

UNIVERSITATEA „IULIU HAȚIEGANU” CLUJ-NAPOCA
FACULTATEA DE FARMACIE

REZUMAT AL TEZEI DE DOCTORAT

Pentru obținerea titlului de **Doctor în științe medicale**

domeniul – **Farmacie**

**Studii analitice și de stabilitate în clasa stimulentelelor
cardiace – Agenți dopaminergici**

Conducător științific
Prof. univ. dr. Marius Traian Bojiță

Doctorand
Adrian Cosmin Roșca

Cluj-Napoca
2009

CUPRINS

PARTEA I. STADIUL CUNOAȘTERII . **Error! Bookmark not defined.**

1.1 Caracterizarea fizico-chimică a dopaminei și dobutaminei **Error! Bookmark not defined.**

1.1.1 Caracterizarea fizico-chimică clorhidratului de dopamină **Error! Bookmark not defined.**

1.1.2 Caracterizarea fizico-chimică a dobutaminei **Error! Bookmark not defined.**

1.2 Sinteza clorhidratului de dobutamină. **Error! Bookmark not defined.**

1.2.1 Sinteza clorhidratului de dobutamină **Error! Bookmark not defined.**

1.3 Caracterizarea biologică a dopaminei și dobutaminei **Error! Bookmark not defined.**

1.3.1 Caracterizarea biologică a dopaminei **Error! Bookmark not defined.**

1.3.2 Caracterizarea biologică a dobutaminei **Error! Bookmark not defined.**

1.3.3 Studii farmacodinamice..... **Error! Bookmark not defined.**

1.3.3 Farmacocinetică..... **Error! Bookmark not defined.**

1.3.4 Acțiune terapeutică și forme farmaceutice **Error! Bookmark not defined.**

1.3.5 Reacții adverse..... **Error! Bookmark not defined.**

1.3.6 Contraindicații **Error! Bookmark not defined.**

1.3.7 Precauții **Error! Bookmark not defined.**

1.3.8 Interacțiuni medicamentoase **Error! Bookmark not defined.**

1.3.9. Forme farmaceutice: **Error! Bookmark not defined.**

1.4 Metode analitice în studii de stabilitate/compatibilitate a medicamentelor **Error! Bookmark not defined.**

1.4.1 Caracterizarea stării de agregare solide **Error! Bookmark not defined.**

1.4.2. Metode analitice cantitative **Error! Bookmark not defined.**

1.4.2.1. Cromatografia de lichide de înaltă performanță (HPLC)**Error! Bookmark not defined.**

1.4.2.1.1. Optimizarea factorilor care influențează separările HPLC**Error!**

Bookmark not defined.

1.4.2.1.2. Aplicarea metodelor cantitative HPLC în analiza farmaceutică**Error!**

Bookmark not defined.

1.4.2.2. Cromatografia în fază gazoasă (GC)**Error! Bookmark not defined.**

1.4.3 Validarea metodelor analitice..... **Error! Bookmark not defined.**

1.4.2.4.1. Protocolul de validare..... **Error! Bookmark not defined.**

1.4.2.4.2. Raportul de validare **Error! Bookmark not defined.**

1.5. Concluzii..... **Error! Bookmark not defined.**

PARTEA II. CONTRIBUȚII PERSONALE**Error! Bookmark not defined.**

2.1 Ipoteza cercetării **Error! Bookmark not defined.**

2.2. Elucidarea structurii **Error! Bookmark not defined.**

2.2.1. Spectrul IR (în KBr) **Error! Bookmark not defined.**

2.2.2 Spectrul UV **Error! Bookmark not defined.**

2.2.3 Spectrul RMN..... **Error! Bookmark not defined.**

2.2.4 Concluzii..... **Error! Bookmark not defined.**

2.3. Controlul de calitate al substanțelor medicamentoase**Error! Bookmark not defined.**

2.3.1. Controlul de calitate al dopaminei . **Error! Bookmark not defined.**

2.3.2. Controlul de calitate al dobutaminei**Error! Bookmark not defined.**

2.4 Analiza solvenților organici reziduali.**Error! Bookmark not defined.**

2.5 Analiza și validarea metodei CSS pentru substanțe înrudite.**Error! Bookmark not defined.**

2.6 Validarea metodei de determinare a solvenților reziduali.**Error! Bookmark not defined.**

2.7 Dozare cromatografică a clorhidrat de dopamină	Error! Bookmark not defined.
2.8 Impurități înrudite chimic.....	Error! Bookmark not defined.
2.9 Determinare a substanțelor înrudite chimic din produsul clorhidrat de dopamină soluție perfuzabilă.....	Error! Bookmark not defined.
2.10 Controlul produsului finit dobutamină fiole	Error! Bookmark not defined.
2.11 Studii de stabilitate	Error! Bookmark not defined.
2.11.1 Studii de stabilitate ale dopaminei în forma farmaceutică	Error! Bookmark not defined.
2.11.2 Studii de stabilitate ale dobutaminei în forma farmaceutică..	Error!
CONCLUZII GENERALE	10
Bibliografie.....	Error! Bookmark not defined.

