

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„IULIU HAȚIGANU” CLUJ-NAPOCA
FACULTATEA DE FARMACIE**

**STUDII ANALITICE ȘI DE STABILITATE
A KETOPROFENULUI**

-Rezumatul tezei de doctorat-

*Doctorand:
Farm. Ganea Mariana*

*Conducător științific:
Prof. Dr. Bojiță Marius*

CUPRINS

Introducere.....	7
STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII.....	9
1. Date din literatură privind proprietățile fizico-chimice farmacologice și farmacocinetice ale antiinflamatoarelor nesteroidiene. <i>Ketoprofen</i>	10
1.1 Procesul inflamator.....	10
1.2 Clasificarea antiinflamatoarelor.....	12
1.2.1 După structura chimică.....	12
1.2.2 În funcție de efectul terapeutic există trei grupe de AINS.....	13
1.2.3 În funcție de durata de acțiune, care impune ritmul de administrare (mai multe prize zilnice sau o priză) se pot grupa.....	13
1.2.4. În funcție de ciclooxigenaza inhibată.....	14
1.2.5. În funcție de reacțiile adverse gastrointestinale serioase pe care le pot produce.....	14
1.2.6. Din punct de vedere al bolii reumatismale.....	14
1.2.7 După modul de administrare.....	15
1.2.8 Din punct de vedere al mecanismelor de acțiune (H.FENNER).....	15
1.2.9 O noua clasificare a antiinflamatoarelor este făcută în 1999 De T. Warner, clasificare făcută în spiritul conceptului COX1/COX2.....	16
1.3. Antiinflamatoare nesteroidiene. Relație-structură- activitate.....	16
1. 4. Proprietăți biofarmaceutice ale AINS.....	17
1. 5. Caracterizarea fizico-chimică a ketoprofenului.....	18
1.5.1 Structura chimică și sinteza ketoprofenului.....	18
1.5.2 Proprietăți organoleptice.....	22
1.5.3 Solubilitate.....	22
1. 6 Mecanism de acțiune.....	22
1. 7. Proprietăți farmacologice – Farmacocinetice. Acivitatea analgezică-antipiretică...23	
1.7.1 Activitatea farmacocinetică.....	23
1.7.2 Metabolizare.....	24
1.7.3 Efecte adverse. Contraindicații.....	25
1.8. Metode de identificare și analiză calitativă a <i>ketoprofenului</i>	29
1.8.1. Determinarea punctului de topire.....	30
1.8.2 Metoda de determinare cantitativă.....	30
1.8.3 Metoda spectofotometrică UV-VIS.....	31
1.8.4 Metoda spectofotometrică în IR.....	31
1.8.5 Metode cromatografice.....	32
1.9 Stabilitatea medicamentelor.....	32
CONTRIBUȚII PERSONALE.....	41
2. Prezentarea obiectivelor.....	42
2.1 Metode de identificare a ketoprofenului.....	43
2.1.1 Determinarea punctului de topire.....	43
2.1.2 Metode spectofotometrice de identificare.....	44
2.1.2.1 Metoda spectofotometrică în UV-VIS.....	44
2.1.2.2 Metoda spectofotometrică IR.....	47
2.1.3 Metode cromatografice de identificare.....	53
2.1.3.1 Cromatografia pe strat subțire (CSS).....	54
2.1.3.2 Cromatografia de lichide de înaltă performanță.....	58
2.2 Metode de analiză calitativă	61
2.2.2 Substanțe înrudite.....	63
2.2.3 Metale grele.....	66

2.2.4 Pierderea prin uscare.....	68
2.2.5 Cenușă sulfată.....	69
2.3 Concluzii.....	71
VALIDAREA METODEI DE DETERMINARE CANTITATIVĂ.....	73
3. Validarea metodei de analiză cantitativă a ketoprofenului prin cromatografie de lichide de înaltă performanță.....	74
3.1 Descrierea parametrilor de validare.....	75
3.1.1 Acuratețea.....	75
3.1.2 Precizia.....	76
3.1.3 Specificitatea.....	76
3.1.4 Limita de detecție.....	76
3.1.5 Limita de cuantificare.....	76
3.1.6 Rigiditatea și robustețea.....	77
3.2 Rezultatele studiului de validare.....	77
3.2.1 Linearitatea.....	79
3.2.2 Precizia.....	80
3.2.3 Acuratețea.....	81
3.2.4 Limita de detecție și cuantificare.....	84
3.3 Concluzii.....	85
STUDII DE STABILITATE.....	91
4. Stabilitatea medicamentelor.....	92
4.1 Prevederile ghidului de baza ICHQIA.....	93
4.2 Studii de stabilitate a ketoprofenului din comprimate.....	94
4.2.1 Studiu de stabilitate în condiții accelerate.....	95
4.2.2 Studiu de stabilitate pe termen lung.....	117
4.2.3 Concluzii... ..	136
4.3 Studiul stabilității ketoprofenului în condiții de stress.....	138
4.3.1 Influența radiațiilor UV asupra stabilității ketoprofenului.....	138
4.3.2 Influența umidității asupra stabilității ketoprofenului.....	146
4.3.3 Concluzii.....	146
5. Concluzii generale.....	155
6. Bibliografie.....	158

Cuvinte cheie: ketoprofen, identificare, validare, dozare, stabilitate.

STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII

Ketoprofenul este un antiinflamator nesteroidian derivat al acidului propionic, mai exact este acidul 3-benzoil-alfa-metilfenilacetic[3,4]. Este foarte mult utilizat în terapia actuală atât pentru efectul antiinflamator, cât și pentru efectul analgezic foarte bun[3,31]. Se încadrează în categoria antiinflamatoarelor minore. Poate fi administrat pe calea orală, parenterală, rectală, cât și local prin terapie cutanată. Acționează atât prin inhibarea ambelor tipuri de ciclooxygenază cât și prin inhibarea fosfolipazei și lipoxigenazei.[4,6,14]

Datele farmacocinetice arată că pe cale orală, absorbția digestivă este bună. $T_{1/2}$ plasmatic este scurt, de aproximativ două ore. Difuzează în lichidul sinovial, unde se realizează concentrații mari. Traversează bariera placentară [8,21,22].

Ketoprofenul este în cea mai mare parte metabolizat în ficat. Suferă glicuronidizare, ducând la formarea esterilor glucuronici instabili, care sunt eliminați în principal prin rinichi. Excreția fecală este mai mică de 1%.

Datorită eliminării rapide și complete a **ketoprofenului** din corp, este imposibil ca acesta să producă orice alte efecte nedorite rezultând din acumularea medicamentului „părinte” sau a metabolitului său. Deoarece **ketoprofenul** nu penetrează prin bariera sângelui din creier la o limită apreciabilă, incidența efectelor de tip CNS este minoră [31,34,35].

Principalele reacții adverse sunt: greață, vărsături, diaree, constipație, dureri abdominale, disconfort gastro- intestinal și gastralgie. Alte reacții adverse grave sunt: ulcer peptic, hemoragie gastro- intestinală și perforație intestinală. Frecvența hemoragiilor crește cu doza. O contraindicație absolută o reprezintă administrarea în ultimul trimestru al sarcinii, datorită riscului de toxicitate cardiopulmonară și renală pentru făt [3, 4, 5].

