

## РЕЦЕНЗИЈА

НА ДОКТОРСКА ДИСЕРТАЦИЈА СО НАСЛОВ „РАЗВОЈ И ВАЛИДАЦИЈА НА МЕТОДБАЗИРАНА ТЕЧНА ХРОМАТОГРАФИЈА ЗА ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА МЕЛОКСИКАМ И НЕГОВИ СРОДНИ СУПСТАНЦИИ ПРИ ИСПИТУВАЊЕ НА СТАБИЛНОСТ ВО РАСТВОР ЗА ИНЈЕКТИРАЊЕ“, ПРИЈАВЕНА НА ФАКУЛТЕТ ЗА МЕДИЦИНСКИ НАУКИ, УНИВЕРЗИТЕТ „ГОЦЕ ДЕЛЧЕВ“ – ШТИП

Со Одлука број 0206-192/9 од 20.2.2026 година, донесена на 111. седница на Наставно-научниот совет на докторски студии на Кампус 3, Факултет за медицински науки, Универзитет „Гоце Делчев“ во Штип, формирана е Комисија за оценка и одбрана на докторската дисертација со наслов „*Развој и валидација на метод базиран на течна хроматографија за определување на мелоксикам и негови сродни супстанции при испитување на стабилност во раствор за инјектирање*“, на англиски јазик “*Development and validation of a liquid chromatography-based method for determination of meloxicam and its related substances in injection solution stability testing*”, пријавена и изработена од м-р спец. Дино Карпичаров, студент на трет циклус студии на студиската програма Фармацевтски науки, како редовен студент со број на индекс 31169, во следниов состав:

- проф. д-р Марија Дарковска-Серафимовска, претседател;
- проф. д-р Биљана Ѓорѓеска, член (ментор);
- проф. д-р Јасмина Тониќ-Рибарска, член (екстерен ментор);
- проф. д-р Зорица Арсова-Сарафиновска, член;
- проф. д-р Емилија Јаневиќ-Ивановска, член.

Комисијата го разгледа доставениот материјал и го поднесува следниов

## ИЗВЕШТАЈ

Докторската дисертација изработена од кандидатот м-р спец. Дино Карпичаров претставува обемен, систематски структуриран и научно заснован истражувачки труд, со јасна ориентација кон применета аналитичка методологија и релевантни аспекти на контрола на квалитет и следење на стабилноста на фармацевтските производи.

Дисертацијата е изработена на вкупно 195 страници (А4 формат) и содржи 56 слики, 44 табели, 13 равенки и 160 библиографски референци, што укажува на темелна обработка на истражуваната проблематика и широка консултација на релевантна научна и стручна литература. Структурата на трудот е јасна, логична и целосно усогласена со Правилникот за изработка на докторска дисертација на Универзитетот „Гоце Делчев“ – Штип, при што се опфатени сите задолжителни целини: вовед, преглед на литература, цели на истражувањето, материјали и методи, резултати, дискусија и заклучок. Исто така, приложен е краток извадок (на македонски и англиски јазик) со соодветни клучни зборови, уреден список на користена литература, како и листа на кратенки, со што дисертацијата во целост ги исполнува формалните и содржински барања.

Докторската дисертација е изработена целосно во согласност со образложението наведено во пријавата на темата. Поставените цели, избраната методологија и добиените резултати доследно ја следат првично дефинираната научна концепција, при што истражувачката работа е реализирана во планираниот обем и насока. Посебна вредност на трудот претставува интегрирањето на современи аналитички концепти, како што се аналитичкиот квалитет во дизајн (Analytical Quality by Design, AQbD), софтверски потпомогната оптимизација и систематска проценка на мерната неодреденост, што ја надградува класичната рамка на развој и валидација на аналитички методи.

Содржината на докторската дисертација може суштински да се подели на два меѓусебно поврзани и логички заокружени дела: теоретски и експериментален дел. Теоретскиот дел ги опфаќа воведот и прегледот на литература, во кои се поставува научната основа на истражувањето. Експерименталниот дел ги опфаќа целите на истражувачката работа, материјалите и методите, резултатите со дискусија, како и заклучокот, преку кои е прикажана реализацијата на истражувањето и научната интерпретација на добиените наоди.

