

Raport Științific
privind implementarea proiectului în perioada ianuarie – decembrie 2012

Proiect: PN-II-ID-PCE-2011-3-0152
Denumire proiect: Injecție de volume mari de solvenți nemiscibili cu faza mobilă în cromatografia de lichide de înaltă presiune.
Contract număr: 310/05.10.2011
Director Proiect: Prof. Dr. Andrei Medvedovici
Perioadă acoperită de raport: 01.01.2012 – 30.12.2012

Obiectivele planificate pentru această etapă sunt următoarele:

Obiectivul 1 / Activitățile 3-6; Obiectivul 4; Obiectivul 6 / Activitatea 1; Obiectivul 7

Obiectivul 1: Studiul unor aspecte fundamentale privitoare la procesul de injecție de volume mari de probă dizolvată în solvenți nemiscibili cu faza mobilă în cromatografia de lichide.

- **activitatea 3.** efectul temperaturii asupra procesului de injecție de volume mari de probă în solvenți nemiscibili cu faza mobilă;
- **activitatea 4.** efectul debitului asupra procesului de injecție de volume mari de probă în solvenți nemiscibili cu faza mobilă;
- **activitatea 5.** evaluarea procesului de injecție de volume mari de probă în solvenți nemiscibili cu faza mobilă pentru un amestec de analiți cu caracter hidrofob diferit
- **activitatea 6.** evaluarea procesului de injecție de volume mari de probă în solvenți nemiscibili cu faza mobilă pe diverse faze staționare exploatabile în condițiile mecanismului de fază inversă.

Obiectivul 4: Identificarea unor solvenți verzi care să poată fi utilizați în etapele de preparare a probelor. Aplicarea principiului injecției de volume mari de probă în solvenți nemiscibili cu faza mobilă la soluții verzi în cromatografia de lichide.

Obiectivul 6: Identificarea acelor domenii în care injecția de volume mari de probă în solvenți nemiscibili cu faza mobilă poate fi aplicată.

- **activitatea 1.** aplicații în bioanaliză

Obiectivul 7: Diseminarea rezultatelor

Obiectivul 1 – Activitățile 3, 4, 6

S-a studiat efectul debitului și temperaturii asupra injecției de volume mari de probă dizolvată în solvenți nemiscibili cu faza mobilă pe diverse faze staționare exploatabile în mecanismul de separare în fază inversă (RP). Analitul de interes este metoprololul. Diluenții utilizați au fost (în ordinea crescătoare a log P): acetatul de butil, tetraclorura de carbon, 1-octanolul, ciclohexanolul, n-hexanolul.

Soluții probă: Pentru obținerea soluțiilor în diluenții nemiscibili cu apa, o soluție apoasă echivalentă la 1000 ppm metoprolol bază a fost adusă la pH 12 cu o soluție de NaOH 1N, după care s-a procedat la extracția lichid-lichid, faza extractantă fiind reprezentată chiar de diluentul care se studiază. Din soluția stoc (reprezentată de stratul organic) se fac apoi diluții în solvenții respectivi, în așa fel încât, indiferent de volumul injectat, cantitatea absolută de analit încărcată în coloană să fie de 1 μg.

Volume injectate: 1, 5, 10, 20, 50, 75, 100 μL.

Coloane cromatografice: a) Zorbax Eclipse XDB- C18 , 15 cm x 4,6 mm i.d. x 5 μm d.p.; b) Zorbax SB-Aq , 15 cm x 4,6 mm i.d. x 5 μm d.p.; c) Chromolith C18, 10 cm x 4,6 mm

i.d. d) Zorbax Eclipse XDB- C8 , 15 cm x 4,6 mm i.d. x 5 μ m d.p.; e) Betasil Phenyl , 15 cm x 4,6 mm i.d. x 5 μ m d.p.; f) Luna PFP , 10 cm x 4,6 mm i.d. x 3 μ m d.p.

Condiții cromatografice: Solventul A – soluție apoasă 0,2% trietilamină și 50 mM formiat de amoniu, la pH 3,5 cu acid formic; Solventul B – acetonitril; Eluție în condiții izocratice. Compoziția fazei mobile: Solvent A/Solvent B = 90/10 (v/v). Debitul studiat au fost: 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0 mL/min pentru coloanele a)-e). Pentru coloana f) debitul au fost: 0,5; 0,75; 1,0; 1,25; 1,5 mL/min. Temperaturile la care au fost termostate coloane cromatografice au fost: 15; 25; 35; 45; 55; 65 °C pentru coloanele a), b) d); 15; 25; 35; 45 °C pentru coloana c); 15; 25; 35; 45; 55 °C pentru coloanele e) și f). Studiul influenței debitelor s-a realizat întotdeauna la o temperatură de 25 °C. Studiul influenței temperaturii s-a realizat la debitul de 2 mL/min pentru coloanele a)-e), și la debitul de 1 mL/min pentru coloana f). Diluentul probei a fost eliminat din coloană folosind un gradient de tip treaptă la 95 % Solvent B, aplicat imediat după eluția picului cromatografic al metoprololului. Următoarea injecție se realizează numai după eliminarea diluentului și re-echilibrarea coloanei timp de cel puțin 5 min. Pentru a beneficia de un termen absolut de comparație, s-au realizat și injecțiile de probă dizolvate în faza mobilă (aspectul este esențial pentru evaluarea impactului asupra eficienței și simetriei picului cromatografic).

