recuperare %≤ 98-102 Total RSD ≤ 2 %
Test 1	101,991	99,894	97,944	
Test 2	102,264	101,759	99,506	
Test 3	102,093	101,700	99,614	
Test 4	102,073	101,430	99,371	
Test 5	102,201	101,506	99,320	
Test 6	103,854	101,536	97,768	
medie	102,018	101,304	99,300	
SD	0,388	0,702	0,606	
RSD %	0,380	0,693	0,611	
Media totală	101,661	Total RSD%	0,645	
Total Std.	0.656			

În concluzie, teza de doctorat intitulată „Aplicarea principiilor Quality by Design (QbD) și Analytical Quality By Design (AQbD) la proiectarea și evaluarea formelor farmaceutice moderne” a avut ca obiectiv principal abordarea în cercetarea sistemelor medicamentoase, a acestor două concepte, de calitate prin proiectare - Quality by Design (QbD), respectiv de calitate analitică prin proiectare - Analytical Quality by Design (AQbD).

Lucrarea de doctorat detaliază în primele 4 capitole descriptive, aria științifică de interes, dinamismul, inclusiv pe partea de reglementare și ghiduri, a acestor concepte de proiectare a calității odată cu produsul, respectiv odată cu metoda sau procesul analitic. Un element de noutate l-a reprezentat și includerea a două concepte derivate ale QbD: Stabilitatea prin Proiectare (SbD) și Formularea prin Proiectare (FbD), ca și componente importante ale procesului de cunoaștere și dezvoltare a produsului.

Conceptele de calitate prin proiectare - Quality by Design (QbD), respectiv calitate analitică prin proiectare – Analytical Quality by Design (AQbD), în prezent utilizate pe scară largă în cercetarea și industria farmaceutică, sunt prezentate în capitolele 1 și 2, comparativ cu procedeele tradiționale de control al calității. Abordarea calității prin prisma QbD în cercetarea farmaceutică reduce imprevizibilitatea în proiectarea și optimizarea produsului final, eșecul în obținerea criteriilor de performanță, prin înțelegerea atributelor critice de calitate (Critical Quality Attributes – CQAs), evaluarea riscurilor și determinarea spațiului de proiectare. Implementarea calității analitice prin proiectare – Analytical Quality by Design (AQbD) așa cum este pe larg descrisă în capitolul 2, aduce o serie importantă de avantaje procesului de dezvoltare analitică. AQbD oferă o abordare proactivă, bazată pe riscuri, a dezvoltării metodelor analitice, care se concentrează pe identificarea și minimizarea surselor de variabilitate care ar putea duce la o slabă robustețe a metodei. AQbD poate certifica o metodă din punctul de vedere al îndeplinirii cerințelor de performanță preconizate pe parcursul ciclului său de viață.

Capitolele 3 și 4 includ conceptele derivate din QbD, respectiv stabilitate prin proiectare (SbD) și formulare (FbD) pentru a se oferi o perspectivă amplă, de ansamblu a tuturor noțiunilor și conceptelor relaționate, deși acestea rămân astăzi la nivelul oportunităților în implementare directă. Stabilitatea fizică este larg recunoscută ca un aspect important al întregii dezvoltări farmaceutice, ajutând la stabilirea siguranței, calității, precum și a eficacității produsului în ciclul său de viață. Cunoștințele dobândite prin înțelegerea tehnicii calității prin proiectare - Quality by Design (QbD) sunt de natură să ajute și la identificarea vulnerabilităților implicate în producția, utilizarea și stocarea produselor

medicamentoase, aspect vital în luarea unor decizii în deplină cunoștință de cauză, care să protejeze siguranța, superioritatea și eficacitatea produselor.

Partea reprezentând contribuțiile personale din cadrul tezei de doctorat reprezintă un cumul de analize experimentale pentru formulări farmaceutice moderne, efectuate pentru atingerea obiectivelor propuse, și anume:

- Elaborarea unei metode adaptative pentru implementarea AQbD la variate forme dozate, sau sisteme medicamentoase;
- Caracterizarea și reducerea variabilității metodei analite abordate; variabilitate care ar putea conduce la o robustețe scăzută a metodei și o garantarea a satisfacerii cerințelor de performanță preconizate pe toată durata de viață a produsului și a metodei.

Rezultatele cercetării științifice efectuate și prezentate în capitolele 4-8 ale tezei de doctorat au o dezvoltare etapizată pentru diferite analize de produs.

Capitolele experimentale se referă la implementarea calității analitice prin proiectare – Analytical Quality by Design (QbD) pentru diferite forme dozate, pentru dezvoltarea metodelor în determinare. Astfel, lucrarea de doctorat a evidențiat avantajele abordării Analytical Quality by Design (AQbD) pentru optimizarea metodelor de cromatografie lichidă de înaltă performanță pentru trei forme dozate distincte, comprimate, supozitoare, forme dozate inhalatorii.