Nu este recomandată asocierea cu alte AINS, anticoagulante orale, cu heparina, ticlopidina, cu dispozitive contraceptive intrauterine (sterilet), preparate de litiu precum și cu metotrexat.

Asocierea **ketoprofenului** cu antihipertensive (betablocante, inhibitori ai enzimei de conversie) și cu diuretice impune o foarte mare prudență.

Studiind datele bibliografice cu privire la caracterizarea **ketoprofenului** din punct de vedere al identității și calității am tras următoarele concluzii:

- **ketoprofenul** prezintă un interval de topire cuprins între 94-97°C, determinat prin metoda capilară [9,27,47,48].

- dozarea **ketoprofenului** se face prin metoda potențimetrică ,determinându-se punctul de echivalență, din punct de vedere potențimetric [9,27].

- prima metodă de identificare a **ketoprofenului** este spectrometria de absorbție în infraroșu, (IR), unde se compară spectrul substanței de analizat cu spectrul de **ketoprofen** CRS [9,27,49].

- datele din literatură prevăd pentru identificarea **ketoprofenului** și metoda TLC (thin layer-chromatography) utilizând silicagel GF₂₅₄R ca substanță de contrast [9,27]. Principalul spot în cromatograma obținută cu soluția de analizat este similară ca poziție și mărime cu spotul principal din cromatograma obținută cu substanța de referință (**ketoprofen**).

CONTRIBUȚII PERSONALE

Deoarece lupta împotriva durerii reprezintă una dintre prioritățile medicinei lucrarea de față și-a propus caracterizarea fizico-chimică a **ketoprofenului** care este foarte mult utilizat în terapia actuală pentru efectul său analgezic-antiinflamator, efectuarea unor studii de stabilitate ale principiului activ și a unor forme farmaceutice, validarea unor metode de analiză, precum și dozarea din forme farmaceutice.

În urma analizelor efectuate pentru caracterizarea fizico-chimică și calitativă am ajuns la următoarele concluzii:

- **ketoprofenul** se prezintă sub forma unei pulberi cristaline albe, insolubile în apă solubilă în acetona, etanol, methanol, chloroform. Punctul de topire determinat este 95,82, valoare ce se încadrează în intervalul precizat în literatură [9].

- a fost înregistrat spectru UV pentru proba de **Ketoprofen** între 230 nm și 350 nm, prezentând un maxim de absorbție la lungimea de undă de 255 nm.

- identificarea **ketoprofenului** pe baza spectrului IR s-a realizat prin compararea spectrului probei cu spectrul de referință al **ketoprofenului**, stocat într-o bază de date cu spectre de referință. Rezultatul suprapunerii celor două spectre a fost 96% similaritate, ceea ce înseamnă o identificare pozitivă a **ketoprofenului**.

- prin aplicarea CSS la identificarea ketoprofenului, observăm că această metodă este potrivită pentru analiza acestei substanțe active. Se obține o separare bună, iar R_f determinat experimental ($R_f=0,75$), este similar cu valoarea din literatură ($R_f=0,76$) [62], pentru același sistem cromatografic.

- în urma analizelor efectuate pentru identificarea **ketoprofenului** prin metoda HPLC s-a determinat că are timpul de retenție caracteristic, de $T_R = 9,562$ minute [50,57].

- în urma analizării aspectului soluției observăm că soluția obținută este limpede, cu o colorație care nu este mai intensă decât a unui etalon de culoare prevăzut de farmacopee, Y6 [9].

- pentru determinarea cantitativă a unor compuși proveniți din sinteză ca produse secundare, determinarea s-a efectuat prin metoda HPLC. Nu s-a detectat prezența impurităților alături de **ketoprofen**.

- în urma analizelor efectuate pentru determinarea prezenței ionilor metalelor grele, nu s-a observat prezența acestora în soluția de **ketoprofen**.

- în urma analizelor efectuate pentru determinarea masei pierdute prin uscare, valoarea medie a cantității de apă pierdută din proba de analizat este 0,109%, ceea ce corespunde specificației din farmacopee, limita impusă de aceasta fiind de 0,5% [9]. Rezultatele sunt exacte, determinările repetate s-au efectuat cu o eroare RSD de 1,46%, acceptabilă pentru preparate farmaceutice.

- în urma analizelor efectuate pentru determinarea reziduiului obținut după calcinare este 0,026%, încadrându-se astfel în cerințele farmacopeei, limita admisă pentru cenușa sulfată fiind de 0,1 % [9]. Și în cazul acestei determinări RSD = 1,44 %, fiind mai mică de RSD = 2%, valoare acceptată pentru preparatele farmaceutice.

Urmărind analizele efectuate asupra **ketoprofenului** ca și substanță activă se observă că aceasta se încadrează în cerințele impuse de farmacopee [9].

O etapă premergătoare unui studiu de stabilitate este reprezentată de punerea la punct a unei metode de analiză care să permită separarea, identificarea și dozarea produșilor de degradare [58]. Pentru realizarea studiilor de stabilitate am pus la punct o metodă de determinare cantitativă a **ketoprofenului** din comprimate, prin cromatografie de lichide de înaltă performanță metodă care a fost validată. Studiul de validare efectuat a demonstrat că metoda de determinare a cantității de **ketoprofen** este exactă și precisă, permitând determinări cantitative repetate în aceeași zi și în zile diferite cu o eroare standard relativă mai mică decât 2%. Totodată s-a determinat limita de detecție fiind 0,00003 mg/ml și cea de cuantificare 0,00056 mg/ml. S-a determinat variația liniară a răspunsului detectorului în domeniul de concentrație 0,005-0,01 mg/ml cu un coeficient de corelație 0.99997.

Studiile de stabilitate au ca scop cunoașterea evoluției în timp a calității principiilor active și a produselor finite sub influența diferiților factori agresivi, printre care: temperatura, lumina, umiditatea [47,62]. Studiile de stabilitate s-au efectuat în conformitate cu prevederile normativului ICH Q 1A (EurPh) [9,60]. S-a efectuat studiu pe termen accelerat (testarea s-a efectuat inițial, la 3, respectiv 6 luni, la o temperatură de 40 ± 2 °C și o umiditate relativă de $75 \pm 5\%$), și pe termen lung (testarea s-a efectuat inițial, la 3, 6, 9, 12, 18, 24,36 de luni, la o temperatură de 25 ± 2 °C și o umiditate relativă de $60 \pm 5\%$)

În urma studiului efectuat în condiții accelerate pe comprimatele de Rubifen, cantitatea de substanță activă determinată în cazul celor trei serii, se află la limita de încredere impusă de normativele în vigoare [9]. Dozarea ketoprofenului din comprimate s-a determinat prin metoda HPLC, metodă care a fost validată.

S-a detectat prezența compușilor de degradare, iar după determinarea cantitativă a acestora, determinarea ce s-a efectuat prin metoda HPLC, s-a observat că valorile obținute se încadrează în limitele impuse de farmacopee [9].