INTRODUCERE

Insuficiența cardiacă și hipertensiunea arterială fac parte din cauzele care mențin bolile cardiovasculare pe primul loc în privința morbidității și mortalității.

Medicația simpatomimetică este deosebit de valoroasă în tratamentul insuficienței cardiace acute în administrare injectabilă intravenoasă.

Unele dintre principiile active foarte cunoscute din clasa simpatomimeticelor sunt dopamina și dobutamina. Acestea au o largă utilizare în tratamentul de urgență al insuficienței cardiace.

Dopamina are efect inotrop pozitiv datorat în principal stimulării receptorilor β_1 adrenergici cu stimularea consecutivă a adenilat ciclazei și creșterea cantității de AMPc.[

În atenția cercetărilor actuale privind optimizarea calității medicamentelor se întâlnesc obiective precum relații structură chimică – proprietăți biologice,

investigarea stării solide a substanței active, implicarea structurii cristaline asupra biodisponibilității medicamentelor, evaluarea purității chimice și optice.

Evidențierea interacțiunilor între substanțe medicamentoase și între substanțe medicamentoase și substanțe auxiliare constituie o problemă fundamentală a cercetării farmaceutice, care se realizează astăzi prin studii aprofundate cu ajutorul unor metode fizico – chimice de înaltă performanță în vederea optimizării formulelor farmaceutice sub aspectul disponibilității farmaceutice și biodisponibilității a activității terapeutice.

Ipoteza cercetării

Numărul mare al medicamentelor utilizate în urgențele cardiovasculare și diversitatea chimică a compusilor cu utilizați în acest scop asigură un spațiu larg pentru noile cercetări, atât în domeniul farmacologic, tehnologic, cât și în domeniul controlului analitic al calității. Studiul acestor produse ridică unele dificultăți în ceea ce privește determinarea lor calitativă și cantitativă.

Industria farmaceutică este una dintre cele mai strict reglementate ramuri industriale, aceste reglementări referindu-se și la activitatea laboratoarelor analitice de dezvoltare și control. Astfel, se acordă o atenție deosebită reconsiderării și optimizării metodologiilor analitice în concordanță cu progresele tehnologice privind aparatura și automatizarea operațiunilor. Metodele folosite trebuie să ofere informații precise, să fie simple și cât mai rapide, acest lucru fiind asigurat prin validarea procedurilor analitice utilizate.

În zilele noastre, majoritatea laboratoarelor de control se confruntă cu lipsa de timp, fiind necesară o mare cantitate de date analitice pentru înregistrarea unui produs, date care trebuie să fie disponibile într-un timp cât mai scurt pentru ca produsul să ajungă pe piață în timp util. Generarea datelor necesită resurse economice și umane considerabile. Din acest motiv, un alt aspect în alegerea metodelor analitice folosite în cadrul laboratoarelor de control este ca aceste metode să fie cât mai simple, cât mai scurte și cât mai economice.

Obiectivul lucrării este elaborarea și validarea unor metode analitice performante sub aspectul sensibilității și specificității, ținând cont de proprietățile fizico-chimice ale celor două substanțe și am optat pentru metode cromatografice (HPLC) și spectrale (în UV), metode care au făcut posibilă analiza acestor substanțe active sub aspectul identificării, separării, dozării, determinării stabilității fizico-chimice.

De asemenea pentru analiza solvenților reziduali din materiile prime care au stat la baza preparării formelor farmaceutice cu dobutamină și dopamină și a solvenților reziduali din formele farmaceutice, am adoptat o metodă gaz cromatografică cu detector de ionizare în flacără și head-space.

De asemenea am utilizat metode moderne de elucidare a structurii compușilor studiați.

Elucidarea structurii

Elucidarea structurii unei substanțe medicamentoase este un pas obligatoriu în identificarea sa. Am efectuat determinări spectrale în infraroșu și ultraviolet

pentru dobamina si dobutamina. De asemeni am efectuat determinari RMN pentru ambele substante.