Detecție: DAD, lungime de undă analitică 280 nm.

Informații primare: În fiecare cromatogramă, s-au înregistrat: timpul de retenție absolut asociat picului metoprololului; eficiența cromatografică asociată picului metoprololului; factorul de asimetrie asociat picului de metoprolol (simetrie calculată de integratorul sistemului, factor de asimetrie la 10% din înălțimea picului, USP tailing factor). Pentru fiecare dintre condițiile experimentale s-a determinat timpul mort al coloanei, prin monitorizarea timpului de retenție absolut al azotatului de potasiu.

Rezultate și discuții: După cum se poate observa, experimentul a presupus înregistrarea a 2100 cromatograme. În acest context, cantitatea de informație este foarte mare, motiv pentru care nu vor fi expuse pe scurt decât anumite concluzii preliminare.

De la bun început trebuie făcută precizarea că, indiferent de condițiile de debit sau temperatură în care s-a lucrat, și indiferent de natura diluentului, retenția metoprololului scade liniar cu volumul injectat. Coeficienții de corelație pentru regresii liniare ilustrând reducerea retenției cu volumul de injecție sunt mai mari de 0,98 indiferent de natura diluentului utilizat. Fenomenologic vorbind, intersecția ecuației regresiei liniare cu abscisa ($y=0$) reprezintă acel volum de diluent care a saturat întreaga cantitate de fază staționară din coloana cromatografică. Intersecția ecuației regresiei liniare cu ordonata ($x=0$) reprezintă retenția analitului în condițiile ipotetice a lipsei unui diluent de injecție. O pantă mare a dreptei de regresie (în valoare absolută) semnifică o distribuție a unității de volum de diluent pe o suprafață mai mare de fază staționară, ceea ce indică o adsorbție redusă a acestuia.

În Tabelul 1 sunt prezentate pantele regresii liniare ilustrând relația funcțională $k = f(V_{inj})$ în cazul utilizării de debite crescătoare pentru cele 6 coloane luate în discuție. Urmărind variația acestor valori pe o anumită fază staționară la mai multe debite, se poate destul de ușor observa că aceasta nu este semnificativă (abaterea relativă standard asociată populației de valori se situează sub 10%). Se poate deci concluziona că debitul fazei mobile nu are un efect semnificativ la injecția de volume mari de probă în diluenți nemiscibili cu faza mobilă. Această observație este, la prima vedere, contradictorie, deoarece un debit mai mare produce o dispersie mai mare a frontului de diluent (unitatea de volum de diluent ocupă o suprafață mai mare de fază staționară, deci panta regresiei crește în valoare absolută). Experimentul indică însă că indiferent de natura diluentului, procesul de adsorbție a acestuia în faza staționară este independent de debit, ceea ce înseamnă că cinetica procesului de adsorbție este semnificativ mai mare decât cea a procesului de dispersie a frontului, datorat

creșterii debitului.