În cadrul studiului s-a determinat și cantitatea de ketoprofen din comprimate după ce acestea au fost dizolvate în prealabil. După dozarea ketoprofenului s-a constatat că valorile obținute se află la limita de încredere impusă. S-a folosit aceeași metodă ca și la dozarea ketoprofenului din comprimate.

Studiul de stabilitate pe termen lung a avut ca scop verificarea perioadei de valabilitate și a eventualelor reacții de degradare.

În urma studiului pe timp de 36 luni efectuat pe comprimatele de Rubifen, am observat că pe tot parcursul studiului comprimatele și-au păstrat aspectul uniform, marginile comprimatelor au rămas intacte, rotunde, de culoare aproape albă.

După dozarea **ketoprofenului** din comprimate, s-a observat că acesta corespunde limitei de încredere de 95% impusă de normele în vigoare. Cantitatea de **ketoprofen** s-a determinat prin metoda HPLC, metodă ce a fost validată anterior.

Alături de **ketoprofen**, în comprimate a fost detectată prezența compușilor de degradare. După dozarea acestora, dozare ce a fost realizată prin metoda HPLC, valoarea determinată a produșilor de degradare se încadrează în limitele impuse de farmacopee.

Pe parcursul studiului s-a determinat și cantitatea de **ketoprofen** din comprimate după dizolvarea lor în prealabil. Pentru dozarea **ketoprofenului** s-a utilizat aceeași metodă (HPLC), valorile obținute se încadrează în limita de încredere impusă de farmacopee [9].

Analizând rezultatele obținute, am deonstrat că ketoprofenul prezintă stabilitate fizică și chimică pe tot parcursul studiului.

În urma evaluării rezultatelor studiului de stabilitate se pot afirma următoarele: metoda de analiză dezvoltată este aplicabilă la determinarea cantitativă a principiilor active și la urmărirea evoluției cantității produșilor de degradare pe perioada de valabilitate; astfel se poate utiliza atât în cadrul testărilor din controlul interfazic, la eliberarea produsului finit, cât și în studiile de stabilitate. Produsul studiat prezintă o stabilitate corespunzătoare în condițiile noastre climatice în intervalul de timp de 36 de luni, ca urmare nu necesită condiții speciale de păstrare în unitățile farmaceutice.

Studiile efectuate asupra stabilității **ketoprofenului** în condiții de stress, atât pe substanță activă cât și a unor forme farmaceutice ce conțin **ketoprofen** (comprimate, soluție injectabilă, soluție spray) au dus la următoarele concluzii:

În urma determinărilor efectuate se observă că sub acțiunea radiațiilor UV apare o degradare intensă a moleculei, viteza acestor reacții fiind foarte mare. În decurs de 120 de minute s-a constatat o scădere a conținutului de ketoprofen din preparatele farmaceutice după cum urmează:

- substanța activă se degradează cu 32,1%
- conținutul de **ketoprofen** din comprimate se degradează cu 50,9 %
- conținutul de **ketoprofen** din soluția injectabilă se degradează cu 32,1%
- conținutul de **ketoprofen** din soluția spray se degradează cu scade cu 42,85%

Evaluând rezultatele obținute, observăm că radiațiile UV produc o degradare accelerată a **ketoprofenului** indiferent de forma farmaceutică sub care a fost condiționat.

S-a constatat că prin expunerea probelor la medii cu UR 59% în perioada de 14 zile conținutul în **ketoprofen** din probele analizate scade după cum urmează:

- substanța activă se degradează cu 2,2%
- conținutul de **ketoprofen** din comprimate se degradează cu 5%
- conținutul de **ketoprofen** din soluția injectabilă se degradează cu 5,2%
- conținutul de **ketoprofen** din soluția spray se degradează cu 4,4%

Prin expunerea probelor la medii cu UR 90% se constată următoarele:

- substanța activă se degradează cu 2,9%

-
- conținutul de **ketoprofen** din comprimate se degradează cu 6,2%
 - conținutul de **ketoprofen** din soluția injectabilă se degradează cu 6,1%
 - conținutul de **ketoprofen** din soluția spray se degradează cu 4,7%

Chiar dacă *ketoprofenul* este insolubil în apă, prezența acestuia duce la degradarea moleculei.

Bibliografie selectivă

1. Cristea A.N., *Tratat de farmacologie*, Ed. Didactică și Pedagogică, București, 2005
2. Moore N.D., -*In search of an ideal analgesic for common acute pain*. *Acute Pain*.2009; 11:129-137
3. Kok-Yuen H., Chiang S., - *Chronic Pain Management*, *Annals Academy of Medicine*, 2009; 38 (11): 929-93
4. Leucuța S.E. - *Biofarmacie și farmacocinetică*, Ed. Dacia, Cluj Napoca, 2002
5. * * * Farmacopeea Statelor Unite ale Americii ed.a 28-a (USP 28, NF 23); 2005
6. Hersh E., Pinto., Moore P.A., - *Adverse drug interaction involving common prescription and over-the-counter analgesic agents*. *Clin Ther*. 2007; 29(Suppl):2477-97.
7. Bojiță M., Săndulescu R., Roman L., Oprean L. - *Analiza și controlul medicamentelor*, vol. I, *Baze teoretice și practice*, vol. II, *Metode instrumentale în analiza și controlul medicamentelor*, Editura Intelcredo, Deva 2003
8. *** Farmacopea Română, Ediția X, Editura Medicală, București 2005
9. Muntean D.L., Bojiță M., - *Controlul medicamentelor. Metode spectrale, cromatografice și electroforetice de analiză*, Ed. Medicală Universitară „Iuliu Hațieganu”, Cluj-Napoca, 2004
- 10.*** ICH Q1E: Evaluation for Stability Data, 2002
- 11* * * ICH Q1F: *Stability data Package for Registration in Climatic Zones III and IV*.2002
12. **Ganea M.**, Bota S., Gligor F., Moisa C., Vicaș L., Bojiță M., - *The identification and assay of ketoprofen from solid pharmaceutical forms. Validation of HPLC metod*, *Farmacia* 2008; vol.LVI, 4, 433-439
13. **Ganea M.**, Bota S, Moisa. C, Vicaș L., Bojiță M., - *Modern methods of identifying the ketoprofen*, *Timișoara Medical Journal*, 2008; Ediția a-II- a , Vol. 58, Supplement 2, 73-75
14. Roman L., Bojiță M., Săndulescu R., Muntean D.L., - *Validarea metodelor analitice*, Ed. Medicală București, 2007
15. Dvorok. J., - *Determinarea simultana HPLC a ketoprofenului și produșilor de degradare în prezența de conservanți în medicamente*, *J. Pharm. Biomed Anal.*, 2004; Nov15, 36(3), 625-9;
16. **Ganea M.**, Bota S., Iovan V., - *Determinarea perioadei de valabilitate a acidului acetil salicilic prin metoda îmbatrânirii artificiale accelerate*, *Analele Universității din Oradea, Fascicula Științe Farmaceutice*, vol.I, Oradea, 2002
17. Iuga C., Bojiță M., - *Stability study of omeprazole*, *Farmacia*, 2010; (58) 2, 203

CURRICULUM VITAE

Nume, prenume: HODIȘ MARIANA (căs. GANEA)