Controlul de calitate al substanțelor medicamentoase

Calitatea unei substanțe farmaceutice trebuie sa corespunda unei farmacopei in vigoare. Substanțele active dopamina si dobutamina sunt descrise în Farmacopeea Europeană și cea Americană.

Analiza solvenților organici reziduali.

Pentru determinarea solvenților reziduali, respectiv al etanolului (solvent care se utilizeaza în sinteza ambelor substanțe studiate) am abordat o metodă gaz cromatografică în următoarele condiții:

Coloană capilară CHROMOPACK CP +, SIL-19-CB sau echivalent (7 % cianopropil, 7 % fenil, 85 % metil, 1 % vinil polisiloxane)

Lungimea coloanei 25 m

Diametrul coloanei 0,32 mm

Grosimea filmului 1,2 μm

Temperatura coloanei = 40°C izoterm timp de 6 minute

40°C \rightarrow 220°C cu 10°C/min

Temperatura injectorului 180°C.

Temperatura detectorului 220°C

Carrier – heliu la P= 40 Kpa

Baie termostată – temperatura 90°C, timp de 30 min

Volumul de injectare – 1ml fază de vapori

Timp cromatografic – 15 min

Mod de lucru

Soluția de referință.

Se transferă 127 μ l alcool absolut într-un balon cotat și se dizolvă într-un litru de apă. Se transferă 5 ml din această soluție în 5 fiole de 10 ml și se sigilează.

Soluția blanc.

Se pun 5 ml de apă într-o fiolă de 10 ml și se sigilează.

Soluția probei.

Se dizolva 1 g de probă, exact cântărită în 5 ml apa într-o fiolă de 10ml și se sigilează.

Se pun fiolele în instrumentul băii termostate și se obțin cromatogramele.

Evaluări. Rezultatele obținute se regăsesc în tabel.

Tr, LOD și LOQ pentru etanol

Solvent	Timp de retenție	Limite de detecție	Limită de cuantificare
Etanol	\approx 3,88 minute	3ppm	9ppm

Calcule:

$$\text{Etanol (ppm)} = (A_s / A_{STD}) \times 500 \times (1000 / W)$$

Unde: A_s = răspunsul mediu al etanolului din probă

A_{STD} = răspunsul mediu al etanolului în soluția de referință

W = masa probei (în mg)

Validarea metodei de determinare a solvenților reziduali.

Farmacopeia europeană (EP), americană (USP) și japoneză (JP) includ gaz cromatografia cu head-space ca o metodă performantă de determinare a solvenților reziduali, atât din substanțele farmaceutice active, cât și din formele farmaceutice. Limitele admise pentru solvenții reziduali, în acord cu gradul de toxicitate al fiecăruia, variază de la câteva ppm la mii de ppm .

Un solvent rezidual frecvent întâlnit în practica farmaceutică este etanolul. Acesta face parte din clasa 3 după ICH, solvent cu potențial toxic scăzut. Etanolul este urmărit atât ca solvent rezidual din substanțele active (provenind din etapele de purificare ale acestora) cât și din formele farmaceutice (provenit din procesul tehnologic de preparare a formei farmaceutice respective).

Dopamina este un important agent simpatomimetic de la nivelul sistemului nervos central, cu efecte directe și indirecte. Preparatele farmaceutice care includ această substanță sunt binecunoscute de mulți ani. Un solvent frecvent utilizat în purificarea clorhidratului de dopamină este etanolul.

În această lucrare se descrie validarea unei metode analitice GC-HS utilizată pentru dozarea etanolului din clorhidratul de dopamină.

Dozare cromatografică a clorhidratului de dopamină

Dopamina este un important agent simpatomimetic de la nivelul sistemului nervos central, cu efecte directe și indirecte, utilizat frecvent în șoc cardiogen, traumatic, hipovolemic, toxic și septic, în special în cazurile în care pacienții prezintă oligurie și rezistență periferică normală sau scăzută. De asemenea, poate fi utilizată în hipotensiune arterială marcantă, sindrom de debit cardiac scăzut.

Preparatele farmaceutice care includ această substanță sunt binecunoscute de mulți ani. Metodele de dozare ale clorhidratului de dopamină din forme farmaceutice includ metode titrimetrice, spectrofotometrice ,cromatografice și voltametrice

Preparatele injectabile cu clorhidrat de dopamină existente pe piața farmaceutică românească conțin concentrație de 5 mg/ml.