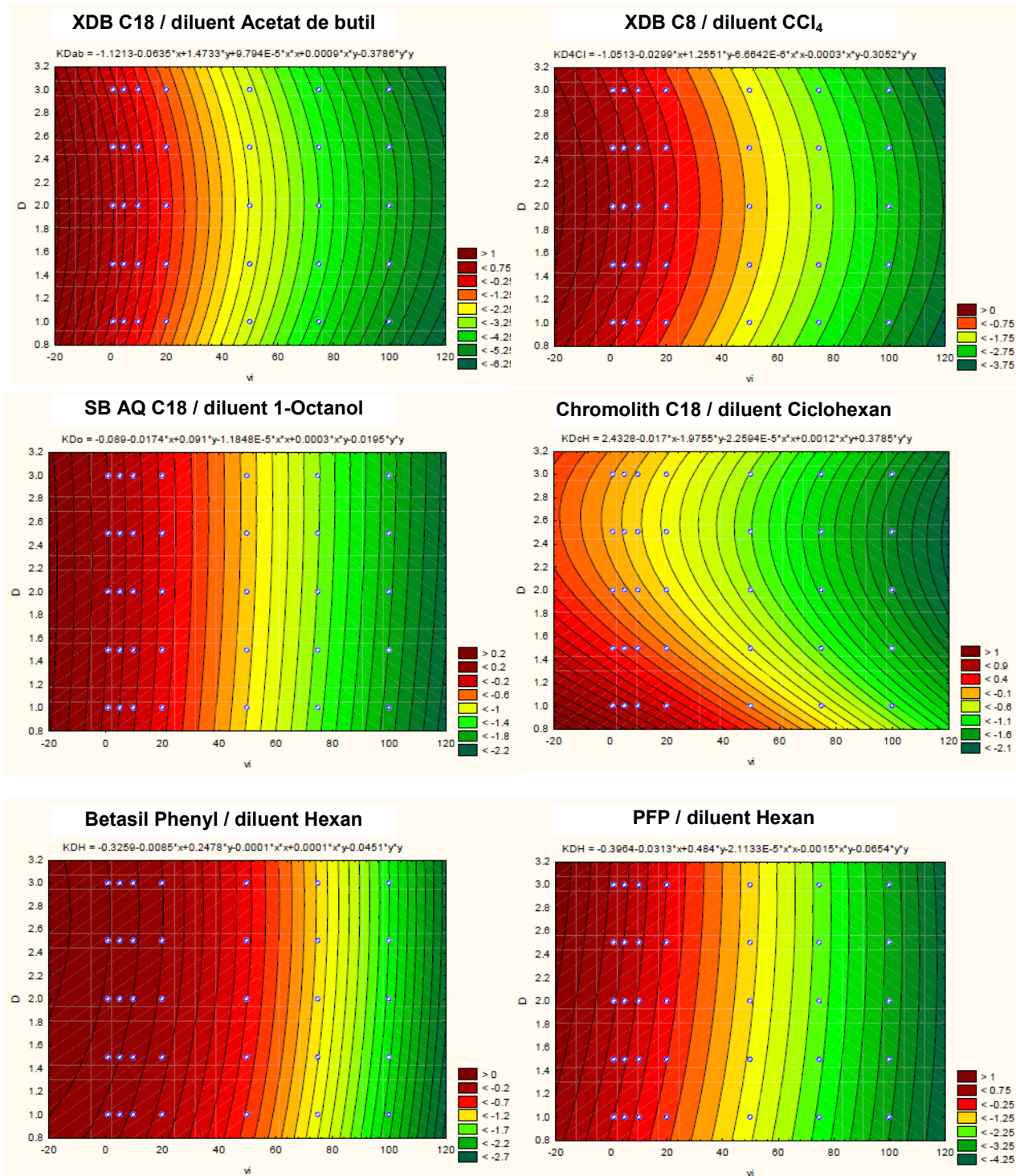
Tabelul 1. Variația pantelor regresiei liniare ilustrând dependențele funcționale $k = f(V_{inj})$ la mai multe debite ale fazei mobile, pe cele 6 faze staționare considerate.

Diluent	Coloana / Debit (mL/min)	Pantele regresiei $k = f(V_{inj})$					
		XDB C18	XDB C8	SB AQ C18	Chromolith C18	Betasil Phenyl	PPF
AcOBu	0.5						-0.0363
	0.75						-0.0389
	1	-0.0547	-0.047	-0.0237	-0.0342	-0.019	-0.0380
	1.25						-0.0364
	1.5	-0.0496	-0.0465	-0.0223	-0.0358	-0.0194	-0.0384
	2	-0.0515	-0.0452	-0.0222	-0.0319	-0.0210	
	2.5	-0.0512	-0.0402	-0.0231	-0.0328	-0.0220	
	3	-0.0513	-0.0398	-0.0228	-0.0338	-0.0186	
CCI4	0.5						-0.0318
	0.75						-0.0338
	1	-0.0399	-0.0307	-0.0203	-0.0156	-0.0149	-0.0340
	1.25						-0.0354
	1.5	-0.0380	-0.0298	-0.0187	-0.0175	-0.0139	-0.0346
	2	-0.0389	-0.0312	-0.0184	-0.0137	-0.0134	
	2.5	-0.0413	-0.0307	-0.0180	-0.0177	-0.0131	
	3	-0.0398	-0.0315	-0.0185	-0.0164	-0.0161	
1-Octanol	0.5						-0.0267
	0.75						-0.0323
	1	-0.0408	-0.0470	-0.0181	-0.0342	-0.0133	-0.0304
	1.25						-0.0317
	1.5	-0.0364	-0.0465	-0.0173	-0.0358	-0.0132	-0.0315
	2	-0.0374	-0.0452	-0.0183	-0.0319	-0.0125	
	2.5	-0.0397	-0.0402	-0.0161	-0.0328	-0.0127	
	3	-0.0412	-0.0398	-0.0177	-0.0338	-0.0120	
c-Hexan	0.5						-0.0316
	0.75						-0.0345
	1	-0.037	-0.0306	-0.0183	-0.0178	-0.0147	-0.0342
	1.25						-0.0326
	1.5	-0.0406	-0.0345	-0.0189	-0.0169	-0.0167	-0.0341
	2	-0.040	-0.0327	-0.0188	-0.0158	-0.0181	
	2.5	-0.0426	-0.0315	-0.0196	-0.0156	-0.0182	
	3	-0.0430	-0.0336	-0.0198	-0.0160	-0.0201	
Hexan	0.5						-0.0326
	0.75						-0.0353
	1	-0.0411	-0.0314	-0.0197	-0.0199	-0.0194	-0.0365
	1.25						-0.0352
	1.5	-0.0389	-0.0316	-0.0217	-0.0213	-0.0192	-0.0382
	2	-0.0420	-0.0324	-0.0209	-0.0189	-0.0165	
	2.5	-0.0439	-0.0333	-0.0215	-0.0184	-0.0197	
	3	-0.0467	-0.0351	-0.0219	-0.0201	-0.0180	