*Воведот* на докторската дисертација е јасно структуриран, логички конзистентен и научно издржан. Кандидатот на прецизен и аргументиран начин го воведува значењето на аналитичките методи како фундаментален елемент во обезбедувањето на квалитетот, безбедноста и ефикасноста на лековите, со соодветно нагласување на улогата на течната хроматографија со високи перформанси (High-Performance Liquid Chromatography, HPLC) како доминантна аналитичка техника во фармацевтската анализа.

Во воведот убедливо се истакнува потребата од сигурно и повторливо определување на содржината на активната супстанција, како и од паралелно следење на стабилноста преку контрола на сродните супстанции и/или деградациски производи, особено кај парентералните дозирани форми. Изборот на мелоксикам раствор за инјектирање како предмет на истражување е логично и аргументирано оправдан, при што јасно се поврзуваат фармаколошките, физичко-хемиските и регулаторните аспекти со аналитичките предизвици што ги поставува ваквата формулација.

Посебно позитивно се оценува начинот на кој кандидатот ги прикажува ограничувањата на традиционалниот пристап „еден фактор во дадено време“ (One-Factor-at-a-Time, OFAT) и постепено воведува современи концепти како AQbD, дизајн на експерименти (Design of Experiments, DoE) и софтверски поддржана оптимизација. Воведниот дел успешно воспоставува јасна врска меѓу теоретската основа и целите на истражувањето, создавајќи стабилна и логична рамка за понатамошниот тек на дисертацијата.

*Прегледот на литература* во докторската дисертација е изработен систематски, методолошки уредно и со јасно дефинирана логичка структура. Кандидатот демонстрира темелно познавање на релевантна научна литература, како и на актуелната регулаторна рамка што ја уредува контролата на квалитет на лековите, вклучително и нивната стабилност и профил на онечистувања. Литературниот преглед не е ограничен на описно изнесување на податоци, туку е насочен кон создавање цврста теоретска и концептуална основа за експерименталниот дел на истражувањето.

Во почетните потпоглавја соодветно се обработуваат карактеристиките на готовиот фармацевтски производ (мелоксикам раствор за инјектирање) и својствата на активната супстанција (мелоксикам). Физичко-хемиските и биофармацевтските карактеристики се анализирани во контекст на нивното влијание врз стабилноста, растворливоста и аналитичкото однесување, при што јасно се истакнува значењето на зависноста од рН, рКа-вредностите и ниската растворливост како фактори што директно го условуваат изборот на аналитички услови. Вклучувањето на структурните и аспектите на зависноста структура-активност (Structure–Activity Relationship, SAR), како и хемиската класификација на мелоксикам како дериват на оксикам, е целосно оправдано и придонесува кон подобро разбирање на потенцијалните деградациски патишта и појавата на сродни супстанции и/или деградациски производи.

Посебна вредност претставува начинот на кој кандидатот ги поврзува карактеристиките на активната супстанција и формулацијата со аспектите на стабилност и контрола на квалитет. Ризиците од деградација се логично поврзани со потребата од примена на аналитички методи за следење на стабилност (Stability-Indicating Methods, SIMs), при што јасно се нагласуваат барањата за селективност, раздвојување и квантитативна сигурност. Делот посветен на ексципиенсите е обработен функционално и аналитички ориентирано, со правилно истакнување на нивната улога во обезбедување растворливост и стабилност, како и со разгледување на нивниот потенцијал за аналитичка интерференција. Притоа, соодветно е нагласена улогата на анализата на плацебо како елемент за потврдување на селективноста на методите.