Locul și data nașterii: Tinca, 29.02.1972

Starea civilă: căsătorită

E-mail: madafarm2005@yahoo.com

Studii: - Liceul industrial „Sinteza,, Oradea, 1986-1990

- Universitatea din Oradea, Facultatea de Medicina și Farmacie, Oradea, 1993-1998

- Farmacist specialist, specialitatea Farmacie Generală - confirmat prin *Ordin M.S. nr.8412/21.07.2003*

- Masterat în analiza și controlul medicamentelor – 2003-2004

- Masterat în pregătirea și perfecționarea personalului didactic – 2004-2005

- Farmacist primar, specialitatea Farmacie Generală – Confirmat prin *Ordin M.S. nr.1626/16.12.2009*

- Doctorand forma fără frecvență, UMF Iuliu Hațieganu , Cluj-Napoca, Facultatea de Farmacie, 10.2004-prezent

Limbi străine: - Engleză-nivel intermediar

- Franceză- nivel intermediar

Activitatea profesională:

- 1990-1993, Operator chimist, Întreprinderea chimică „Sinteza,,

- 1998-1999, Farmacist stagiar , S.C. Pharmarex SRL

- 1999-2001, Farmacist, S. C. Rodia SRL

- 2001-2002, Preparator universitar prin concurs la Catedra de Chimie anorganica, Universitatea din Oradea, Facultatea de Medicină și Farmacie

- 2002-2005, Asistent universitar prin concurs la Catedra de Chimie anorganica, Universitatea din Oradea, Facultatea de Medicină și Farmacie

- 2005-2008 Asistent universitar prin concurs la Catedra de Tehnică Farmaceutică, Universitatea din Oradea, Facultatea de Medicină și Farmacie

- 2008-prezent, Șef de lucrări prin concurs la Catedra de Tehnică Farmaceutică, Departamentul de Științe Farmaceutice Generale, Universitatea din Oradea, Facultatea de Medicină și Farmacie

Cursuri postuniversitare:

- Proiectarea și dezvoltarea preparatelor farmaceutice topice, Universitatea din Oradea, Facultatea de Medicină și Farmacie, 2001

- Farmacistul și asistența primară de sănătate, Universitatea din Oradea, Facultatea de Medicină și Farmacie, 2001

- „ L’Universite francophone cefor cours de formation post-universitare dans le domaine des sciens de la vie, Universitatea din Oradea, Facultatea de Medicină și Farmacie, 2002

- Curs practic de HPLC-Cromatografie de lichide de înaltă performanță Universitatea de Medicină și Farmacie „ Iuliu Hațieganu „, Cluj-Napoca, 2002

- Sisteme terapeutice, Universitatea din Oradea, Facultatea de Medicină și Farmacie, 2002
- Farmacogenomica și terapia genică, Universitatea din Oradea, Facultatea de Medicină și Farmacie, 2004
- Formularea, prepararea și evaluarea biofarmaceutică a medicamentelor, Universitatea din Oradea, Facultatea de Medicină și Farmacie, 2005

Apartenența la societăți științifice sau profesionale de prestigiu:

1998 – Membru în Colegiul Farmacistilor din Bihor

2002 - Membru în Societatea de Chimie din România

2002 - Membru în Societatea de Științe Farmaceutice din România;

Contracte de cercetare:

- "Realizarea și evaluarea unor preparate dermice cu ketoprofen", Contract nr.130/2007, membru, 2007-2008

- "Studii de stabilitate în condiții normale de stocare pentru aerosolii farmaceutici", Nr.contract 98/2009, membru, 2009

Lucrări publicate în extenso în revistele din țară: (3 ca prim autor și 6 coautor)

1. M. Ganea, S. Bota, F. Gligor, C. Moisa, L. Vicas, M. Bojiță - *The identification and assay of ketoprofen from solid pharmaceutical forms. Validation of HPLC method*, Farmacia 2008, vol. LVI, 4, 433-439pg., ISSN 0014-8237

2. Ganea M., Bota S., Moisa C., Vicaș L., Bojiță M., - *Modern methods of identifying the ketoprofen*, Timișoara Medical Journal, 2008, Ediția a-II-a, Vol. 58, Supplement 2, 73-75

3. L. Vicaș, S. Bota, C. Moisa, **M. Ganea** - *Evaluation study of the inclusion complex of captopril-B – cyclodextrin*, Farmacia, 2007, vol. LV, 1, 93-97pg., ISSN 0014-8237

4. Vicas L., Moisa C., **Ganea M.**, Lupuliasa D. - *Formularea unor lacrimi artificiale*, Simpozionul „Toamna medicală oradeană” Oradea 11-13 oct. 2007 138 pg

5. C. Moisa, L. Vicas, **M. Ganea**, T. Jurca, Fl. Banica - *Sinteza și analiza complexilor de asociatie ionica ai trimetazidinei*, Craiova Medicala, 2006, vol. 8, Supl. 1, 273 – 276 pg.

6. C. Moisa, F. Bănică, **M. Ganea**, L. Vicas - *Dozarea în mediu neapos a trimetazidinei dihidroclorice din preparatul industrial Vastarel*, Analele Universității din Oradea, Fascicula Științe farmaceutice, vol. III, Oradea, 2004, 58 – 60pg.

7. Gîtea D., Fekete-Novak V., Iovan V., Jurcă T., **Ganea M.**, „*Identification and dosing the gentamicin in the pharmaceutical products using UV-VIS spectrophotometry; the validation of the method of analyze*”, Analele Universității „Ovidius” Constanța, Seria Științe Medicale-Farmacie, Vol. II, nr. 2, pag. 147-152, 2004;

8. L. Vicas, C. V. Iovan, V. Fekete Novak, C. Moisa, **M. Ganea** - *Determinarea solubilității în apă și controlul cedării in vitro a captoprilului din comprimate*, Analele Universității din Oradea, Fascicula Științe Farmaceutice, Vol III, Oradea 2004

9. M. Ganea, S. Bota, V. Iovan - *Determinarea perioadei de valabilitate a acidului acetic salicilic prin metoda imbatrinirii artificiale accelerate*, Analele Universității din Oradea, Fascicula Științe Farmaceutice, vol. I, Oradea, 2002

Lucrări publicate în extenso în revistele din străinătate: (1 ca prim autor și 1 coautor)

1.C.Moisa, L.Vicaș, F. Gligor, **M. Ganea**, S. Bota – *Identification et dosage de la nitroglycerine par la methode HPLC*, The XXX-th Balcan Medical Week, Chisinău, Rep. Moldovan, 16-18 september 2008, vol.43, 167-169 pg.