Pentru rafinarea statistică a rezultatelor, printr-o colaborare cu D^{nul} Conf. Dr. Costel Sârbu de la Facultatea de Chimie a Universității Babeș Bolyai din Cluj Napoca, s-au reprezentat contururile proiecțiilor bidimensionale a suprafețelor de răspuns obținute la relaționarea lui k (variabila Z) cu volumul de injecție (variabila X) și debitul (variabila Y), folosind un model de ajustare a datelor de tip quadratic, cu forma $Z = a_0 + a_1 \cdot X + a_2 \cdot Y + a_3 \cdot X^2 + a_4 \cdot Y^2 + a_5 \cdot X \cdot Y$. În acest scop, s-a folosit software-ul STATISTICA 8.0 (StatSoft Inc., Tulsa, U.S.A). Reprezentările grafice din Figura 2 ilustrează rezultatele obținute prin această abordare (pentru o imagine de ansamblu, s-a ales câte o reprezentare pentru fiecare coloană cromatografică și diluent în parte). La nivelul unui set de reprezentări pentru fiecare fază staționară și toți diluenții considerați, se poate bine observa că termenul liber (a_0) nu variază semnificativ, ceea ce validează setul experimental de date (este normal să fie așa, deoarece acesta nu depinde decât de structura chimică a analitului considerat, în cazul de față metoprololul). Termenul mixt (a_5), întotdeauna nesemnificativ din punct de vedere valoric, indică faptul că retenția nu este influențată prin cuplarea efectelor de variație a debitului și volumului de injecție. Termenul quadratic aferent volumului de injecție (a_3) are întotdeauna

valori mai mici de 10^{-5} , ceea ce reconfirmă dependența strict liniară între retenție și volumul injectat.

Figura 2. Proiecții bidimensionale ale suprafețelor de răspuns ilustrând relaționarea factorului de retenție (k) cu debitul și volumul de injecție (diverse coloane cromatografice și diverși diluenți).



Fenomenologic vorbind, ar trebui să existe o corelație evidentă între natura diluentului și a fazei mobile, în ceea ce privește suprafața de fază staționară ocupată de unitatea de

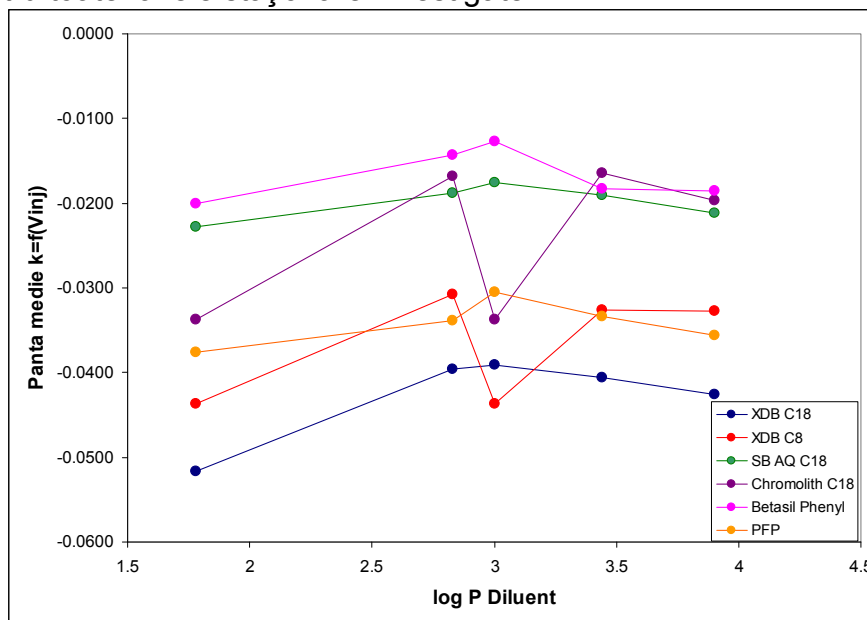
volum de diluent. O mai bună "asemănare" între diluent și faza staționară favorizează adsorbția, și în consecință unitatea de volum de diluent ar trebui să ocupe o suprafață proporțional redusă de fază staționară. Plecând de la principiul unor interacții de natură hidrofobă între diluent și faza staționară, am încercat corelarea dintre valorile log P ale diluenților și panta regresiei liniare $k = f(V_{inj})$, pentru fiecare din fazele staționare testate. S-au folosit valorile medii ale pantelor pentru tot setul de debite utilizate. Valorile datelor experimentale sunt conținute în Tabelul 2.