În această lucrare se descrie validarea unei metode analitice HPLC utilizată pentru dozarea clorhidratului de dopamină din preparate injectabile.

Studiile de stabilitate

Studiile de stabilitate în condiții normale efectuate pe loturi diferite de produs finit ce conține clorhidrat de dopamină și clorhidrat de dobutamină s-au desfășurat conform ghidurilor ICH în vigoare.

Rezultatele au arătat o bună stabilitate a substanțelor medicamentoase studiate, din forme farmaceutice injectabile. Produsele finite au prezentat o bună stabilitate pe toată perioada studiată .

CONCLUZII GENERALE

Industria farmaceutică este una dintre cele mai strict reglementate ramuri industriale, aceste reglementări referindu-se și la activitatea laboratoarelor analitice de dezvoltare și control. Astfel, se acordă o atenție deosebită reconsiderării și optimizării metodologiilor analitice în concordanță cu progresele tehnologice privind aparatura și automatizarea operațiunilor. Metodele folosite trebuie să ofere informații precise, să fie simple și cât mai rapide, acest lucru fiind asigurat prin validarea procedurilor analitice utilizate.

Am elaborat și validat unele metode analitice performante sub aspectul sensibilității și specificității, ținând cont de proprietățile fizico-chimice ale celor două substanțe.

Am optat pentru metode cromatografice (HPLC) și spectrale (în UV), metode care au făcut posibilă analiza acestor substanțe active sub aspectul identificării, separării, dozării, determinării stabilității fizico-chimice.

De asemenea pentru analiza solvenților reziduali din materiile prime care au stat la baza preparării formelor farmaceutice cu dobutamină și dopamină și a solvenților reziduali din formele farmaceutice, am adoptat o metodă gaz cromatografică cu detector de ionizare în flacără și head-space. Metoda abordată a fost validată.

De asemenea am utilizat metode moderne de elucidare a structurii compușilor studiați.

Am urmărit stabilitatea substanțelor medicamentoase și a formelor farmaceutice injectabile care le conțin, conform ghidurilor internaționale în vigoare. Rezultatele au arătat o bună stabilitate a acestora.

Curriculum vitae

Informatii personale

Nume/Prenume	Rosca, Adrian, Cosmin
Adresa	9, str. Dunarii, 900459, Constanta, Romania
Telefon	Mobil +40 744681338
E-mail	cosmin_rosca13@yahoo.com
Cetatenia	Română
Data nasterii	14-09-1978
Sex	Masculin

Locul de munca vizat / Aria ocupationala	Asistent universitar, Analiza medicamentului, Catedra nr.2, Facultatea de Farmacie, Universitatea „Ovidius” Constanța
---	--

Experienta profesionala

Perioada	2008-prezent
Functia sau postul ocupat	Asistent universitar
Principalele activitati si responsabilitati	Activitate didactica-disciplina Analiza medicamentului. Lucrari practice Analiza medicamentului, Facultatea de Farmacie an V. Lucrari practice Notiuni de analiza medicamentului, Colegiul de Asistenta de Farmacie an III. Lucrari practice Biofarmacie, Facultatea de Farmacie an III. Lucrari practice Notiuni de biofarmacie, Colegiul de Asistenta de Farmacie an III.
Numele si adresa angajatorului	Universitatea „Ovidius” Constanta, Facultatea de Farmacie, B-dul Mamaia nr.124, 900527, Constanta, Romania Website: http://www.univ-ovidius.ro/
Tipul activitatii sau sectorul de activitate	Activitate didactica-Specializare: Analiza medicamentului Sectorul de activitate: Universitar/Invatamant medical
Perioada	2006-2008
Functia sau postul ocupat	Preparator universitar
Principalele activitati si	Activitate didactica- disciplina Biologie vegetala si animala Lucrari practice Biologie vegetala si animala, Facultatea de Farmacie an I

responsabilitati	Lucrari practice Biologie vegetala si animala, Colegiul de Asistenta de Farmacie an I Lucrari practice Biologie celulara, Facultatea de Farmacie an II.
Numele si adresa angajatorului	Universitatea „Ovidius” Constanta, Facultatea de Farmacie, B-dul Mamaia nr.124, 900527, Constanta, Romania
Tipul activitatii sau sectorul de activitate	Activitate didactica-Specializare: Biologie vegetala si animala Sectorul de activitate: Universitar/Invatamant medical
Perioda	2002-2006
Functia sau postul ocupat	Farmacist rezident
Principalele activitati si responsabilitati	Cursuri si stagii practice. Indeplinirea indatoririlor de farmacist rezident
Numele si adresa angajatorului	Spitalul Clinic de Urgenta Floreasca, Bucuresti
Tipul activitatii sau sectorul de activitate	Activitate -Specializare: Laborator farmaceutic Sectorul de activitate: Medical