2.**Ganea M.**, Bota S., Vicaș L., Moisa C., Bojiță M.,- *Influența umidității asupra stabilității ketoprofenului*-Lucrarea este în curs de apariție sub formă de articol complet în "Archives & L" Union Medicale Balcanique " 2010

Lucrări comunicate și publicate în reviste în rezumat:

1.**Ganea M.**, Vicaș L., Bota S., Gligor F., Moisa C., – *The identification and dissociation of the ketoprofen from pharmaceutical solid forms through HPLC method.Method validation*, Congresul Național de Farmacie, ediția a XIII a, Cluj - Napoca, 28 – 30 septembrie 2006,87pg

2.C.Moisa, S.Bota, L.Vicaș, F.Gligor, **M. Ganea** – *HPLC method for identification and quantification of nitroglycerine*, Congresul Național de Farmacie, ediția a XIII a,Cluj - Napoca, 28 – 30 septembrie 2006,78 pg.;

3.L.Vicaș, S.Bota, C. Moisa, M.Ganea - *The evaluation study of a inclusion complex of captopril – β – cyclodextrin*, Congresul National de Farmacie, ediția a XIII a, Cluj - Napoca, 28 – 30 septembrie 2006, 143 pg.;

4. M. Ganea, S. Bota, L. Vicaș, F. Gligor, C. Moisa, M. Bojiță - *Influența umidității asupra ketoprofenului*, Zilele farmaceutice Orădene, ediția a III-a, Oradea, 8-10 octombrie 2009, 358 pg.;

5. L.Vicaș,T.Jurca, E. Marian, F.Bănică, C. Moisa, M. Ganea – *Stability studies of dried omeprazole suspension*, Congresul National de Farmacie, ediția a XIV-a, Târgu Mureș, 13-16 octombrie 2010, 86-87 pg.;

Cărți publicate

1. T.Jurcă, **M.Ganea**, *Chimie anorganică-Îndrumător practic pentru studenții de la Farmacie*,Editura Universității din Oradea, 2003(ISBN 973-613-446-6)

2. **M.Ganea** și colaboratorii-*Îndrumător de practică în farmacie pentru studenții anului V, Studii de farmacovigilență*,pg43-46, Editura Universității din Oradea, 2009(ISBN 978-973-759-735-9)

**“TULIU HAȚIGANU” UNIVERSITY OF MEDICINE AND
PHARMACY, CLUJ-NAPOCA
FACULTY OF PHARMACY**

**ANALYTICAL AND STABILITY STUDIES OF
KETOPROFEN**

- Doctoral thesis abstract-

*PhD Student:
Ganea Mariana*

*Scientific Coordinator:
Prof. Dr. Bojița Marius*

CONTENT

Introducti.....	7
CURRENT STAGE OF KNOWLEDGE	9
1. Data from specialized literature regarding the physicochemical, pharmacological and pharmacokinetic properties of nonsteroidal anti-inflammatories. <i>Ketoprofen</i>.....	10
1.1 The inflammatory process.....	10
1.2 Classification of anti-inflammatories	12
1.2.1 According to their chemical structure	12
1.2.2 According to the therapeutic effect, there are three groups of NSAIDs	13
1.2.3 According to the duration of action which imposes the administration rates (one or several daily doses)	13
1.2.4 According to the inhibited cyclooxy genase	14
1.2.5 According to the severe gastrointestinal side reactions that they can cause.....	14
1.2.6 From the point of view of rheumatic diseases.....	14
1.2.7 According to the administration method.....	15
1.2.8 From the point of view of action mechanisms (H. FENNER)	15
1.2.9 T. Warner's new classification of anti-inflammatories of 1999, classification complying with the concept of COX1/COX2	16
1.3 Nonsteroidal anti-inflammatories. Relation-structure-activity	16
1.4 Biopharmaceutical properties of NSAIDs	17
1.5 Physicochemical characterization of ketoprofen.....	18
1.5.1 Synthesis and chemical structure of ketoprofen	18
1.5.2 Organoleptic properties	22
1.5.3 Solubility.....	22
1.6 Mechanism of action	22
1.7 Pharmacological– pharmacokinetic properties. Analgesic-antipyretic activit.....	23
1.7.1 Pharmacokinetic activity	23
1.7.2 Metabolism	24
1.7.3 Side effects. Counterindications	25
1.8 Methods of qualitative analysis and identification of ketoprofen	29
1.8.1 Melting point determination	30
1.8.2 Method of quantitative determination.....	30
1.8.3 UV-VIS spectrophotometric method.....	31
1.8.4 IR spectrophotometric method.....	31
1.8.5 Chromatographic method.....	32
1.9 Drug stability.....	32
PERSONAL CONTRIBUTIONS	41
2. Disclosure of objectives	42
2.1 Methods of identifying ketoprofen.....	43
2.1.1 Melting point determination.....	43
2.1.2 Spectrophotometric methods of identification.....	44
2.1.2.1 UV-VIS spectrophotometric method.....	44
2.1.2.2 IR spectrophotometric method.....	47
2.1.3 Chromatographic methods of identification.....	53
2.1.3.1 Thin layer chromatography (TLC).....	54
2.1.3.2 High Performance Liquid Chromatography.....	58
2.2 Methods of qualitative analysis.....	61
2.2.2 Related substances.....	63

2.2.3 Heavy metals.....	66
2.2.4 Loss on drying.....	68
2.2.5 Sulphated ash.....	69
2.3. Conclusions.....	71
VALIDATION OF THE METHOD OF QUANTITATIVE DETERMINATION.....	73
3.Validation of the method of quantitative analysis of ketoprofen by High PerformanceLiquidChromatography.....	74
3.1 Description of validation parameters.....	75
3.1.1 Accuracy.....	75
3.1.2 Precision.....	76
3.1.3 Specificity.....	76
3.1.4 Detection limi.....	76
3.1.5 Quantification limi.....	76
3.1.6 Strength and stiffnes.....	77
3.2. Results of the validation study.....	77
3.2.1 Linearity.....	79
3.2.2 Precision.....	80
3.2.3 Accuracy.....	81
3.2.4 Detection and quantification limit.....	84
3.3 Conclusions.....	85
STABILITY STUDIES.....	91
4. Drug stability.....	92
4.1 ICH QAI guidelines.....	93
4.2 Stability studies of <i>ketoprofen</i> in tablet.....	94
4.2.1 Stability study in accelerated condition.....	95
4.2.2 Long term stability studies.....	117
4.2.3 Conclusions.....	136
4.3 Stability study of <i>ketoprofen</i> under stress conditions.....	138
4.3.1 The influence of UV radiations on the stability of <i>ketoprofen</i>	138
4.3.2 The influence of humidity on the stability of <i>ketoprofen</i>	146
4.3.3 Conclusions.....	146
5. General conclusions.....	155
6. Bibliography.....	158

Keywords: ketoprofen, identification, validation, dosage, stability

CURRENT STAGE OF KNOWLEDGE

Ketoprofen is a non-steroidal anti-inflammatory propionic acid derivative, more exactly the 3-benzoyl-alpha-metilfenilacetic acid [3,4]. It is mainly used by present therapy for its anti-inflammatory effect as well as for its very good analgesic effect [3,31]. It falls into the minor anti-inflammatory category. It can be administered orally, parenterally, rectally as well as by local skin therapy. It acts by inhibiting both types of cyclooxy genase and by inhibiting phospholipase and lipoxygenase. [4, 6, 14].

Pharmacokinetic data indicate that orally, the digestive absorption is good. The plasma $T_{1/2}$ is short, of about two hours. It distributes in the synovial fluid, where high concentrations are achieved. It crosses the placental barrier [8, 21, 22].

Ketoprofen is mostly metabolized in the liver. It undergoes glucuronidation leading to the formation of unstable glucuronic esters which are eliminated mostly through the kidneys. Fecal excretion is less than 1%.