Tabelul 2. Valori medii (prin raportare la debitul fazei mobile) ale pantelor $k = f(V_{inj})$ pentru fazele staționare considerate.

Coloană Diluent	Log P	Pante medii ale dependențelor funcționale $k = f(V_{inj})$ la diverse debite						Medie	Abatere Standard	Abatere Relativă Standard (RSD%)
		XDB C18	XDB C8	SB AQ C18	Chromolith C18	Betasil Phenyl	PFP			
Acetat de butil	1.78	-0.0517	-0.0437	-0.0228	-0.0337	-0.0200	-0.0376	-0.0349	0.0121	-34.7
CCl ₄	2.83	-0.0396	-0.0308	-0.0188	-0.0168	-0.0143	-0.0339	-0.0257	0.0104	-40.6
1-Octanol	3	-0.0391	-0.0437	-0.0175	-0.0337	-0.0127	-0.0305	-0.0296	0.0122	-41.1
Ciclohexan	3.44	-0.0406	-0.0326	-0.0191	-0.0164	-0.0183	-0.0334	-0.0267	0.0101	-37.7
n-Hexan	3.9	-0.0425	-0.0328	-0.0211	-0.0197	-0.0186	-0.0356	-0.0284	0.0099	-35.0
Medie		-0.0427	-0.0367	-0.0199	-0.0241	-0.0168	-0.0342	-0.0291	0.0103	-35.5
Abatere Standard		0.0052	0.0065	0.0021	0.0089	0.0031	0.0026			
RSD%		-12.1	-17.6	-10.6	-36.9	-18.5	-7.7			

Se poate observa că variabilitatea determinată de log P a diluentului pe o anumită fază staționară este mai mică decât variabilitatea determinată de natura fazei staționare prin raportare la un anumit diluent. În acest context, se poate observa că faza staționară PFP funcționează similar indiferent de valoarea log P a diluentului. Observațiile de mai sus arată destul de clar că nu numai interacția hidrofobă este cea care determină reținerea diluantului la suprafața fazei staționare. În Figura 2 sunt ilustrate corelațiile care se stabilesc între pantele medii ale dependențelor $k = f(V_{inj})$ și log P a diluenților, pentru toate fazele staționare considerate.

Figura 2. Depențele dintre valorile log P a diluenților și pantele medii ale relațiilor funcționale $k = f(V_{inj})$, pentru toate fazele staționare investigate.



Oricât ar părea de paradoxal, adsorbția diluenților studiați este favorizată la nivelul fazei staționare în această ordine: Betasil Phenyl > SB AQ C18 > Chromolith C18 > PFP > XDB C8 > XDB C18. Se mai poate observa că în general adsorbția crește progresiv de la acetatul de butil la 1-octanol (pentru ultimul dintre diluenți, excepție fac fazele staționare Chromolith C18 și XDB C8) dar scade ușor de la ciclohexan la hexan. În mod evident, nu doar interacția hidrofobă este responsabilă pentru reținerea diluentului în faza staționară.

Efectul temperaturii în procesul injectiei de volume mari în diluenți nemiscibili cu faza mobilă a fost deasemenea studiat. Relația care se stabilește între valorile pantelor dependențelor $k = f(V_{inj})$ și temperatură, pe fiecare dintre fazele staționare considerate este ilustrată în Tabelul 3.

Tabelul 3. Variația pantelor regresior liniare ilustrând dependențele funcționale $k = f(V_{inj})$ la mai multe temperaturi, pe cele 6 faze staționare considerate.