Educatie si formare

Perioda	2003-prezent Doctorand
Calificarea / diploma obtinuta	
Domenii principale studiate / competente dobindite	Analiza medicamentului
Numele si tipul institutiei de invatamint / furnizorului de formare	UMF „Iuliu Hatieganu” Cluj Napoca
Perioda	2002-2005
Calificarea / diploma obtinuta	Diploma de Farmacist specialist, UMF „Carol Davila” Bucuresti.
Domenii principale studiate / competente dobindite	Laborator farmaceutic.
Nivelul de clasificare a formei de instruire	Specializare prin rezidentiat.
	2002-2003
Perioda	
Calificarea / diploma obtinuta	Diplomă de master.
Domenii principale studiate / competente dobindite	Analiza si studiul medicamentului.

Numele si tipul institutiei de invatamint / furnizorului de formare

UMF „Iuliu Hatieganu” Cluj Napoca

Perioada

1997-2002

Calificarea/ diploma obtinuta

Diploma de farmacist.

Domenii principale studiate/ competente studiate

Farmacie

Numele si tipul institutiei de invatamint/ furnizorul de formare

UMF „Carol Davila” Bucuresti, Facultatea de Farmacie

Aptitudini si competente personale

Limba materna

Română

Limbi straine cunoscute

Autoevaluare

Nivel european ()*

Engleza

Franceza

Comprehensiune		Vorbit		Scris
Abilitati de ascultare	Abilitati de citire	Interactiune	Exprimare	
C2	C2	C2	C2	C2
B1	B2	B1	B1	B1

() Cadrului european de referință pentru limbi*

Competente si abilitati sociale

Spirit de echipa, seriozitate, perseverenta, adaptabilitate, abilitati de comunicare.

Competente si cunostinte de utilizare a calculatorului

Cunostiinte operare Microsoft Office (Word, Excel, Powerpoint), Windows XP, Corel , Explorer,Firefox.

Permis de conducere

Categoria B

Informatii suplimentare

Serviciul RUNOS Universitatea „Ovidius” Constanta

Anexe

Asist. univ. drd. Rosca Adrian Cosmin

„IULIU HAȚIEGANU” UNIVERSITY CLUJ-NAPOCA
FACULTY OF PHARMACY

ABSTRACT OF THE PHD THESIS

For the award of the PhD title in Medical Sciences

Domain – Pharmacy

**Analytical and Stability Studies within the Cardiac
Stimulants Category – Dopaminergic agents**

Scientific supervisor
University Professor Marius Traian Bojiță PhD

PhD Candidate
Adrian Cosmin Roșca

Cluj-Napoca
2009

Contents

I Part. The Level of Knowledge	4
1.1 The physico-chemical properties of dopamine and dobutamine	5
1.1.1 The physico-chemical properties of dopamine chlorhydrate.....	5
1.1.2 The physico-chemical properties of dobutamine	5
1.2 The synthesis of dobutamine chlorhydrate	6
1.1.1 The synthesis of dobutamine chlorhydrate	6
1.3 The biological properties of dopamine and dobutamine.....	7
1.3.1 The biological properties of dopamine.....	7
1.3.2 The biological properties of dobutamine	8
1.3.3 Pharmacodynamic studies	8
1.3.3 Pharmacokinetics.....	44
1.3.4 Therapeutical action and pharmaceutical forms	44
1.3.5 Adverse reactions	44
1.3.6 Contraindications.....	45
1.3.7 Precautions	45
1.3.8 Medicamentary interactions	45
1.3.9 Pharmaceutical forms	46
1.4 Analytical methods in drug stability/compatibility studies.....	46
1.4.1 The properties of the solid state	46
1.4.2 Quantitative analytical methods	47
1.4.2.1 High performance liquid chromatography (HPLC)	48
1.4.2.1.1 Optimization of the factors which influence the HPLC separations.....	49