În cazul substanței **levetiracetam** (comprimate), ca medicament antiepileptic, s-a vizat optimizarea metodei de evaluare folosind cromatografia lichidă de înaltă performanță, aplicând paradigma AQbD, alături de metodologia suprafețelor de răspuns (RSM), proiectarea experimentală realizându-se folosind tehnica - Central Composite Design (CCD). Separarea cromatografică a fost efectuată folosind Symmetry C18 250 x 4,6 mm, coloane de 5μm, cu o lungime de undă de detecție de 208 nm și un timp de rulare de 4,0 minute. Faza mobilă (optimizată) a fost 80% metanol, 20% acetonitril (v/v). Timpul de retenție optim s-a constatat la 2,8 min. Metoda a fost validată pentru parametrii prevăzuți de ICH, respectiv pentru precizie, acuratețe, limita de detecție, limita de cuantificare, liniaritate și robustețe, s-a constatat că respectă limitele, astfel că poate fi utilizată ca analiză de rutină și în evaluările farmacocinetice.

Pentru forma farmaceutică supozitoare a fost selectată și analizată substanța medicamentoasă **diclofenac sodic** (antiinflamator nesteroidian -AINS). Metoda de evaluare cantitativă a fost reprezentată tot de cromatografia lichidă de înaltă performanță, optimizarea

a fost efectuată prin aplicând aceeași tehnică RSM - Central Composite Design (CCD). Separarea cromatografică a fost realizată folosind o coloană C18 (150 mm x 4,6 mm) cu o lungime de undă de detecție de 254 nm. Faza mobilă (optimizată) a fost tampon: metanol (30:70). Metoda a fost validată pentru parametrii reglementați de ICH (precizie, acuratețe, limita de detecție, limita de cuatificare, liniaritate și robustețe) și s-a constatat că respectă toate aceste limitele, astfel că poate fi utilizată ca analiză de rutină și în determinările farmacocinetice.

Optimizarea metodei de analiză cromatografică, în cazul substanței **ciclesonida**, un medicament glucocorticoid, dintr-o formă dozată inhalatorie a fost realizată folosind același program experimental etapizat, conjugând abordarea AQbD cu metodologia RSM prin proiectare experimentală Central Composite Design (CCD). Separarea cromatografică a fost realizată folosind C18 250 x 4,6 mm, coloane de 5 μm, cu o lungime de undă de detecție de 242 nm. Faza mobilă (optimizată) a fost soluția de acetonitril A (3 metanol:1 heptan sulfonat de sodiu tampon 35: 65. Timpul de retenție optim s-a atins la 3,74 min. Așa cum s-a evidențiat și la celelalte forme farmaceutice, și pentru ciclesonidă metoda cromatografică fost validată pentru precizie, acuratețe, limita de detecție, limita de cuatificare, liniaritate, robustețe (parametrii prescriși de ICH), s-a constatat că respectă limitele și cerințele, astfel că poate fi utilizată în continuare ca analiză de rutină și în măsurătorile farmacocinetice.

Prin urmare, nouă strategie analitică de calitate prin proiectare - Quality-by-Design (QbD) a fost utilizată în validarea și optimizarea procedurilor analitice în cadrul lucrării. Cu ajutorul proiectării experimentelor și a analizei suprafeței de răspuns, lucrarea de doctorat a reușit prin studiile realizate și analizate, să prefigureze și să valideze combinația dorită de factori, conform ghidurilor ICH. Astfel, ca și caracter de noutate, lucrarea de doctorat propune acest program algoritmic de optimizare folosind paradigma AQbD aplicabil optimizarea metodelor analitice prin HPLC.

Teza de doctorat intitulată „Aplicarea principiilor Quality by Design (QbD) și Analytical Quality by Design (AQbD) la proiectarea și evaluarea formelor farmaceutice moderne” deschide calea pentru utilizarea conceptului de stabilitate prin proiectare, nu numai ca descriptor al stabilității produselor, dar și pentru creșterea implicită a cunoștințelor dobândite, conducând la o reducere vizibilă a impactului variabilității produselor. Aceste cunoștințe pot fi generate în etapele de proiectare a stabilității odată cu produsul, etape explicate în această lucrare. Stabilitatea poate deveni astfel un indicator al proiectării calității.