Diluent	Coloană	Pantele dependențelor funcționale $k = f(V_{inj})$					
	Temperatură (°C)	XDB C18	XDB C8	SB AQ C18	Chromolith C18	Betasil Phenyl	PFP
AcOBu	15	-0.0606	-0.0473	-0.0252	-0.0207	-0.0201	-0.0420
	25	-0.0515	-0.0452	-0.0222	-0.0167	-0.0163	-0.0380
	35	-0.0436	-0.0359	-0.0201	-0.0143	-0.0156	-0.0321
	45	-0.0358	-0.0303	-0.0167	-0.0123	-0.0108	-0.0286
	55	-0.0313	-0.0273	-0.0136		-0.0084	-0.0238
	65	-0.0294	-0.0262	-0.0121			
CCl4	15	-0.0498	-0.0334	-0.0207	-0.0207	-0.0150	-0.0400
	25	-0.0389	-0.0312	-0.0184	-0.0167	-0.0134	-0.0340
	35	-0.0339	-0.0252	-0.0157	-0.0143	-0.0122	-0.0312
	45	-0.0288	-0.0218	-0.0130	-0.0123	-0.0101	-0.0276
	55	-0.0239	-0.0195	-0.0120		-0.0090	-0.0227
	65	-0.0209	-0.0176	-0.0102			
1-Octanol	15	-0.0466	-0.0330	-0.0189	-0.0170	-0.0139	-0.0366
	25	-0.0374	-0.0319	-0.0183	-0.0163	-0.0125	-0.0304
	35	-0.0345	-0.0262	-0.0153	-0.0155	-0.0120	-0.0281
	45	-0.0290	-0.0215	-0.0132	-0.0131	-0.0095	-0.0248
	55	-0.0226	-0.0197	-0.0111		-0.0085	-0.0202
	65	-0.0218	-0.0170	-0.0106			
c-Hexan	15	-0.0488	-0.0363	-0.0228	-0.0177	-0.0201	-0.0357
	25	-0.0400	-0.0327	-0.0188	-0.0158	-0.0181	-0.0342
	35	-0.0332	-0.0260	-0.0159	-0.0139	-0.0147	-0.0280
	45	-0.0264	-0.0199	-0.0135	-0.0114	-0.0126	-0.0273
	55	-0.0229	-0.0157	-0.0114		-0.0104	-0.0220
	65	-0.0200	-0.0162	-0.0104			
Hexan	15	-0.0510	-0.0384	-0.0252	-0.0216	-0.0191	-0.0370
	25	-0.0420	-0.0324	-0.0209	-0.0189	-0.0165	-0.0365
	35	-0.0348	-0.0264	-0.0184	-0.0158	-0.0149	-0.0303
	45	-0.0293	-0.0213	-0.0148	-0.0137	-0.0115	-0.0274
	55	-0.0252	-0.0197	-0.0128		-0.0091	-0.0232
	65	-0.0218	-0.0173	-0.0112			

Așa cum se poate observa din Figura 3 pentru tetraclorura de carbon ca diluent, creșterea temperaturii procesului de separare are rolul de a fixa un volum mai mare din acesta la nivelul unității de suprafață a fazelor staționare. Creșterea poate fi liniară sau quadratică. Un astfel de rezultat poate părea la rândul său paradoxal, cunoscut fiind faptul că o creștere a temperaturii nu favorizează principal adsorbția (și în mod special cea de tip multistrat). Dacă totuși considerăm procesul de adsorbție a diluentului în contextul deplasării solventului organic din faza mobilă adsorbit la nivelul suprafeței fazei staționare (vezi echilibrele de mai jos), fenomenul observat poate fi explicat în sensul în care desorbția acetonitrilului de pe suprafața fazei staționare este mai puternic favorizată de temperatură decât desorbția diluentului.

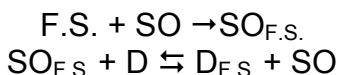
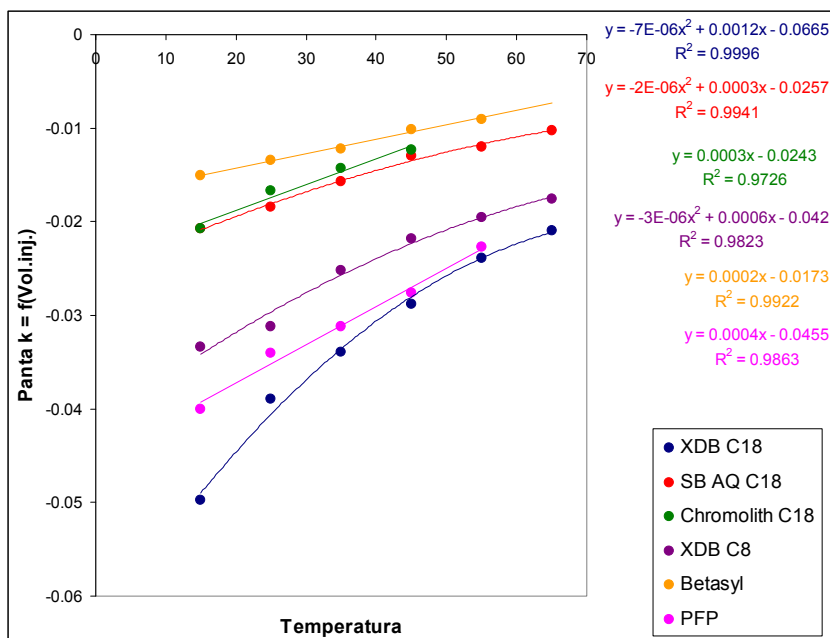


