

REZUMAT

Electroforeza capilară (EC) este o metodă de analiză oficială în Farmacopeea Europeană ediția a 9-a (EurPh 9), în care separarea are loc în interiorul unui capilar subțire de silice umplut cu o soluție de electroliți, putând fi utilizată atât pentru separarea speciilor ionizate cât a celor neionizate când se introduc în soluția de electroliți aditivi, sau se utilizează doar deplasarea electroosmotică. Dintre tehnicile de EC cele mai frecvent utilizate în analiza substanțelor medicamentoase, sunt **electroforeza capilară zonală (ECZ)** și **electroforeza capilară micelară (ECM)**.

Avantaje utilizării EC în analiza substanțelor medicamentoase sunt legate de dezvoltarea rapidă a metodei analitice, automatizarea completă a ciclului de analiză, costul relativ scăzut al consumabilelor, consumul scăzut de reactivi și analiți și posibilității utilizării a diferite sisteme de detectare.

La ora actuală în analiza substanțelor farmaceutice, EC este considerată a fi o alternativă viabilă și o metodă complementară pentru mult mai utilizatele tehnici de cromatografie de lichide de înaltă performanță (HPLC).

Teza de abilitare prezintă aspecte legate de utilizarea EC în analiza unor substanțe de interes farmaceutic, și este structurată în trei capitole distincte pe baza direcțiilor de cercetare abordate:

- 1. Aplicații ale EC în analiza chirală a substanțelor medicamentoase;**
- 2. Aplicații ale EC în analiza substanțelor medicamentoase din combinații fixe;**
- 3. Aplicații ale EC în analiza substanțelor medicamentoase înrudite chimic.**

EC reprezintă o metodă valoroasă în analiza chirală a substanțelor farmaceutice cu avantaje legate de rezoluția chirală ridicată, timpul relativ scurt de analiză, dezvoltarea rapidă a metodei analitice, consumul scăzut de analiți, reactivi și selectori chirali și mai ales de flexibilitatea ridicată în alegerea și schimbarea selectorului chiral. De asemenea în EC se utilizează în general o metodă directă de analiză, prin simpla dizolvare a selectorului chiral în soluția de electrolit. Dintre multitudinea de selectori chirali utilizabili în EC, de departe cei mai utilizați și eficienți, sunt ciclodextrinele (CD), oligozaharide ciclice, având o suprafață externă hidrofilă și o cavitate internă hidrofobă în care pot încorpora diverși analiți prin interacțiuni hidrofobe.

Analiza chirală prin EC a fost aplicată pentru a realiza rezoluția chirală a unor compuși din diverse clase farmaceutice cu proprietăți enantioselective demonstrate: β -blocante (carvedilol, sotalol), antihistaminice H1 (bromfeniramina, clorfeniramina, cetirizina, prometazina), inhibitori ai pompei de protoni (omeprazol, pantoprazol). S-a realizat un studiu comparativ al acestor compuși, pentru a înțelege mecanismele complexe analit-selector chiral responsabile pentru discriminarea enantiomerică. De asemenea am realizat separarea chirală în cazul unor inhibitori ai recaptării serotoninei (fluoxetina), diuretice non-tiazidice (indapamida), amfetamine anorexigene (sibutramina), inhibitoare ale canalelor de

calciu (amlodipina) și antipsihotice (asenapina).

Ca și selector chirali am utilizat CD, realizând un screening complex al CD naturale și derivatizate, neutre și ionizate, pentru a stabili selectorul chiral optim fiecărei separări chirale. Optimizarea condițiilor analitice s-a realizat într-o manieră univariată (“one factor at time”) sau în unele cazuri prin design experimental. Am evaluat performanțele analitice ale metodelor optimizate, verificându-se repetabilitatea, precizia, liniaritatea, acuratețea, robustețea și determinând LOD și LOQ ale enantiomerilor. Metodele dezvoltate au fost aplicate pentru determinarea enantiomerilor substanțelor studiate din forme farmaceutice tipizate.

Separarea chirală a substanțelor medicamentoase optic active a devenit o necesitate atât în industria farmaceutică cât și în bioanalitică; de aceea dezvoltarea de tehnici noi de separare chirală este și va fi în continuare o temă importantă de cercetare, metodele dezvoltate putând fi utilizate cu succes în analiza chirală primară a substanțelor selectate.

Tendențele moderne în terapia modernă implică utilizarea din ce în ce mai des a combinațiilor fixe, acestea aducând avantaje potențiale privind creșterea compliancei pacientului la tratamentul medicamentos, îmbunătățirea efectului terapeutic și diminuarea unor efecte adverse individuale.

Analiza prin EC a fost aplicată pentru determinarea analiților din combinații utilizate în medicația cardio-vasculară: blocant al canalelor de calciu (amlodipina) + antagonist al receptorilor de angiotensinei II (telmisartan); antagonist al receptorilor de angiotensinei II (telmisartan) + diuretic tiazidic (hidroclorotiazida); blocant al canalelor de calciu (amlodipina) + inhibitor al HMG-CoA (atorvastatina); inhibitor al HMG-CoA (atorvastatina) + inhibitor al absorbției colesterolului (ezetimib). De asemenea am realizat separarea unor antibiotice β -lactamice (amoxicilina + acid clavulanic), antituberculoase (isoniazida + rifampicina) și analgezice (paracetamol + tramadol).

În cazul combinațiilor fixe, separarea vizează în general două substanțe având comportamente electroforetic complet diferit, provocarea fiind reprezentată de stabilirea unor condiții electroforetice în care ambele substanțe să ionizeze respectiv să prezinte mobilități electroforetice diferite. Metodele dezvoltate au fost optimizate și validate fiind aplicate la analiza substanțelor studiate din forme farmaceutice de tip combinație fixă.

Utilitatea dezvoltării unor metode de determinare simultană a unor compuși făcând parte din aceeași clasă terapeutică este discutabilă, deoarece cazurile în care se administrează concomitent două sau mai multe substanțe înrudite chimic sunt rare. Dar această abordare câștigă din ce în ce mai mult teren în ultimul timp, avantajul dezvoltării unor metode generice aplicabile unui număr mare de compuși, fără a fi nevoie de a dezvolta metode individuale pentru fiecare compus în parte fiind unul evident.

Analiza EC a fost aplicată pentru determinarea simultană a antibioticelor β -lactamice (peniciline, cefalosporine), fluorochinolonele, antihistaminicelor H1 și hipoliemiantelor (statine, fibrati). La acest tip

de separări, provocarea o reprezintă faptul că substanțele ce trebuie separate au proprietăți fizico-chimice extrem de asemănătoare și prin urmare mobilități electroforetice similare. În multe dintre cazurile abordate analizei nu au putut fi separați prin ECZ datorită comportamentului electroforetic asemănător, dar ECM și-a dovedit utilitatea în separarea substanțelor înrudite chimic. Metodele dezvoltate au fost optimizate și validate, fiind aplicate la determinarea unor substanțe din forme farmaceutice tipizate.

Rezultatele prezentate în cadrul acestei teze de abilitare demonstrează aplicabilitatea și potențialul metodelor de EC în analiza modernă a substanțelor de interes farmaceutic.