Bibliografie selectivă

1. De Sousa J, Holt D, Butterworth P. Analytical Method Design, Development, and Lifecycle Management. *Pharmaceutical Quality by Design: A Practical Approach* 2018:257.
2. Uhlenbrock L, Sixt M, Strube J. Quality-by-Design (QbD) process evaluation for phytopharmaceuticals on the example of 10-deacetylbaccatin III from yew. *Resource-Efficient Technologies*. 2017;3(2):137-43.
3. Defeo JA, Juran JM. *Juran's Quality Handbook: The Complete Guide to Performance Excellence* 6/e: McGraw Hill Professional; 2010.
4. Bhutani H, Kurmi M, Singh S, Beg S, Singh B. Quality by design (QbD) in analytical sciences: an overview. 2004:3.
5. Juran JM. *Juran on Quality by Design: the new steps for planning quality into goods and services*: Simon and Schuster; 1992.
6. Guideline ICH. *Pharmaceutical Development Q8 (R2)*. 2009;4.
7. Das P, Maity A, Analysis D. Analytical Quality by Design (AQbD): A new horizon for robust analytics in pharmaceutical process and automation. *International Journal of Pharmaceutics and Drug Analysis* 2017:324-37.
8. Surges R, Volynski KE, Walker MC. Is levetiracetam different from other antiepileptic drugs? Levetiracetam and its cellular mechanism of action in epilepsy revisited. *Therapeutic Advances in Neurological Disorders* 2008;1(1):13-24.
9. Nash EM, Sangha KS. Levetiracetam. *American journal of health-system pharmacy* 2001;58(13):1195-9.
10. Mannam AK. *Formulation and Evaluation of Levetiracetam Niosomes for Improved Anti-Convulsant Activity*: KMCH College of Pharmacy, Coimbatore, Tamil Nadu, India; 2014.
11. Yue D, Acree Jr WE, Abraham MH. Applications of Abraham solvation parameter model: estimation of the lethal median molar concentration of the antiepileptic drug levetiracetam towards aquatic organisms from measured solubility data. *Physics and Chemistry of Liquids* 2020;58(3):302-8.
12. Hashem H, El-Sayed HM. Quality by design approach for development and validation of a RP-HPLC method for simultaneous determination of co-administered levetiracetam and pyridoxine HCl in prepared tablets. *Microchemical Journal* 2018;143:55-63.
13. Can NO, Arli G. Reversed-phase HPLC analysis of levetiracetam in tablets using monolithic and conventional C18 silica columns. *Journal of AOAC International* 2010;93(4):1077-85.
14. Raju NA, Rao JV, Prakash KV, Mukkanti K, Srinivasu K. Estimation of levetiracetam in tablet dosage form by RP-HPLC. *E-journal of chemistry*. 2008;5(S2):1098-102.
15. Kandilli B, Uğur AB, Çetin M, Miloğlu FD. A simple HPLC-UV method for simultaneous determination of levetiracetam and carbamazepine. *Hacettepe University Journal of the Faculty of Pharmacy*. 2018;38(2):58-64.
16. Idkaidek NM, Amidon GL, Smith DE, Najib NM, Hassan MM. Determination of the population pharmacokinetic parameters of sustained-release and enteric-coated oral

formulations, and the suppository formulation of diclofenac sodium by simultaneous data fitting using NONMEM. *Biopharmaceutics & drug disposition* 1998;19(3):169-74.

17. Van der Marel CD, Anderson BJ, Rømsing J, Jacqz-Aigrain E, Tibboel D. Diclofenac and metabolite pharmacokinetics in children. *Journal Pediatric Anesthesia* 2004;14(6):443-51.

18. Yong CS, Oh Y-K, Kim Y-I, Kim JO, Yoo B-K, Rhee J-D, et al. Physicochemical characterization and in vivo evaluation of poloxamer-based solid suppository containing diclofenac sodium in rats. *International journal of pharmaceutics*. 2005;301(1-2):54-61.

19. Shaalan RA, Belal TS. Validated stability-indicating HPLC-DAD method for the simultaneous determination of diclofenac sodium and diflunisal in their combined dosage form. *Journal Scientia pharmaceutica*. 2013;81(3):713-32.

20. Atto RA. New method for determination of Diclofenac sodium by High Performance Liquid Chromatography. *Tikrit J Pharma Sci*. 2012;8(1):60-7.

21. Ahmed NR, Lottfi N. High Performance Liquid Chromatographic Method for the determination of Diclofenac sodium in pharmaceutical preparations and in Environmental Samples. *Iraqi National Journal of Chemistry*. 2011;44:467-73.

22. La-e L, DAI-Jun CJ. Central South Pharmacy. Content determination of diclofenac sodium suppositories by RP-HPLC. 2008:01.

23. Ahmed NR, Lottfi N. High Performance Liquid Chromatographic Method for the determination of Diclofenac sodium in pharmaceutical preparations and in Environmental Samples. *Iraqi National Journal of Chemistry*. 2011;44:467-73.