Обработката на онечистувањата е јасна, кохерентна и целосно усогласена со релевантните водичи на Меѓународниот совет за хармонизација на техничките барања за лекови за хумана употреба (International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use, ICH). Направено е прецизно разграничување меѓу онечистувањата на активната супстанција и онечистувањата во готовиот фармацевтски производ, како и помеѓу специфицирани и неспецифицирани деградациски производи. Посебното издвојување и деталната обработка на онечистувањата А, В, С и D придонесува за јасно дефинирање на аналитичките цели и ја зајакнува поврзаноста меѓу теоретскиот и експерименталниот дел на трудот.

Во понатамошните делови, литературата поврзана со развојот и оптимизацијата на аналитички методи е соодветно интегрирана со концептите на AQB. Кандидатот коректно ги воведува и објаснува клучните поими како што се: целен аналитички профил (Analytical Target Profile, ATP), целен профил на квалитет на производот (Quality Target Product Profile, QTTP), критични атрибути на квалитет (Critical Quality Attributes, CQAs), критични параметри на методот (Critical Method Parameters, CMPs), критични аналитички атрибути (Critical Analytical Attributes, CAAs) и работна област на дизајн на методот (Method Operable Design Region, MODR), при што јасно се истакнува нивната практична применливост. Особено позитивно се оценува вклучувањето на софтверски потпомогнат работен тек, базиран на DryLab<sup>®</sup> и MODDE<sup>®</sup>, што е во целосна согласност со современите регулаторни очекувања за систематски развој, управување со варијабилноста и демонстрирање робустност на аналитичките методи.

Дополнително, деловите за форсирана деградација, баланс на маса и мерна неодреденост се обработени јасно и со нагласена аналитичка логика. Вметнувањето на концептите за проценка на мерната неодреденост преку пристапите озгора-надолу и оздола-нагоре во рамките на прегледот на литература претставува значајна предност, бидејќи го поставува истражувањето во поширок контекст на доверливост, следливост и регулаторна прифатливост на аналитичките резултати.

*Целите на истражувачката работа* се јасно, прецизно и логично дефинирани и произлегуваат директно од поставената проблематика и од прегледот на релевантната литература. Главната цел на докторската дисертација е развој, оптимизација и валидација на HPLC методи за определување на содржината, односно определување на мелоксикам во присуство на неговите сродни супстанции. Притоа, оваа цел е јасно формулирана, научно оправдана и целосно остварлива.

Дополнителните цели, кои, исто така, се поврзани со примената на традиционален и пристап базиран на AQBd, интеграцијата на софтверските алатки DryLab<sup>®</sup> и MODDE<sup>®</sup>, како и со систематската проценка на мерната неодреденост, ја надградуваат основната цел и и даваат современа, методолошки напредна димензија. Ваквата поставеност на целите обезбедува јасна насока на истражувањето и овозможува добиените резултати да имаат научна, но и високо практична и регулаторна релевантност.

Делот *Материјали и методи* е детално и прецизно структуриран, при што кандидатот обезбедува јасен и транспарентен опис на применетите експериментални постапки. Изборот на хемикалии, реагенси, аналитичка опрема и софтверски алатки е соодветен на целите на истражувањето и во согласност со современата аналитичка практика.

Посебно позитивно се оценува комбинирањето на традиционалниот пристап со пристапот базиран на AQBd. Примената на DryLab<sup>®</sup> за предиктивно моделирање на ретенцијата и на MODDE<sup>®</sup> за DoE, оптимизација и проценка на робустноста овозможува систематски и рационален развој на аналитичките методи, со значително намалување на бројот на експерименти и поефикасно управување со критичните параметри.

Методолошкиот пристап за развој на изократски и градиентен HPLC метод, како и протоколите за изведба на студиите на форсирана деградација, се опишани јасно и доволно детално за да овозможат репродуктивност на резултатите. Вклучувањето на процедури за проценка на мерната неодреденост, базирани на пристапите озгора-надолу и оздола-нагоре, претставува дополнителна методолошка вредност и ја зајакнува доверливоста на добиените аналитички резултати.