Due to the rapid and complete elimination of **ketoprofen** from the body, it is unlikely to produce any side effects resulting from accumulation of the parent drug or of its metabolite. Since **ketoprofen** does not penetrate the blood brain barrier to a determined limit, the incidence of CNS type effects is minor [31, 34, 35].

The main side effects are nausea, vomiting, diarrhea, constipation, abdominal pain, gastrointestinal discomfort and gastralgia. Other serious adverse reactions are peptic ulcer, gastrointestinal bleeding and intestinal perforation. The frequency of bleeding increases with the dosage. An absolute contraindication is the administration in the last trimester of pregnancy due to cardiopulmonary and renal toxicity risks to the fetus [3, 4, 5].

Combination with other NSAIDs, oral anticoagulants, heparin, ticlopidine, intrauterine contraceptive devices (IUS), lithium preparations and methotrexate is not recommended.

Combinations of **Ketoprofen** with antihypertensives (beta blockers, angiotensin-converting enzyme inhibitors) and diuretics require great caution.

The study of bibliographic data on the characterization of **ketoprofen** in terms of identity and quality has led to the following conclusions:

- **Ketoprofen** has a melting range between 94-97°C, determined by capillary method [9,27,47,48].

- the dosage of **Ketoprofen** is determined by a potentiometric method, determining the equivalence point, in potentiometric terms [9.27].

- the first method of identifying ketoprofen is by IR absorption spectrometry where the spectra of the substance to be analyzed is compared to the spectrum of ketoprofen CRS [9,27,49].

- for the identification of **ketoprofen**, specialized literature data also refer to the TLC (Thin Layer Chromatography) method using GF₂₅₄R silica gel as a contrast substance [9.27]. The main spot in the chromatogram obtained with the solution to be analyzed is similar in position and size to the main spot in the chromatogram obtained with the reference substance (**ketoprofen**).

PERSONAL CONTRIBUTIONS

Since the fight against pain is one of the priorities of medicine, the purpose of this paper is to present the physicochemical properties of **ketoprofen** which is widely used in current therapy for its analgesic, anti-inflammatory effect, to conduct several stability studies of the active principle and of certain pharmaceutical forms, to validate the analytical methods and the dosage of pharmaceutical forms.

Following the analyses performed for the physicochemical and qualitative characterization, I have reached the following conclusions:

- **Ketoprofen** is available under the form of a white crystalline powder, insoluble in water, soluble in acetone, ethanol, methanol, chloroform. The determined melting point is 95.82, a value that is within the range determined by specialized literature [9].

- the UV spectrum was recorded between 230 nm and 350 nm on the **ketoprofen** sample, with a maximum absorption wavelength of 255 nm.

- the identification of **ketoprofen** on the IR spectrum was done by comparing the sample spectrum with the reference spectrum of **ketoprofen**, stored in a database of reference spectra. The result of overlapping the two spectra was 96% similarity, which means a positive identification of **ketoprofen**.

- by applying TLC to identify **ketoprofen**, we have observed that this method is particularly suited to identify this active substance. We obtained a good separation and the experimentally determined R_f ($R_f = 0.75$) was similar to the value in specialized literature ($R_f = 0.76$) [62] for the same chromatographic system.

- further analyses conducted to identify **ketoprofen** by HPLC determined a characteristic retention time of $T_R = 9.562$ minutes [50.57].

- after analyzing the aspect of the obtained solution we observed that the solution was clear, with a colouration no more intense than the colour of the Y6 standard colour scale stipulated by the pharmacopoeia [9].

- for the quantitative determination of synthetic compounds derived as secondary products we used the HPLC method. The presence of impurities in the presence of **ketoprofen** was not detected.

- analyses conducted to determine the presence of heavy metal ions revealed no presence of these ions in the solution of **ketoprofen**.

- following the analyses conducted to determine the mass loss by drying, the average amount of water lost from the sample was of 0.109%, which corresponds to the specifications of the pharmacopoeia, the limit imposed by it being 0.5% [9]. The results were accurate, repeated measurements were performed with a RSD error of 1.46% which is acceptable for pharmaceutical preparations.

- the analysis conducted to determine the residue showed a value of 0.026% after calcination, placing itself in the pharmacopoeia requirements, the limit allowed for sulphated ash being 0.1% [9]. Even in this determination, the $RSD = 1.44\%$, less than $RSD = 2\%$, which is acceptable for pharmaceutical preparations.

The results of the tests on **ketoprofen** as active substance show that it is within the pharmacopoeia requirements [9].

A preliminary stage of a stability study consists of setting up a method of analysis that allows separation, identification and dosage of degradation products [58]. To conduct the stability studies, I have set up a method for the quantitative determination of **ketoprofen** in tablets using high performance liquid chromatography, a validated method. The validation study showed that the method of determining the amount of **ketoprofen** is accurate and precise, allowing repeated quantitative determinations on the same day and on different days with a relative standard error less than 2%. It also determined a detection limit of 0.00003 mg / ml and a quantification limit of 0.00056 mg / ml. It determined the linear range of the detector response in a concentration of 0.005 to 0.01 mg / ml with a correlation coefficient of 0.99997.

Stability studies aim at determining the evolution in time of the quality of the active ingredients and of the finished products under the influence of different aggressive factors, including temperature, light, humidity [47.62]. Stability studies were conducted in accordance with the ICH Q 1A norm (EurPh) [9.60]. The study was conducted on short-term (initial testing was performed at 3 and at 6 months at a temperature of $40 \pm 2^\circ\text{C}$ and at a relative humidity of $75 \pm 5\%$), and on long-term (initial testing was performed at 3, 6, 9, 12, 18, 24, 36 months at a temperature of $25 \pm 2^\circ\text{C}$ and at a relative humidity of $60 \pm 5\%$).

The study in accelerated conditions performed on **Rubifen** tablets shows that the amount of the active substance determined in the three series is at the limit of confidence required by the regulations in force [9]. The dosage of **ketoprofen** in the tablets was determined by the HPLC method, a method previously validated.

The presence of degradation compounds was detected and the quantitative determination of these compounds, by the HPLC method, showed that the values obtained are within the limits imposed by the pharmacopoeia [9].

The study has also determined the amount of *ketoprofen* in tablets after being dissolved. After the dosage of *ketoprofen*, the values obtained are within the required confidence limit. We used the same method as for the dosage of *ketoprofen* in tablets.

The long-term stability study was aimed at verifying the validity and the possible degradation reactions.

Following the study conducted during 36 months on **Rubifen** tablets, I have observed that throughout the period of study the tablets preserved their uniform appearance, their margins remained intact, round and almost white.

After the dosage of *ketoprofen* in tablets, it has been observed that it corresponds to the 95% confidence limit imposed by current regulations. The amount of *ketoprofen* was determined by the HPLC method, a method previously validated.

Along with *ketoprofen*, degradation compounds were also detected in the tablets. After their HPLC determination, the amount of degradation products remains within the limits imposed by the pharmacopoeia.

The study has also determined the amount of *ketoprofen* in tablets after having been dissolved. For the determination of *ketoprofen* we used the same method (HPLC); the values obtained fall within the limits of confidence imposed by the pharmacopoeia [9].