24. Deeks ED, Perry CM. *Drugs*. Ciclesonide. 2008;68(12):1741-70.

25. Kramer S, Rottier BL, Scholten RJ, Boluyt NJ. Ciclesonide versus other inhaled corticosteroids for chronic asthma in children. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2013(2).

26. Stoeck M, Riedel R, Hochhaus G, Häfner D, Masso JM, Schmidt B, et al. In vitro and in vivo anti-inflammatory activity of the new glucocorticoid ciclesonide. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2004;309(1):249-58.

27. Patil AT, Patil SD, Shaikh KA. Sensitive LC method for simultaneous determination of ciclesonide and formoterol fumarate in dry powder inhaler. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies* 2011;34(15):1568-77.

28. Trivedi RK, Chendake DS, Patel MC. A rapid, stability-indicating RP-HPLC method for the simultaneous determination of formoterol fumarate, tiotropium bromide, and ciclesonide in a pulmonary drug product. *Scientia pharmaceutica* 2012;80(3):591-604.

29. Motalib MMA, Md AS, Ara BA, Faysal BS, Mostaharul IM, Parimal T. *International research journal of pharmacy*.

30. **Maher Abdulrazzaq Al-hakeem**, Lăcrămioara Popa, Cristina Dinu-Pîrvu, Mihaela Violeta Ghica, Răzvan Prisada. A stability-indicating method for Levetiracetam in tablets using advanced analytical Quality-by-Design approach. *J. Adv. Pharm. Educ. Res.* 2021;11(3):126-31.

31. **Maher Abdulrazzaq Al-hakeem**, Mihaela Violeta Ghica, Cristina Dinu - Pîrvu, Valentina Anuța, Lăcrămioara Popa. Analytical Quality by Design with the Lifecycle

Approach: A Modern Epitome for Analytical Method Development, Acta Medica Marisiensis 2019; 65(2): 37-44.

32. **Maher Abdulrazzaq Al-hakeem***, Lăcrămioara Popa, Cristina Dinu-Pîrvu, Mihaela Violeta Ghica, Răzvan Prisada. Stability by Design (SbD): A proposal of application of Quality by Design (QbD) concept to physical stability as a control strategy, Journal of Innovations in Pharmaceutical and Biological Sciences (JIPBS), 2020; 7(02): 01-05.

Lista de lucrări științifice elaborate în legătură cu tema de cercetare

Articole publicate în reviste internaționale indexate

1. **Maher Abdulrazzaq Al-hakeem**, Lăcrămioara Popa, Cristina Dinu-Pîrvu, Mihaela Violeta Ghica, Răzvan Prisada. A stability-indicating method for Levetiracetam in tablets using advanced analytical Quality-by-Design approach. *J. Adv. Pharm. Educ. Res.* 2021;11(3):126-31. <https://doi.org/10.51847/DwtvdyJkWj>
<https://japer.in/article/a-stability-indicating-method-for-levetiracetam-in-tablets-using-advanced-analytical-quality-by-desi-nkvbejoagilb5sl?html>
2. **Maher Abdulrazzaq Al-hakeem**, Mihaela Violeta Ghica, Cristina Dinu - Pîrvu, Valentina Anuța, Lăcrămioara Popa. Analytical Quality by Design with the Lifecycle Approach: A Modern Epitome for Analytical Method Development, *Acta Medica Marisiensis* 2019; 65(2): 37-44. <https://doi.org/10.2478/amma-2019-0010>
<http://actamedicamarisiensis.ro/wp-content/uploads/2019/05/amma-2019-0010.pdf>
3. **Maher Abdulrazzaq Al-hakeem***, Lăcrămioara Popa, Cristina Dinu-Pîrvu, Mihaela Violeta Ghica, Răzvan Prisada. Stability by Design (SbD): A proposal of application of Quality by Design (QbD) concept to physical stability as a control strategy, *Journal of Innovations in Pharmaceutical and Biological Sciences (JIPBS)*, 2020; 7(02): 01-05.
http://www.jipbs.com/VolumeArticles/FullTextPDF/473_JIPBSV7I201.pdf
4. Marinela Florea, Ioana Clementina Constantinescu, Angela Nedelcu, Claudia Maria Guțu **Maher Abdulrazzaq Al-hakeem**, Lăcrămioara Popa. Water structuring effect of methanol and ethanol on ion pairing of some guanidium containig pharmaceutical substances. Analytical applications, *Farmacia*, 2019; 67(4), 627-633.
<https://farmaciajournal.com/issue-articles/water-structuring-effect-of-methanol-and-ethanol-on-ion-pairing-of-some-guanidium-containig-pharmaceutical-substances-analytical-applications>