



Teza de doctorat: Aplicații ale designului experimental în dezvoltarea unor metode de electroforeză capilară pentru determinarea unor impurități chirale și achirale ale unor substanțe de interes farmaceutic

Doctorand: Adriana Modroiu

Coordonator științific: Prof. Univ. Dr. Gabriel Hancu

Determinarea purității chirale și a profilului impurităților chimic înrudite reprezintă un aspect important al analizei medicamentelor, permițând asigurarea calității și implicit a siguranței terapeutice. În prezent, tendința de utilizare a enantiomerilor optic puri în terapie a crescut semnificativ, pe măsură ce efectul stereochemiei asupra profilului farmacologic al substanțelor medicamentoase chirale a fost mai bine înțeles și recunoscut. Este de remarcat faptul că, în ultimii 10 ani, aproximativ 95% dintre medicamentele chirale aprobate de FDA au fost sub formă de enantiomeri optic puri.

Scopul tezei a fost de a dezvolta și optimiza metode analitice bazate pe electroforeza capilară (CE) pentru determinarea purității chirale și a profilului impurităților înrudite chimic în cazul unor substanțe medicamentoase chirale, utilizând metodologia Analytical Quality by Design (AQbD) și abordările de design experimental (DoE) pentru a asigura eficiența, fiabilitatea și aplicabilitatea acestora în analiza farmaceutică.

Moleculele model utilizate în cadrul prezentei lucrări au fost silodosinul (SLD) și tamsulosinul (TAM), aparținând clasei blocaților α -adrenergici, și omeprazolul (OME), din clasa inhibitorilor pompei de protoni. Aceste substanțe sunt utilizate în terapie sub formă de enantiomeri optic puri (*R*-SLD, *R*-TAM, *S*-OME), iar în cazul OME se utilizează și amestecul racemic (*R,S*-OME).

CE a fost aleasă ca metodă de analiză datorită avantajelor, precum eficiența ridicată a separării, dezvoltarea rapidă a metodelor analitice, precum și consumul redus de analiți, reactivi și selectori chirali. De asemenea, CE este considerată o metodă „verde” prin comparație cu HPLC, datorită consumului scăzut de solvenți organici.

În mod tradițional, pentru dezvoltarea metodelor analitice, se utilizează strategia univariată (OFAT – One Factor at a Time), însă această abordare prezintă unele limitări, necesitând un număr relativ mare de experimente și nu caracterizează interacțiunile dintre parametri. Utilizarea metodologiei de DoE constă în studierea simultană a mai multor parametri experimentali, urmărindu-se efectele multidimensionale, interacțiunile dintre parametri și influența acestora asupra răspunsurilor analitice selectate, cu un număr relativ redus de experimente. Aplicarea DoE în dezvoltarea metodelor analitice este un element esențial în contextul metodologiei AQbD, tot mai des aplicată în dezvoltarea metodelor analitice, permițând dezvoltarea acestora prin aplicarea metodelor științifice și evaluarea riscurilor.

Primul studiu a avut ca obiectiv determinarea purității chirale a SLD prin CE. Experimentele preliminare, constând într-un screening complex de ciclodextrine (CD), au condus la selectarea



CM- β -CD ca selector chiral optim și la stabilirea condițiilor inițiale pentru etapa de screening. A fost aplicat un design factorial complet (FFD) pe două niveluri pentru a identifica parametrii critici ai procesului; optimizarea finală a metodei a fost realizată utilizând un design compus central (CCD), identificându-se următoarele condiții analitice optime: tampon fosfat 100 mM, pH 2,9, 40 mg/mL CM- β -CD, temperatura 17°C, voltaj 28 kV. Metoda optimizată a permis detectarea impurității chirale la concentrații de 0,02% S-SLD. Robustețea metodei a fost evaluată utilizând un design Plackett-Burman (PBD), pH-ul dovedindu-se a fi un parametru critic ce necesită atenție deosebită la prepararea soluției de electrolit. Metoda astfel dezvoltată a fost validată și aplicată cu succes la analiza unei formulări farmaceutice.

Al doilea studiu descrie dezvoltarea unei metode de CE pentru determinarea purității chirale și a impurităților chimic înrudite ale TAM. În acest scop, a fost selectat un sistem dual de CD, compus din două CD derivatizate anionice, S- β -CD și CM- α -CD, pe baza rezultatelor experimentelor preliminare. Pentru identificarea parametrilor critici ai metodei, s-a utilizat un design de screening factorial de rezoluție V+, iar pentru optimizarea finală și definirea spațiului de design al metodei au fost folosite un CCD și simulări Monte Carlo. Condițiile experimentale optimizate au fost: tampon fosfat 30 mM, pH 3,0, 40 mg/mL S- β -CD și 7 mg/mL CM- α -CD, temperatura 18°C, voltaj -23 kV. Metoda optimizată a permis determinarea impurității chirale și a altor trei impurități chimice la niveluri de până la 0,1%.

Al treilea studiu a permis determinarea profilului de impurități al OME prin CE. Experimentele preliminare au condus la selectarea modului operativ de cromatografie electrocinetică micelară (MEKC), cu un adaos de solvent organic, utilizând o fază “pseudostaționară” formată din miclele de dodecil sulfat de sodiu (SDS) și n-butanol ca modificador organic în tampon borat. Un design de screening simetric pe trei niveluri ($3^7/16$) a fost utilizat pentru a evalua efectul parametrilor critici asupra atributelor metodei. Optimizarea metodei a fost realizată prin Metodologia Suprafeței de Răspuns, folosind un design ortogonal central compus (OCCD). Hărțile de risc de eșec au permis definirea regiunii operaționale a designului metodei (MODR), din care au fost selectate următoarele condiții optimizate: tampon borat 72 mM, pH 10,0, 96 mM SDS, 1,45% v/v n-butanol, temperatura 21°C, voltaj 25 kV. Metoda astfel dezvoltată permite determinarea simultană a OME și a șapte impurități chimic înrudite, fiind aplicată cu succes la analiza formulărilor farmaceutice.

Aplicarea metodologiei AQbD și a tehnicilor DoE a permis dezvoltarea a trei noi metode de CE publicate în premieră în literatura de specialitate: pentru verificarea purității chirale a SLD, pentru verificarea purității chirale și a impurităților înrudite chimic ale TAM, și pentru analiza impurităților chimice înrudite ale OME. Aceste studii evidențiază avantajele AQbD în dezvoltarea metodelor analitice, aceasta permițând o înțelegere mai profundă a sistemelor investigate, îmbunătățind eficiența și fiabilitatea procedurilor.

Metodele dezvoltate au fost aplicate cu succes la analiza formulărilor farmaceutice și pot fi utilizate în industrie pentru asigurarea calității și siguranței produselor medicamentoase. Studiile subliniază importanța optimizării sistematice și a managementului cunoștințelor în proiectarea procedurilor analitice, aliniindu-se celor mai noi standarde farmaceutice.