1.4.2.1.2 The application of quantitative HPLC methods in pharmaceutical analysis.....	50
1.4.2.2 Gas phase chromatography (GC)	50
1.4.3 The validation of analytical methods	51
1.4.2.4.1 The validation protocol	51
1.4.2.4.2 The validation report	52
1.5 Conclusions	53
II Part. Personal contributions	54
2.1 The research hypothesis	55
2.2 Structure elucidation.....	57
2.2.1 IR spectrum (in KBr).....	58
2.2.2 UV spectrum.....	63
2.2.3 RMN spectrum	66
2.2.4 Conclusions	72
2.3 The quality control of drug substances	73
2.3.1 The quality control of dopamine	73
2.3.2 The quality control of dobutamine	80
2.4 The analysis of residual organic solvents.....	87
2.5 The analysis and validation of the CSS method for related substances	89
2.6 The validation of the determination method of residual solvents	90
2.7 Chromatographic dosage of dopamine chlorhidrate	103
2.8 Chemically related impurities	117
2.9 Determination of chemically related substances in the dopamine chlorhidrate product for perfusion solution	119
2.10 The control of dobutamine vial end product	127

2.11 Stability studies	130
2.11.1 Stability studies of dopamine in pharmaceutical form.....	130
2.11.2 Stability studies of dobutamine in pharmaceutical form	139
GENERAL CONCLUSIONS	149
Bibliography	150

INTRODUCTION

Heart failure and arterial hypertension belong to the causes that keep cardiovascular diseases in the first place regarding morbidity and mortality.

The sympathomimetic medication is indeed valuable in the treatment of acute heart failure by intravenous injection.

Some of the very known active principles from the sympathomimetic category are dopamine and dobutamine. These have a wide use in the emergency treatment of heart failure.

Dopamine has a positive inotropic effect mainly due to the β_1 adrenergic receptors stimulation, combined with the consecutive stimulation of adenylate cyclase and increase of the quantity of AMPc.[.

In the focus of present-day researches concerning drug quality optimization, objectives such as chemical structure-biological properties relations, the investigation of the solid state of active substance, the involvement of the crystalline structure in the biodisponibility of drugs, the evaluation of the optical and chemical purity, are met.

Highlighting the interactions among medicamentary substances and between medicamentary substances and auxiliary substances constitutes a fundamental problem of the pharmaceutical research, realized today in thorough studies with the help of high performance physico-chemical methods that seek the optimization of pharmaceutical formulas in regard to their availability and the biodisponibility of therapeutical activity.

The Research Hypothesis

The great number of drugs used in cardiovascular emergencies and the chemical diversity of the compounds employed for this purpose create a wide space for new researches, both in the pharmacological or technological domain and in the domain of analytical quality control. The study of these products raises many difficulties in what regards their qualitative and quantitative determination.

The pharmaceutical industry is one of the strictest regulated industrial branches, these regulations concerning also the activity of development and control analytical laboratories. Therefore, a special attention is given to the reassessment and optimization of the analytical methodologies in accordance with the technological advancement regarding the instruments and automation of operations. The methods used should provide precise information, being simple and employing the smallest amount of time, the latter being obtained through validating the analytical procedures employed.

Nowadays, most of the control laboratories are confronted with the lack of time, a great quantity of analytical data being mandatory for the registration of a product, these should be available in the shortest time possible, allowing the product to appear on the market in due time. Generating data requires notable economic and human resources. Because of this, another aspect taken into account when choosing the analytical methods to be used in control laboratories is their simplicity, short duration and inexpensive character.

The objective of the thesis consists in the elaboration and validation of some proficient analytical methods regarding their accuracy and specificity, taking into account the physicochemical properties of the two substances. We chose chromatographic methods (HPLC) and spectral methods (in UV), which made possible the analysis of these active substances concerning their identification, separation, dosage and determination of their physicochemical stability.

Also for the analysis of residual solvents from the raw substances underlying the preparation of pharmaceutical forms with dobutamine and dopamine and of the residual solvents from the pharmaceutical forms, we used a gas chromatography method with flame ionization detector and head-space.

We also used modern methods of elucidation of the studied compounds' structure.

Elucidating the Structure

Elucidating the structure of a medicamentary substance is a necessary step taken for its identification. We made IR and UV spectral determinations for dopamine and dobutamine. We also made RMN determinations for both substances.

Quality Control of Medicamentary Substances

The quality of a pharmaceutical substance must correspond to an effective pharmacopeia. Dopamine and dobutamine as active substances are described in the European and American Pharmacopeia.