Figura 3. Dependența pantelor regresiilor $k = f(V_{inj})$ cu temperatura, pe diverse faze staționare.



Urmează ca din datele experimentale existente, să se evalueze și influența debitului respectiv a temperaturii asupra eficienței cromatografice asociate picului metoprololului. Spre deosebire de retenție, dependența eficienței de volumul injectat nu este una lineară, ci una exponențial descrescătoare. Trebuie însă acceptată ideea că atât debitul cât și temperatura au propriile lor efecte asupra eficienței, chiar în condițiile utilizării fazei mobile ca și diluent. Din acest motiv, pentru a putea studia doar efectul datorat injecției de volume mari de diluenți nemiscibili cu faza mobilă, s-a preferat utilizarea diferenței între valorile de eficiență (cea obținută la injecția probelor dizolvate în faza mobilă, respectiv cea obținută la injecția diluanților nemiscibili cu faza mobilă). Datele primare sunt accesibile evaluatorului la solicitarea sa expresă.

Obiectivul 1 – Activitatea 5

S-a studiat efectul diluentului la injecția unui amestec multicomponent constituit din analiți caracterizați prin valori log P diferite. Studiul s-a efectuat pe o singură fază staționară, în condiții de debit și temperatură bine definite.

Soluții probă: Amestecul de separat conține următorii analiți: metil paraben (log P=1,96), etil paraben (log P=2,47), propil paraben (log P=3,04), butil paraben (log P=3,57), pentil paraben (log P=3,96), hexil paraben (log P=4,35) și octil paraben (log P=5,43). Soluțiile stoc au fost obținute prin diluția 1/20 din soluții metoprol 2000 μg/mL în metanol (în cazul diluenților hexan, heptan și izooctan) sau acetat de etil (în cazul diluenților decan și dodecan). Diluenții enumerați sunt la rândul lor caracterizați prin următoarele valori log P: hexan – 3,90; heptan – 4,66; isooctan – 4,09; decane – 5,01; dodecane – 6,10. Soluțiile corespunzătoare volumelor de injecție mai mari de 1 μL se obțin prin diluția corespunzătoare a soluției stoc în diluentul dorit, în așa fel încât cantitatea de analit încărcată în coloană să fie întotdeauna 200 ng.

Volum injectate: 1, 5, 10, 20, 50, 75, 100 μL.

Coloană cromatografică: Zorbax SB- C18 , 5 cm x 4,6 mm i.d. x 1,8 μm d.p., termostată la 25 °C.

Condiții cromatografice: Solventul A – apă de uz cromatografic; Solventul B – acetonitril; Eluție în condiții izocratice. Compoziția fazei mobile: Solvent A/Solvent B = 60/40 (v/v). Debitul a fost de 1,5 mL/min. Pentru analiții metil paraben, etil paraben, propil paraben și butil paraben respectiv solvenții hexan, heptan și izooctan au fost efectuate de asemenea și studii în condiții izocratice cu fază mobilă compusă din apă de uz cromatografic și acetonitril în proporția 80/20 (%v/v) respectiv debitul fazei mobile de 1,5 mL/min.

Detecție: DAD, lungime de undă analitică 254 nm.

Informații primare: În fiecare cromatogramă, s-au înregistrat: timpii de retenție absoluți pentru analiții de interes; eficiența cromatografică asociată fiecărui pic; factorul de asimetrie asociat fiecărui pic. Au fost determinate de asemenea constantele de distribuție între heptan și amestecuri de apă și ACN (conținând 10, 20, 25, 30, 35 respectiv 40% ACN) prin vortexarea timp de 24 de ore la 500 rpm a unui amestec 1/1 de soluție de paraben în heptan (conținând aproximativ 10 μg/mL din fiecare paraben) respectiv amestecurile de apă/ACN menționate mai sus.

Rezultate și discuții: Datele primare nu au fost prelucrate. Ele sunt disponibile la solicitarea expresă a evaluatorului.