Analyzing the obtained results, we have demonstrated that *ketoprofen* shows physical and chemical stability throughout the study.

After the assessment of the stability study, the following can be stated: the developed analytical method is applicable to determine the quantity of active principles and to observe the evolution of the quantity of active principles during validity, so it can be used both in interphase control tests, at the release of the finished product, and in stability studies. The investigated product showed an adequate stability in our climatic conditions during the period of 36 months, therefore it does not require special storage conditions in pharmaceutical establishments.

The studies on the stability of *ketoprofen* under stress conditions, both as active principle and as pharmaceutical forms containing *ketoprofen* (tablets, injections, spray solutions) led to the following conclusions:

Determinations made under the influence of UV radiations show an intense degradation of the molecule, the speed of these reactions being very high. Within 120 minutes, the content of *ketoprofen* in pharmaceutical preparations decreased as follows:

- the active substance presents a degradation of 32.1%
- the content of *ketoprofen* in tablets presents a degradation of 50.9%
- the content of *ketoprofen* in injection solution presents a degradation of 32.1%
- the content of *ketoprofen* in spray solution presents a degradation of 42.85%

Having assessed the results, one can observe that UV radiations produce an accelerated degradation of *ketoprofen* in all pharmaceutical forms.

It was observed that by exposing the samples to environments with RH 59% for 14 days the content of *ketoprofen* in the samples decreases as follows:

- the active substance presents a degradation of 2.2%
- the content of *ketoprofen* in tablets presents a degradation of 5%
- the content of *ketoprofen* in injection solution presents a degradation of 5.2%
- the content of *ketoprofen* in spray solution presents a degradation of 4.4%

By exposing samples to environments with RH 90%, the following have been observed:

- the active substance presents a degradation of 2.9%

- the content of **ketoprofen** in tablets presents a degradation of 6.2%
 - the content of **ketoprofen** in injection solution presents a degradation of 6.1%
 - the content of **ketoprofen** in spray solution presents a degradation of 4.7%
- Even if **ketoprofen** is insoluble in water, its presence causes molecular degradation.

Selected bibliography

1. Cristea A.N., - *Tratat de farmacologie (Treaty of Pharmacology)*, Ed. Didactică și Pedagogică, Bucharest, 2005
2. Moore N.D., - *In search of an ideal analgesic for common acute pain*. *Acute Pain*.2009; 11:129-137
- 3.Kok-Yuen H., Chiang S.,- *Chronic Pain Management*, *Annals Academy of Medicine*, 2009; 38 (11): 929-93
4. Leucuța S.E. – *Biofarmacie și farmacocinetică (Biopharmaceutics and Pharmacokinetics)*, Ed. Dacia, Cluj Napoca, 2002
- 5.* * * The United States Pharmacopeia 28 rev. (USP 28, NF 23); 2005
- 6.Hersh E.,Pinto., Moore P.A., - *Adverse drug interaction involving common prescription and over-the-counter analgesic agents*. *Clin Ther.* 2007; 29(Suppl):2477-97.
7. Bojiță M., Săndulescu R., Roman L., Oprean L. - *Analiza și controlul medicamentelor*, vol. I, *Baze teoretice și practice*, vol. II, *Metode instrumentale în analiza și controlul medicamentelor (Drug Analysis and Control, vol. I, Theoretical and Practical Bases, vol. II, Instrumental Methods in Drug Analysis and Control)*, Editura Intelcredo, Deva 2003
- 8.*** Romanian Pharmacopeia, 10 rev., Editura Medicală, București 2005
9. Muntean D.L., Bojiță M.,- *Controlul medicamentelor. Metode spectrale, cromatografice și electroforetice de analiză (Drug Control. Spectral, Chromatographic and Electrophoretic Methods of Analysis)*, Ed. Medicală Universitară „Iuliu Hațieganu,, Cluj-Napoca,2004
- 10*** ICH Q1E: Evaluation for Stability Data, 2002
- 11* * * ICHQ1F: *Stability data Package for Registration in Climatic Zones III and IV*.2002
- 12.**Ganea M.**,Bota S., Gligor F., Moisa C., Vicaș L., Bojiță M.,-*The identification and assay of ketoprofen from solid pharmaceutical forms. Validation of HPLC method*, *Farmacia* 2008; vol.LVI, 4, 433-439
- 13.**Ganea M.**, Bota S, Moisa. C, Vicaș L., Bojiță M,- *Modern methods of identifying the ketoprofen*, *Timișoara Medical Journal*,2008; Ediția a-II- a , Vol. 58, Supplement 2, 73-75
- 14.Roman L., Bojiță M., Săndulescu R., Muntean D.L., - *Validarea metodelor analitice (Validation of Analytical Methods)*, Ed. Medicală București, 2007
- 15.Dvorok. J.,- *Determinarea simultana HPLC a ketoprofenului și produșilorde degradare în prezența de conservanți în medicamente (Simultaneous HPLC Determination of Ketoprofen and its Degradation Products in the Presence of Preservatives in Pharmaceuticals)*, *J. Pharm. Biomed Anal.*, 2004; Nov15, 36(3),625-9;
- 16.**Ganea M.**, Bota S., Iovan V., – *Determinarea perioadei de valabilitate a acidului acetic salicilic prin metoda îmbatrânirii artificiale accelerate (Determining the Validity of Acetylsalicylic Acid with the Artificial Accelerated Aging Method)*, *Analele Universității din Oradea, Fascicula Științe Farmaceutice, vol.I, Oradea, 2002*
- 17.Iuga C., Bojiță M., -*Stability study of omeprazole*, *Farmacia*, 2010; (58) 2, 203

CURRICULUM VITAE

Name: HODIȘ MARIANA (married GANEA)

Date and place of birth: February 29th 1972, Tinca

Marital status: married

E-mail: madafarm2005@yahoo.com

Education and training sessions:

- “Sinteza” Industrial High school, Oradea, 1986-1990
- University of Oradea, Faculty of Medicine and Pharmacy, Oradea, 1993-1998
- Pharmacist specialist, field: General Pharmacy – confirmed by Decree *no.8412/21.07.2003* issued by the Ministry of Health
- Master studies in Drug Analysis and Control - 2003-2004
- Master studies in Teaching Staff Professional Training - 2004-2005
- Senior pharmacist, field: General Pharmacy – confirmed by Decree *no. 1626/16.12.2009* issued by the Ministry of Health.
- PhD student, distant learning education,” Iuliu Hațieganu” University of Medicine and Pharmacy, Cluj-Napoca, Faculty of Pharmacy, 10.2004-present day.