The Analysis of Residual Organic Solvents

For the determination of residual solvents, that is of ethanol (a solvent used in the synthesis of both substances studied) we employed gas chromatography method under the following conditions:

Capillary column CHROMOPACK CP +, SIL-19-CB or equivalent (7% cyanopropyl, 7% phenyl, 85% methyl, 1% vinyl polysiloxane)

Length of column 25 m

Diameter of column 0,32 mm

Film thickness 1,2 μm

Column temperature = 40°C isothermal for 6 minutes

40°C \rightarrow 220°C with 10°C/minute

Injector temperature 180°C.

Detector temperature 220°C

Carrier – helium at P= 40 Kpa

Therostatic bath – temperature 90°C, for 30 minutes

Injection volume 1 ml vapor phase

Chromatographic time – 15 min

Work Method

Reference solution.

127 μl absolute alcohol is transferred into a measuring balloon and dissolved in one liter of water. 5 ml out of this solution is transferred in five 10 ml vials and sealed.

Blank solution.

5 ml of water are injected in a 10 ml vial and then sealed.

Probe solution.

1 g of probe precisely measured is dissolved in 5 ml of water, in a 10 ml vial and is then sealed.

Vials are put in the instrument of the thermostatic bath and chromatograms are obtained.

Evaluations. The achieved results are to be found in the following table.

Tr, LOD and LOQ for ethanol

Solvent	Retention time	Detection limits	Quantification limit
Ethanol	≈ 3,88 minutes	3ppm	9ppm

Calculus:

$$\text{Ethanol (ppm)} = (A_s / ASTD) \times 500 \times (1000 / W)$$

Where: A_s = medium response of probe ethanol

ASTD = medium response of the reference solution

W = weight of probe (in mg)

Validation of the Determination Method of Residual Solvents

European Pharmacopeia (EP), American Pharmacopeia (USP) and Japanese Pharmacopeia (JP) include gas chromatography with head-space as a efficient method of determining residual solvents, both in active pharmaceutical substances as in pharmaceutical forms. The limits admitted for residual solvents, consistent with their degree of toxicity, vary from several ppm to thousands of ppm.

A residual solvent frequently encountered in the pharmaceutical practice is ethanol. It belongs to the third class according to ICH, a solvent with low toxic potential. Ethanol is monitored as residual solvent both in active substances (derivate from their purification phases) and as in pharmaceutical forms (derivate from the technological process of preparation of the respective pharmaceutical form).

Dopamine is an important symphatomimetic agent at the level of the central nervous system that has direct and indirect effects. Pharmaceuticals that contain this substance are well known a lot of years ago. A solvent frequently used solvent in purifying dopamine chlorhidrate is ethanol.

In this thesis the validation of a GC-HS analytical method used for the dosage of ethanol from dopamine chlorhidrate is described.

Chromatographic Dosage of Dopamine Chlorhidrate

Dopamine is an important sympathomimetic agent at the level of the central nervous system, with direct and indirect effects, frequently used in cardiogenic, traumatic, hypovolemic, toxic and septic shock, especially in cases in which the patients present oliguria and normal or low peripheral resistance. Also, it can be used in profound arterial hypotension, low cardiac output syndrome. Pharmaceuticals that include this substance are well known a lot of years ago. Dosage methods of dopamine chlorhidrate in pharmaceutical forms include titrimetric, spectrophotometric, chromatographic and voltammetric methods.

The injectable pharmaceuticals with dopamine chlorhidrate present on the Romanian pharmaceutical market contain a 5 mg/ml concentration.

In this thesis the validation of a HPLC analytical method used for the dosage of dopamine chlorhidrate from injectable pharmaceuticals is described.

Stability Studies

Stability studies were conducted following the effective ICH guides in normal conditions on different batches of finite product which contained dopamine chlorhidrate and dobutamine chlorhidrate.

The results show a good stability of the studied medicamentary substances from injectable pharmaceutical forms. The finite products presented a good stability during the whole period of study.

GENERAL CONCLUSIONS

The pharmaceutical industry is one of the strictest regulated industrial branches, these regulations concerning also the activity of development and control analytical laboratories. Therefore, a special attention is given to the reassessment and optimization of the analytical methodologies in accordance with the technological advancement regarding the instruments and automation of operations. The methods used should provide precise information and be simple and as quick as possible, the latter being obtained through validating the analytical procedures employed.

We elaborated and validated some proficient analytical methods regarding their accuracy and specificity, taking into account the physicochemical properties of the two substances.

