

**Zastosowanie statystycznych metod planowania eksperymentów  
(DoE, Design of Experiments) w podejściu QbD (Quality by Design)  
do rozwoju technologii innowacyjnych substancji czynnych i produktów leczniczych**

**mgr Lidia Gurba-Bryśkiewicz  
Promotor: dr hab. Wioleta Maruszak**

**Streszczenie w języku polskim**

Celem pracy było wykazanie użyteczności zastosowania podejścia QbD oraz zaawansowanych narzędzi statystycznych planowania eksperymentów (DoE) w różnych obszarach rozwoju innowacyjnych substancji czynnych i produktów leczniczych: opracowaniu metod analitycznych umożliwiających monitorowanie jakości procesów i produktów na różnych etapach wytwarzania substancji i produktów leczniczych, opracowaniu i optymalizacji składu i postaci produktów leczniczych oraz opracowaniu i optymalizacji metody syntezy API na różnych etapach rozwoju technologii.

Stosując podejścia AQbD oraz DoE, obejmujące badania przesiewowe, optymalizację i walidację, opracowano metodę UHPLC ilościowego oznaczenia pełnego profilu dziewięciu zanieczyszczeń innowacyjnej substancji farmaceutycznej CPL409116 (inhibitor JAK/ROCK). Krytyczne parametry metody (CMP) zostały przetestowane w szerokim zakresie: rodzaj fazy stacjonarnej (8 różnych kolumn), pH wodnej fazy ruchomej (2,6, 3,2, 4,0, 6,8) oraz początkowa (20 – 25%) i końcowa (85 – 90%) zawartość organicznej fazy ruchomej (ACN). Krytycznymi atrybutami metody (CMA) były rozdzielczość pomiędzy pikami ( $\geq 2,0$ ) i współczynnik symetrii pików analitów (0,8 – 1,8). Na etapie badań przesiewowych oceniono wpływ różnych poziomów CMP na CMA w oparciu o pełny plan czynnikowy  $2^2$ . Odporność metody potwierdzono z zastosowaniem ułamkowego planu czynnikowego  $2^{(4-1)}$ . Wygenerowano operacyjny zakres metody (MODR). Symulację Monte-Carlo zastosowano do obliczenia prawdopodobieństwa, że parametry CMA spełniają wymagania specyfikacji. Końcowe, optymalne parametry metody były następujące: kolumna Zorbax Eclipse Plus C18, wodna faza ruchoma 10mM 1mM wodny roztwór HCOOH o pH 2,6, 20%  $\pm$  1% ACN na początku i 85%  $\pm$  1% ACN na końcu gradientu, temperatura kolumny 30°C  $\pm$  2°C. Metodę zwalidowano zgodnie z wytyczną ICH Q2(R1). Opracowana metody spełniła wymagania liniowości, precyzji i odporności. LOQ wyniosło 0,05%, a LOD 0,02% dla wszystkich zanieczyszczeń.

Skuteczne wykorzystanie koncepcji QbD i/lub DoE do optymalizacji składu i postaci produktów leczniczych przedstawiono na przykładzie rozwoju nanocząstek lipidowych do dostarczania różnych rodzajów RNA. W pracy przeglądowej zebrano badania opublikowane w ciągu ostatnich dziesięciu lat, prezentujące najnowsze trendy i wymagania regulacyjne, a także narzędzia projektowania statystycznego. W większości prac optymalizacyjnych zastosowano podejście DoE. Omówiono różne plany i metody oraz innowacyjne podejścia w ramach DoE. Oprócz tradycyjnie stosowanych testów i modelowania statystycznego (ANOVA, analiza regresji) wykorzystano także metody sztucznej inteligencji i uczenia maszynowego. Pełne QbD opisano w kilku artykułach, a kilka odnosiło się do wybranych aspektów QbD.

Kolejnym obszarem, gdzie wykazano korzyści z zastosowania podejścia DoE jest synteza API. Użycie DoE pozwoliło poznać i skutecznie zoptymalizować prowadzenie dwóch etapów procesu wytwarzania innowacyjnej substancji czynnej CPL302415 (inhibitora PI3K $\delta$ ) w reaktorach przepływowych: etapu utleniania katalizowanego Pd oraz etapu redukcji grupy estrowej. Zastosowanie różnych narzędzi podejścia DoE pozwoliło znaleźć istotne czynniki wpływające na efektywność procesu oraz określić zakres operacyjny pozwalający na uzyskanie maksymalnej wydajności produktów. Zoptymalizowane warunki utleniania katalizycznego pozwoliły na uzyskanie wydajności produktu 84%. W przypadku etapu redukcji metodą katalizyczną ponad 98%, a redukcji z użyciem LAH 83%.

Zastosowanie podejścia DoE pozwoliło także na skuteczną optymalizację parametrów syntezy innowacyjnej substancji aktywnej CPL304110 (inhibitora pan-FGFR) w reaktorze przepływowym.

Wykonanie kilkunastu eksperymentów w oparciu o plan centralny kompozycyjny (CCD)  $2^4$  z dwoma powtórzeniami w punkcie centralnym oraz metodologię powierzchni odpowiedzi, pozwoliło na skrócenie czasu prowadzenia reakcji do 2 minut w temperaturze 20°C i ekwiwalencie szczawianu dietylu i etanolanu sodu 1,23, przy zadowalającej wydajności 84%.

**Słowa kluczowe:** Analityczna Jakość przez Projekt (AQbD); Planowanie eksperymentów (DOE); Operacyjna Przestrzeń Projektowa Metody (MODR); profil zanieczyszczeń; rozwój metody analitycznej; CPL409116; inhibitor JAK/ROCK; nanocząstki lipidowe (LNP); dostarczanie RNA; CPL302415; inhibitor PI3K $\delta$ , CPL304110; inhibitor pan-FGFR, reaktor przepływowy