*Резултатите* презентирани во докторската дисертација се обемни, систематски обработени и јасно поврзани со претходно дефинираните цели на истражувањето. Тие се прикажани на прегледен и аргументиран начин преку табеларни и графички прикази, репрезентативни хроматограми, како и преку соодветна статистичка обработка. Во рамките на евалуацијата на линеарноста, резултатите се анализирани со регресиона анализа (метод на најмали квадрати), при што зависноста помеѓу аналитичкиот одговор и концентрацијата е опишана преку равенка на регресиона права и соодветни статистички показатели, обезбедувајќи јасна и квантитативна поткрепа на линеарниот однос во испитуваниот опсег.

Кандидатот успеал да развие и експериментално да потврди два аналитички метода базирани на HPLC: изократски метод за определување на содржината на мелоксикам во раствор за инјектирање и градиентен метод за следење на стабилноста преку квантификација на сродните супстанции и/или деградациските производи на мелоксикам во истата дозирана форма. Развиените методи покажуваат соодветна селективност, чувствителност и аналитички перформанси, при што е овозможено јасно и репродуктивно раздвојување на активната супстанција од сродните супстанции и/или деградациските производи.

Посебно значајно е тоа што stability-indicating карактерот на методот е потврден преку систематски спроведени студии на форсирана деградација под кисели, базни, оксидативни и термални услови. Резултатите од овие испитувања се презентирани и квантитативно и визуелно, преку табеларни податоци за содржина и баланс на маса, како и преку репрезентативни хроматограми по секој деградациски услов, на две бранови должини. На тој начин се овозможува јасен увид во појавата или порастот на содржината на деградациски производи и се потврдува раздвојувањето во присуство на компонентите на матриксот.

Резултатите од валидацијата покажуваат дека методите ги исполнуваат релевантните критериуми за прифатливост во однос на специфичност / селективност, линеарност и опсег, точност и прецизност, граница на детекција и граница на квантификација и робустност. Во таа насока, како дополнителна вредност се издвојува деталната проценка на робусноста преку испитување на контролирани варијации на критични услови, при што резултатите се прикажани табеларно и поткрепени со соодветни статистички показатели за варијабилност.

Дополнително, значајна компонента на експерименталниот дел претставува деталната проценка на соодветноста на систем, реализирана преку шест последователни инјектирања и следење на стандардни хроматографски параметри поврзани со ретенцијата, симетријата на пикот, ефикасноста на колоната и степенот на раздвојување. Овој пристап ја демонстрира стабилноста и репродуктивноста на аналитичкиот систем и ја зајакнува довербата во добиените резултати при рутинска примена.

Конечно, резултатите се надградени со систематска проценка на мерната неодреденост, при што, во согласност со рамката на Европскиот директорат за квалитет на лекови и здравствена заштита (European Directorate for the Quality of Medicines and Healthcare, EDQM), се применети пристапите озгора-надолу и оздола-нагоре. Притоа, изворите на неодреденост се идентификувани и структурирани преку дијаграм на причина и последица, со разграничување на релевантните категории (поврзани со прецизност, точност и подготовка на раствори), што претставува јасен и методолошки коректен пристап за транспарентна интерпретација на придонесите кон вкупната неодреденост.

*Дискусијата* е напишана аналитички зрело и со јасна логична структура. Кандидатот не се ограничува само на опис на добиените резултати, туку истите ги интерпретира во контекст на современите научни сознанија и регулаторни барања. Постои јасна поврзаност меѓу резултатите од експерименталниот дел и теоретската рамка поставена во прегледот на литература, што укажува на добро разбирање на аналитичките принципи и нивната практична примена.

Посебно позитивно се оценува начинот на кој се дискутира примената на AQBd. Преку интеграција на софтверските алатки DryLab<sup>®</sup> и MODDE<sup>®</sup>, кандидатот успева да го прикаже развојот на аналитичкиот метод како систематски и предиктивен процес, а не како резултат на случајни или исклучиво емпириски оптимизации. Дефинирањето и експерименталната потврда на работната област на дизајн на методот претставуваат јасен показател за робустноста и стабилноста на аналитичките услови.