Obiectivul 4

Vezi publicația 2 din lista de lucrări publicate/acceptate pentru publicare, respectiv 2 din lista de lucrări trimise pentru publicare (**Obiectivul 7**). A se vedea asemenea prezentarea 1 (postată pe site-ul proiectului <http://www.chimie.unibuc.ro/cercetare/analitica/web%20Med.pdf>) (**Obiectivul 7**).

Obiectivul 6 – activitatea 1

Vezi publicațiile 1 și 3 din lista de lucrări publicate/acceptate pentru publicare, respectiv 1 din lista de lucrări trimise pentru publicare (**Obiectivul 7**). A se vedea asemenea prezentările 2, 3 (postate pe site-ul proiectului <http://www.chimie.unibuc.ro/cercetare/analitica/web%20Med.pdf>) (**Obiectivul 7**).

Obiectivul 7.

A. Publicații ISI (publicate sau acceptate pentru publicare), incluzând la secțiunea Acknowledgments mențiunea pentru proiectul în curs:

1. T. Galaon, M. Rădulescu, V. David, **A. Medvedovici***, Use of an immiscible diluent in ionic liquid/ion pair LC for the assay of an injectable analgesic, Cent. Eur. J. Chem., 10(4), 1360-1368 (2012). (*Anexa 1*)

Central European Journal of Chemistry: Impact Factor (2011): 1,073; S.R.I. (Ian. 2012): 0,65569

2. **A. Medvedovici, Ș. Udrescu**, V. David, Use of a green (bio)solvent – limonene – as extractant and immiscible diluent for large volume injection in the RPLC - tandem MS assay of statins and related metabolites in human plasma, Biomed. Chromatogr., DOI 10.1002/bmc.2747 (wileyonlinelibrary.com). (*Anexa 2*)

Biomedical Chromatography: Impact Factor (2011): 1,966; S.R.I. (Ian. 2012): 0,85566

3. N. Grinberg, **F. Albu**, K. Fandrick, **E. Iorgulescu, A. Medvedovici***, Assay at low ppm level of dimethyl sulfate in starting materials for API synthesis using derivatization in ionic liquid media and LC-MS, J. Pharm. Biomed. Anal., DOI 10.1016/j.jpba.2012.11.016, *accepted*. (*Anexa 4, Anexa 4_1*)

Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis: Impact Factor (2011): 2,967; S.R.I. (Ian. 2012): 1,27518

B. Publicații ISI (trimise pentru publicare), incluzând la secțiunea Acknowledgments mențiunea pentru proiectul în curs:

1. **M. Cheregi, F. Albu, Ș. Udrescu**, N. Răducanu, **A. Medvedovici***, Greener bioanalytical approach for LC-MS/MS assay of enalapril and enalaprilat in human plasma with total replacement of acetonitrile throughout all analytical stages, *J. Chromatogr. B*, submitted. (*Anexa 3*)

Journal of Chromatography B: Impact Factor (2011): 2,888; S.R.I. (Ian. 2012): 1,48702

2. **F. Tache, Ș. Udrescu, F. Albu**, F. Micăle, **A. Medvedovici***, Greening pharmaceutical applications of liquid chromatography through using propylene carbonate-ethanol mixtures instead of acetonitrile as organic modifier in the mobile phases, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, submitted. (*Anexa 5*)

Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis: Impact Factor (2011): 2,967; S.R.I. (Ian. 2012): 1,27518

C. Diseminarea rezultatelor cercetării: "Invited Plenary Lectures" la diverse conferințe:

1. **A. Medvedovici*, F. Tache, Ș. Udrescu**, Green solution for replacement of acetonitrile as mobile phase component in RPLC separations, International Conference *Chimia 2012 "New Trends in Applied Chemistry"*, 24-26 Mai 2012, Constanța, România.
2. **A. Medvedovici*, F. Albu**, V.A. Voicu, New approaches for the bioassay of oximes by means of LC-ESI/MS/MS, 13th International Congress of the Romanian Society of Pharmacology, Therapeutics and Clinical Toxicology, 11-14 Iunie 2012, Poiana Brașov, România.
3. **A. Medvedovici*, F. Albu**, Green approach in bioassays through replacement of acetonitrile from sample preparation and separation stages, 1st International Conference on Analytical Chemistry "Analytical Chemistry for a better life" 18-21 Septembrie 2012, Târgoviște, România.

Director de proiect,
Profesor Dr. Andrei Valentin Medvedovici,



Departamentul de Chimie Analitică
Facultatea de Chimie
Universitatea din București
Șos. Panduri nr. 90-92, București-050663, România
E-mail: avmedved@yahoo.com
Fax: 021 4102279
Tel.: 072 3330423