Foreign languages:

- English – intermediate level
- French – intermediate level

Professional career:

- 1990-1993 – Chemical operator, “Sinteza” Chemical Company
- 1998-1999 - Pharmacist intern, S.C. Pharmarex SRL
- 1999-2001- Pharmacist, S. C. Rodia SRL
- 2001-2002- Junior Teaching Assistant, Chair of Inorganic Chemistry, University of Oradea, Faculty of Medicine and Pharmacy
- 2002-2005- Assistant Professor, Chair of Inorganic Chemistry, University of Oradea, Faculty of Medicine and Pharmacy
- 2005-2008 - Assistant Professor, Chair of Pharmaceutical Technology, University of Oradea, Faculty of Medicine and Pharmacy
- 2008-present day – Lecturer, Chair of Pharmaceutical Technology, Department of General Pharmaceutical Sciences, University of Oradea, Faculty of Medicine and Pharmacy

Postgraduate courses:

- Design and Development of Topical Pharmaceutical Formulations, University of Oradea, Faculty of Medicine and Pharmacy, 2001
- The Pharmacist and Primary Health Care, University of Oradea, Faculty of Medicine and Pharmacy, 2001
- L’Université francophone CEFOR cours de formation postuniversitaire dans le domaine des sciences de la vie, University of Oradea, Faculty of Medicine and Pharmacy, 2002
- Practical course of HPLC – High Performance Liquid Chromatography,” Iuliu Hațieganu” University of Medicine and Pharmacy, Cluj-Napoca, 2002
- Therapeutic Systems, University of Oradea, Faculty of Medicine and Pharmacy, 2002

-
- Pharmacogenomics and Gene Therapy, University of Oradea, Faculty of Medicine and Pharmacy, 2004
 - Formulation, Preparation and Assessment of Biopharmaceutical Drugs, University of Oradea, Faculty of Medicine and Pharmacy, 2005

Membership in prestigious professional and scientific associations

- 1998 - Member of Bihor College of Pharmacists
- 2002 – Member of the Romanian Society of Chemistry
- 2002 – Member of the Romanian Society of Pharmaceutical Sciences

Research contracts:

- ”Implementation and Assessment of Several Dermal Preparations using Ketoprofen”, Contract no. 130/2007, member, 2007-2008
- “Stability Studies of Pharmaceutical Aerosols in Normal Conditions of Storage”, Contract no. 98/2009, member, 2009

Scientific papers published in extenso in national magazines (3 as first author and 6 as co-author):

1. **M. Ganea**, S. Bota, F. Gligor, C. Moisa, L. Vicas, M. Bojiță-*The identification and assay of ketoprofen from solid pharmaceutical forms. Validation of HPLC method*, Farmacia 2008, vol. LVI, 4, 433-439pg., ISSN 0014-8237
2. **Ganea M.**, Bota S., Moisa. C., Vicaș L., Bojiță M.,- *Modern methods of identifying the ketoprofen*, Timișoara Medical Journal, 2008, Ediția a-II-a, Vol. 58, Supplement 2, 73-75
3. L. Vicaș, S. Bota, C. Moisa, **M. Ganea** – *Evaluation study of the inclusion complex of captopril-B – cyclodextrin*, Farmacia, 2007, vol. LV, 1, 93-97pg., ISSN 0014-8237
4. Vicas L., Moisa C., **Ganea M.**, Lupuliasa D. – *Formularia unor lacrimi artificiale, Simpozionul „Toamna medicala oradeana” Oradea 11-13 oct. 2007* 138 pg
5. C. Moisa, L. Vicas, **M. Ganea**, T. Jurca, Fl. Banica – *Sinteza si analiza complexilor de asociatie ionica ai trimetazidinei*, Craiova Medicala, 2006, vol. 8, Supl. 1, 273 – 276 pg.
6. C. Moisa, F. Bănică, **M. Ganea**, L. Vicas – *Dozarea în mediu neapos a trimetazidinei dihidroclorice din preparatul industrial Vastarel*, Analele Universității din Oradea, Fascicula Științe farmaceutice, vol. III, Oradea, 2004, 58 – 60pg.
7. Gîtea D., Fekete-Novak V., Iovan V., Jurcă T., **Ganea M.**, „*Identification and dosing the gentamicin in the pharmaceutical products using UV-VIS spectrophotometry; the validation of the method of analyze*”, Analele Universității „Ovidius” Constanța, Seria Științe Medicale-Farmacie, Vol. II, nr. 2, pag. 147-152, 2004;
8. L. Vicas, C. V. Iovan, V. Fekete Novak, C. Moisa, **M. Ganea** – *Determinarea solubilitatii in apa si controlul cedarii in vitro a captoprilului din comprimate*, Analele Universitatii din Oradea, Fascicula Științe Farmaceutice, Vol III, Oradea 2004
9. **M. Ganea**, S. Bota, V. Iovan – *Determinarea perioadei de valabilitate a acidului acetil salicilic prin metoda imbatrinirii artificiale accelerate*, Analele Universitatii din Oradea, Fascicula Științe Farmaceutice, vol. I, Oradea, 2002

Scientific papers published in extenso in international magazines (1 as first author and 1 as co-author):

1. C. Moisa, L. Vicas, F. Gligor, **M. Ganea**, S. Bota – *Identification et dosage de la nitroglycerine par la methode HPLC*, The XXX-th Balcan Medical Week, Chisinau, Rep. Moldovan, 16-18 september 2008, vol. 43, 167-169 pg.

2. **Ganea M.**, Bota S., Vicaș L., Moisa C., Bojiță M.,- *Influența umidității asupra stabilității ketoprofenului*-Lucrarea este în curs de apariție sub formă de articol complet în "Archives & L" Union Medicale Balcanique " 2010

Scientific papers submitted and published in abstract in magazines:

1. **Ganea M.**, Vicaș L., Bota S., Gligor F., Moisa C., – *The identification and dissociation of the ketoprofen from pharmaceutical solid forms through HPLC method. Method validation*, Congresul Național de Farmacie, ediția a XIII a, Cluj - Napoca, 28 – 30 septembrie 2006, 87pg

2. C. Moisa, S. Bota, L. Vicaș, F. Gligor, **M. Ganea** – *HPLC method for identification and quantification of nitroglycerine*, Congresul Național de Farmacie, ediția a XIII a, Cluj - Napoca, 28 – 30 septembrie 2006, 78 pg.;

3. L. Vicaș, S. Bota, C. Moisa, **M. Ganea** - *The evaluation study of a inclusion complex of captopril – β – cyclodextrin*, Congresul National de Farmacie, ediția a XIII a, Cluj - Napoca, 28 – 30 septembrie 2006, 143 pg.;

4. **M. Ganea**, S. Bota, L. Vicaș, F. Gligor, C. Moisa, M. Bojiță - *Influența umidității asupra ketoprofenului*, Zilele farmaceutice Orădene, ediția a III-a, Oradea, 8-10 octombrie 2009, 358 pg.;

5. L. Vicaș, T. Jurca, E. Marian, F. Bănică, C. Moisa, **M. Ganea** – *Stability studies of dried omeprazole suspension*, Congresul National de Farmacie, ediția a XIV-a, Târgu Mureș, 13-16 octombrie 2010, 86-87 pg.;

Published books:

3. T. Jurcă, **M. Ganea**, *Chimie anorganică-Îndrumător practic pentru studenții de la Farmacie*, Editura Universității din Oradea, 2003 (ISBN 973-613-446-6)

4. **M. Ganea** și colaboratorii-*Îndrumător de practică în farmacie pentru studenții anului V, Studii de farmacovigilență*, pg 43-46, Editura Universității din Oradea, 2009 (ISBN 978-973-759-735-9)