Дискусијата за проценка на мерната неодреденост дополнително ја надградува научната вредност на трудот. Примената на пристапите озгоранадолу и оздола-нагоре овозможува резултатите да се интерпретираат како интервали со дефинирано ниво на доверба, што е од особено значење во регулаторен и индустриски контекст. На овој начин, кандидатот демонстрира напредно разбирање на концептот на аналитичка сигурност и неговата улога во донесувањето на квалитетни и оправдани одлуки.

*Заклучокот* во дисертацијата претставува јасно и научно издржано заокружување на истражувањето, при што централниот акцент е поставен на интегрираниот пристап заснован на AQBd, софтверски потпомогнато моделирање и квантитативна проценка на мерната неодреденост, како ефикасна рамка за развој на робусни и регулаторно усогласени SIMs. Воедно, заклучните согледувања ја потенцираат преносливоста на воспоставената методолошка рамка и нејзината применливост како основа за развој и адаптација на аналитички методи и во други фармацевтски формулации, со задржување на научната и регулаторната конзистентност.

Посебна додадена вредност е визијата за понатамошна дигитализација на аналитичкиот развој преку интеграција на напредни алатки базирани на вештачка интелигенција и машинско учење, при што воведувањето на овие пристапи е оправдано како логично продолжување на AQBd концептот и мултиваријантното моделирање. Дополнително, се нагласува можноста за унапредување на проценката на аналитичката сигурност преку премин кон динамичка проценка на мерната неодреденост, која би се ажурирала врз основа на податоци од рутинската примена и долгорочниот мониторинг на перформансите на методот, како современ пристап за управување со аналитичкиот ризик во текот на животниот циклус на методот.

#### **Научен и апликативен придонес**

Оригиналниот научен придонес на дисертацијата се состои во воспоставување и практична демонстрација на интегриран работен тек базиран на AQBd, кој комбинира DryLab<sup>®</sup> и MODDE<sup>®</sup>. Притоа, DryLab<sup>®</sup> е применет за предиктивно моделирање и рационална оптимизација на градиентниот режим, додека MODDE<sup>®</sup>, врз основа на DoE, е искористен за статистичка верификација на робустноста, идентификација на SMPs и дефинирање на експериментално потврдена MODR. Со ова, методот се развива како стабилен аналитички систем во рамки на дефиниран оперативен простор, наместо како единствен сет на услови, што претставува клучна предност во однос на OFAT пристапот.

Дополнително, развиениот SIM е уверливо поткрепен со студии на форсирана деградација и баланс на маса близу 100%, со што се потврдува

способноста за сигурна детекција и квантификација на деградациските производи во присуство на компонентите од матриксот. Проценката на мерната неодреденост, применета во согласност со релевантната рамка, претставува дополнителна надградба на доверливоста и регулаторната интерпретабилност на добиените резултати.

Апликативниот придонес на дисертацијата се согледува во развојот на применлив и репродуктивен модел за развој и валидација на SIMs, наменет за рутинска контрола на квалитет и регулаторно документирање. Всушност, преку овој модел се овозможува намалување на бројот на експерименти и трошоци при развој на метод, скратување на времето потребно за оптимизација, дефинирање на научно оправдана MODR погоден за регулаторни поднесоци, олеснета, полесно оправдување на методот при инспекциски надзори и стручни проценки, како и поддршка на пристапот за управување со животниот циклус на методот и контролирано спроведување на промени во аналитичките постапки.

Примената на ваков систематски поддржан пристап има директна вредност во фармацевтската индустрија, особено во контекст на развој, валидација, трансфер и рутинска примена на аналитички методи за контрола на квалитет. Како резултат на тоа, дисертацијата не само што придонесува кон унапредување на научната методологија, туку дефинира и практично применлив модел кој може да се репродуцира и за други активни супстанции и дозирани форми.

### **Исполнетост на законските услови за одбрана на докторската дисертација**

Научната релевантност и валоризација на резултатите се потврдени и преку објавени рецензирани научни трудови во национални и меѓународни списанија, како и преку учество на научни собири, што укажува на нивната препознаеност и прифатеност од пошироката научна заедница.

