

Warszawa, 05 grudnia 2018

mgr inż. Marta Zezula, Zakład Analityki Badawczej, Instytut Farmaceutyczny w Warszawie

Rozprawa doktorska pod tytułem: „**Opracowanie metod określenia profilu zanieczyszczeń
wybranych prostaglandyn**”

promotor: prof. dr hab. Katarzyna Koziak,

promotor pomocniczy: dr hab. Wioleta Maruszak, prof. IF

Streszczenie

Analogi prostaglandyny PGF2 α wykorzystywane do leczenia jaskry są najnowszą i najefektywniejszą klasą leków pierwszego rzutu o udokumentowanej skuteczności i bezpieczeństwie stosowania. Prowadzone badania szacują, że w 2020 r. liczba ludzi dotkniętych ślepotą z powodu jaskry może osiągnąć wartość około 80 mln. Intensywne badania nad ulepszeniem indeksu terapeutycznego naturalnej prostaglandyny PGF2 α prowadzone w ostatnich dekadach dostarczyły syntetycznych analogów PGF2 α o większej skuteczności w leczeniu i powodujących mniejsze efekty uboczne. Prace nad nową metodą konwergentnej syntezy bimatoprostu, latanoprostu, tafluprostu, trawoprostu i ich analogów, z zastosowaniem jako wyjściowego półproduktu (5Z)-(+)-fenylosulfonu prostaglandynowego prowadzono również w Instytucie Farmaceutycznym w Warszawie.

Celem niniejszej pracy były badania ukierunkowane na stworzenie nowych procedur analitycznych z zastosowaniem chromatografii cieczowej z detekcją UV-Vis do kontroli konwergentnej syntezy analogów prostaglandyny PGF2 α opracowanej w Instytucie Farmaceutycznym w Warszawie. Prace doświadczalne obejmowały opracowanie układów chromatograficznych do oznaczania substancji aktywnych - bimatoprostu, trawoprostu, tafluprostu oraz nowego analogu trawoprostu i analogu bimatoprostu oraz ich zanieczyszczeń technologicznych, degradacyjnych i metabolitów. Istotnym zagadnieniem była możliwość wykorzystania nowych metod do oznaczania i identyfikacji zanieczyszczeń oraz oznaczania substancji aktywnej i substancji konserwującej w produkcie leczniczym. Kluczowa była również weryfikacja wiarygodności nowych metod chromatograficznych zgodnie z międzynarodowymi wytycznymi Farmakopei, Międzynarodowej Konferencji ds. Harmonizacji (ICH) i Europejskiej Agencji Leków (EMA) poprzez sprawdzenie selektywności, liniowości, dokładność, precyzji i stabilności analitów w roztworach oraz wyznaczenie granic oznaczalności i wykrywalności.

W ramach prezentowanej rozprawy doktorskiej opracowano nowe procedury analityczne do oznaczania wybranych analogów prostaglandyny PGF2 α wraz z ich zanieczyszczeniami. Opracowane metody wykorzystują techniki wysokosprawnej chromatografii cieczowej w połączeniu z:

- 1) detektorem spektrofotometrycznym z matrycą diodową;

Metoda I - oznaczania czystości chemicznej i zawartości fenylosulfonu prostaglandynowego;

Metoda II – kontrola międzyoperacyjna etapu 1 syntezy bimatoprostu;

Metoda III - kontrola międzyoperacyjna etapu 2 syntezy bimatoprostu, oznaczania czystości chemicznej i zawartości bimatoprostu w substancji aktywnej i produkcie leczniczym oraz zawartości środka konserwującego w produkcie leczniczym;

Metoda IV - oznaczania czystości chemicznej i zawartości trawoprostu w substancji aktywnej oraz oznaczanie czystości chemicznej analogu bimatoprostu;

Metoda V - kontrola międzyoperacyjna syntezy trawoprostu;

Metoda VI - oznaczania czystości chemicznej tafluprostu;

Metoda VII - oznaczania czystości chemicznej analogu trawoprostu

2) ze spektrometrem mas (identyfikacja zanieczyszczeń surowca oraz bimatoprostu i trawoprostu).

Metoda I jest nową, uniwersalną metodą, która może być stosowana do oznaczania czystości chemicznej i zawartości kluczowego półproduktu – fenylosulfonu prostaglandynowego stosowanego w konwergentnej syntezie analogów prostaglandyny PGF_{2α} opracowanej w Instytucie Farmaceutycznym. Zastosowanie tej procedury w połączeniu ze spektrometrem mas pozwoliło na określenie głównych zanieczyszczeń technologicznych fenylosulfonu prostaglandynowego oraz potwierdzenie zależności powstawania zanieczyszczenia „*trans*” w substancjach aktywnych.

Metoda III wykorzystuje technikę UHPLC zapewniając dobre rozdzielanie dziesięciu potencjalnych zanieczyszczeń bimatoprostu i może być jednocześnie zastosowana do oznaczania czystości chemicznej i zawartości zarówno substancji aktywnej, jak i produktu leczniczego. Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono również, że Metoda III może być wykorzystywana przy oznaczaniu środka konserwującego BAC w produkcie leczniczym.

Metoda IV jest szybsza i tańsza w porównaniu do metody oznaczania czystości i zawartości trawoprostu opisanej w monografii Farmakopei Amerykańskiej. Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że metoda jest selektywna (pozwala na jednoczesne oznaczenie trawoprostu oraz jego dziesięciu zanieczyszczeń), czuła, dokładna i precyzyjna i może być dedykowana do analiz rutynowych, jak również do analiz prowadzonych w trakcie badań stabilności trawoprostu. Wszystkie opracowane i opisane w rozprawie doktorskiej metody chromatograficzne do kontroli syntezy analogów prostaglandyny PGF_{2α} oraz oznaczania czystości chemicznej tafluprostu, analogu bimatoprostu i analogu trawoprostu są selektywne i mogą być zastosowane do kontroli międzyoperacyjnej oraz do rutynowych analiz.