We chose chromatographical methods (HPLC) and spectral methods (in UV), which made possible the analysis of these active substances concerning their identification, separation, dosage and determination of their physicochemical stability.

Also for the analysis of residual solvents from the raw substances underlying the preparation of pharmaceutical forms with dobutamine and dopamine and of the residual solvents from the pharmaceutical forms, we used a gas chromatography method with flame ionization detector and head-space. The method was validated.

We also used modern methods of elucidation of the studied compounds' structure.

We studied the stability of medicamentary substances and their injectable pharmaceutical forms according to the effective international guides. The results show a good stability.

Curriculum Vitae

Personal information

First name(s) / Surname(s) **Rosca, Adrian, Cosmin**
Address(es) 9, str. Dunarii, 900459, Constanta, Romania
Telephone(s) Mobile +40 744681338
E-mail cosmin_rosca13@yahoo.com
Nationality Romanian
Date of birth 14.09.1978
Gender Male

Desired employment / Occupational field **Assistant Professor, Drug Analysis, Chair no. 2, Faculty of Pharmacy, „Ovidius” University Constanța**

Work experience

Dates	2008-present
Occupation or position held	Assistant Professor
Main activities and responsibilities	Teaching activity – Drug Analysis Practical works in Drug Analysis, Faculty of Pharmacy, 5 th year Practical works in Notions of Drug Analysis, College of Pharmacist Assistants, 3 rd year Practical works in Biopharmacy, Faculty of Pharmacy, 3 rd year Practical works in Notions of Biopharmacy, College of Pharmacist Assistants, 3 rd year
Name and address of employer	„Ovidius” University Constanta, Faculty of Pharmacy, 124 Mamaia Blvd, 900527, Constanta, Romania Website: http://www.univ-ovidius.ro/
Type of business or sector	Teaching activity – Specialization: Drug Analysis Activity sector: University/Medical domain
Dates	2006-2008
Occupation or position held	Assistant Lecturer
Main activities and responsibilities	Teaching activity – Vegetal and Animal Biology Practical works in Vegetal and Animal Biology, Faculty of Pharmacy, 1 st year Practical works in Vegetal and Animal Biology, College of Pharmacist Assistants, 1 st year Practical works in Cell Biology, Faculty of Pharmacy, 2 nd year
Name and address of employer	„Ovidius” University Constanta, Faculty of Pharmacy, 124 Mamaia Blvd, 900527, Constanta, Romania
Type of business or sector	Teaching activity – Specialization: Vegetal and Animal Biology Activity sector: University/Medical domain
Dates	2002-2006

Occupation or position held Pharmacist Intern
 Main activities and responsibilities Courses and practical residency
 Duties as Pharmacist Intern
 Name and address of employer Emergency Clinic Floreasca, Bucharest
 Type of business or sector Activity – Specialization: Pharmaceutical Laboratory
 Activity sector: Medical

Education and training

Dates **2003-present** PhD candidate
 Title of qualification awarded
 Principal subjects/occupational skills covered Drug Analysis
 Name and type of organization providing education and training „Iuliu Hatieganu” University of Medicine and Pharmacy Cluj Napoca
2002-2005
 Title of qualification awarded Pharmacist Specialist Diploma, University of Medicine and Pharmacy „Carol Davila” Bucuresti
 Principal subjects/occupational skills covered Pharmaceutics Laboratory
 Level in national or international classification Specialization through Internship
 Dates **2002-2003**
 Title of qualification awarded M.A. Diploma
 Principal subjects/occupational skills covered Drug Analysis and Study
 Name and type of organization providing education and training „Iuliu Hatieganu” University of Medicine and Pharmacy Cluj Napoca
1997-2002
 Title of qualification awarded Pharmacist Diploma
 Principal subjects/occupational skills covered Pharmacy
 Name and type of organization providing education and training University of Medicine and Pharmacy „Carol Davila” Bucuresti, Faculty of Pharmacy

Personal skills and competences

Mother tongue(s) **Romanian**

Other language(s)

Self-assessment
 European level (*)

Understanding		Speaking		Writing
Listening	Reading	Spoken interaction	Spoken production	

English		C2		C2		C2		C2		C2
French		B1		B2		B1		B1		B1

(*) *Common European Framework of Reference for Languages*

Social skills and competences Team player, seriousness, perseverance

Computer skills and competences Microsoft Office operating knowledge (Word, Excel, Powerpoint), Windows XP, Corel, Explorer, Firefox

Driving license B Category

Additional information RUNOS Service, „Ovidius” University Constanta