Ова е во согласност со исполнетоста на законските услови за пристапување кон одбрана на докторската дисертација, имајќи предвид дека кандидатот има објавени трудови кои тематски и методолошки се директно поврзани со предметот на истражување и претставуваат научна валоризација на дел од резултатите од докторскиот труд:

**1. Karpicarov, D.,** Mitrevska, I., Manchevska, B., Apostolova, P., Tonic Ribarska, J., Gjorgjeska, B. (2026). Software-Assisted Analytical Quality by Design for Stability-Indicating Method Development: Integration of DoE and Predictive Retention Modeling Using MODDE® and DryLab®. *Macedonian Pharmaceutical Bulletin*, 72(2):3–15. doi: 10.33320/maced.pharm.bull.2026.72.02.001. [https://bulletin.mfd.org.mk/volumes/Volume%2072\\_2/72\\_2\\_002.pdf](https://bulletin.mfd.org.mk/volumes/Volume%2072_2/72_2_002.pdf). Трудот е уредно депониран во матичниот репозиториум: <https://eprints.ugd.edu.mk/37279/>

**2. Karpicarov, D.,** Mitrevska, I., Apostolova, P., Arev, M., Arsova-Sarafinovska, Z., Darkovska Serafimovska, M., Dražić, B., Tonic Ribarska, J., Gjorgjeska, B. (2025). Estimation of Measurement Uncertainty Using Top-Down and Bottom-Up Approaches for Accurate Content Determination of Meloxicam in Injectable Dosage Forms. *Arhiv za farmaciju*, 75(6):493–507. doi: 10.5937/arhfarm75-63142. <https://aseestant.ceon.rs/index.php/arhfarm/article/view/63142/29623>. Трудот е уредно депониран во матичниот репозиториум: <https://eprints.ugd.edu.mk/37126/>

### ЗАКЛУЧОК И ПРЕДЛОГ

Комисијата за оценка и одбрана детално ја разгледа докторската дисертација со наслов „Развој и валидација на метод базиран на течна хроматографија за определување на мелоксикам и негови сродни супстанции при испитување на стабилност во раствор за инјектирање“, односно на англиски јазик “*Development and validation of a liquid chromatography-based method for determination of meloxicam and its related substances in injection solution stability testing*”, пријавена и изработена од кандидатот м-р спец. Дино Карпичаров. Врз основа на севкупната анализа може да се заклучи дека дисертацијата претставува оригинален, самостоен, прецизно дефиниран и јасно оформен научен труд со систематски разработена проблематика и оригинални резултати.

Со оглед на научната оправданост на темата, квалитетот на применетата методологија, јасноста и релевантноста на добиените резултати, како и нивната практична и регулаторна применливост, докторската дисертација во целост ги исполнува условите за јавна одбрана. Според тоа, Комисијата има чест да му предложи на Наставно-научниот совет на докторски студии на Кампус 3 да ја прифати позитивната рецензија на докторската дисертација на кандидатот м-р спец. Дино Карпичаров и да му дозволи пристапување кон јавна одбрана на истата.

### РЕЦЕНЗЕНТСКА КОМИСИЈА

Проф. д-р Марија Дарковска-Серафимовска, претседател, Факултет за медицински науки, Универзитет „Гоце Делчев“ – Штип, с.р.

Проф. д-р Биљана Ѓорѓеска, член и ментор, Факултет за медицински науки, Универзитет „Гоце Делчев“ – Штип, с.р.

Проф. д-р Јасмина Тониќ-Рибарска, член и екстерен ментор, Фармацевтски факултет, Универзитет „Св. Кирил и Методиј“ – Скопје,

Проф. д-р Зорица Арсова-Сарафиновска, член, Факултет за медицински науки, Универзитет „Гоце Делчев“ – Штип, с.р.

Проф. д-р Емилија Јаневиќ-Ивановска, член, Факултет за медицински науки, Универзитет „Гоце Делчев“ – Штип, с.р.