

CONCLUSIONS



CONCLUSIONS

A. ACETONITRIL I METANOL EN CROMATOGRAFIA DE LÍQUIDS

A.1 Variació del pH de fases mòbils acetonitril/tampó aquós i metanol/tampó aquós en funció del contingut de modificador orgànic

- ✓ S'ha desenvolupat un model que permet estimar molt satisfactòriament la variació del pH de fases mòbils acetonitril/tampó aquós i metanol/tampó aquós que continguin fins al 60 i 80% en volum de modificador orgànic, respectivament, a partir de la concentració i el pH de la solució amortidora aquosa i la fracció de solvent orgànic. Aquest model ha estat desenvolupat pels sistemes amortidors de l'àcid acètic/acetat, l'àcid cítric/dihidrogencitrat/hidrogencitrat/citrat, l'àcid fosfòric/dihidrogenfosfat/hidrogenfosfat i l'amoni/amoníac. S'ha constatat que la variació del pH en fases mòbil hidroorgàniques depèn no només de la fracció de solvent orgànic addicionada, sinó també de la naturalesa del sistema amortidor i del seu pH i concentració inicials en la solució aquosa, i que els valors de ^spH de solucions amortidores preparades a partir d'àcids neutres (H_nA) o aniónics (H_nA^{z-}) augmenten en addicionar el modificador orgànic, mentre que en el cas d'àcids catiónics (BH^+) disminueixen.

La capacitat amortidora dels tampons cromatogràfics disminueix en addicionar-hi un solvent orgànic, tal i com és d'esperar degut a l'efecte de dilució de la mescla. Els valors màxims de capacitat amortidora es desplacen d'acord amb les variacions dels valors de pK_a de les espècies amortidores en funció del contingut de modificador orgànic en la mescla.

A.2 Retenció cromatogràfica en fases mòbils acetonitril/aigua i metanol/aigua en funció del pH de la fase mòbil i el pK_a de l'anàlit ionitzable

- ✓ La mesura del pH en la fase mòbil hidroorgànica (^spH o ^wpH) és preferible a la mesura del pH de la solució amortidora aquosa (^wpH), donat que els sistemes amortidors en funció de la seva naturalesa varien el pH en diferent sentit i extensió en addicionar-hi un solvent orgànic.

- ✓ S'obtenen millors ajustaments a l'equació teòrica en relacionar els temps de retenció amb el ${}^s_p\text{pH}$ de la fase mòbil hidroorgànica que no pas amb els valors de ${}^w_p\text{pH}$ de la solució amortidora aquosa. A més, d'aquesta forma el càlcul de la retenció és funció de la constant de dissociació d'àcids o bases febles en la pròpia fase mòbil, és a dir, en l'escala s_pK_a (ió hidrogen en aigua a dilució infinita com a estat estàndard). A la vegada, és possible determinar aquesta constant a partir de mesures de retenció cromatogràfica. L'escala s_pK_a pot ser transformada a la s_pK_a (protó en la mescla hidroorgànica a dilució infinita com a estat estàndard) mitjançant el paràmetre δ .
- ✓ Mitjançant el model de variació del pH en mescles acetonitril/tampó aquós i metanol/tampó aquós, juntament amb l'estimació dels valors de pK_a dels anàlits en una determinada fase mòbil a partir dels valors de pK_a en aigua, pot explicar-se qualitativament la retenció cromatogràfica i la selectivitat d'anàlits ionitzables en termes de la variació del grau d'ionització i la hidrofobicitat.
- ✓ A partir de la determinació experimental dels temps de retenció de les formes àcides i bàsiques d'anàlits ionitzables, i dels valors estimats de pH de la fase mòbil i de pK_a d'aquests anàlits, és possible estimar els temps de retenció a partir dels valors aquosos de pH del tampó.

B. NITROMETÀ, METANOL I ACETONITRIL EN ELECTROFORESI CAPIL·LAR

B.1 Caracterització del nitrometà com a solvent orgànic usat en electroforesi capil·lar

- ✓ El nitrometà com a solvent en electroforesi capil·lar presenta l'avantatge en relació a l'aigua de poder dissoldre amb facilitat compostos lipofílics. Malgrat que les propietats òptiques del nitrometà poden restringir el seu ús, és possible detectar els anàlits amb radiació UV. Es pot utilitzar, sense restriccions, un detector de conductivitat.
- ✓ El descens en la mobilitat dels ions en augmentar la força iònica s'ajusta al model descrit per la teoria ampliada de Debye-Hückel-Onsager.
- ✓ Es produeix una bona correspondència entre la variació de la mobilitat dels ions i el pH de la solució amortidora calculat segons l'equació de Henderson-Hasselbalch pels sistemes estudiats. Aquesta correspondència és sorprenent si es té en compte que en aquest solvent haurien de produir-se fenòmens d'homoconjugació que alterarien el pH.
- ✓ Es poden donar fenòmens d'heteroconjugació entre anàlits neutres i l'anió constituent de l'electròlit suport. L'heteroconjugació pot usar-se com a mecanisme de separació.

B.2 Comparació del metanol i l'acetonitril com a solvents en la separació del sertindole i els seus metabòlits principals per electroforesi capil·lar

- ✓ El metanol i l'acetonitril són solvents adequats per dur a terme anàlisis de substàncies que presentin problemes de solubilitat en aigua. En el problema concret del sertindole i els seus metabòlits el límit de detecció, calculat com a tres vegades la desviació estàndard de la línia base, ha estat de $0.3 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$.
- ✓ En aplicar l'equació de Henderson-Hasselbalch per calcular el pH de la solució amortidora i relacionar aquests valors amb els de mobilitat experimental, s'obtenen dos comportaments diferents. En metanol la variació de la mobilitat amb el pH s'ajusta a la funció sigmoïdal típica, indicant que el pH es pot calcular correctament i la mobilitat està governada principalment per l'equilibri àcid/base. En canvi per l'acetonitril s'obté una representació que dista molt de l'anterior. Possibles causes d'aquestes desviacions poden ser:

- i. Baixa solubilitat dels constituents de la solució amortidora, que donen lloc a una baixa capacitat amortidora.
 - ii. Tendència pronunciada a l'homoconjugació dels constituents del tampó i dels anàlits.
 - iii. En funció de les fonts bibliogràfiques, poden trobar-se diferents valors de pK_a per a un mateix àcid. Això pot arribar a qüestionar el grau de confiança d'un determinat valor.
 - iv. Donat el baix nombre de candidats potencials de solucions amortidores en acetonitril, és possible que s'hagin emprat espècies que, degut a la seva estructura, no siguin les més idònies.
- ✓ Els valors de pK_a dels anàlits obtinguts en els punts d'inflexió de les representacions mobilitat vs. pH en el cas del metanol es corresponen prou bé amb els valors de pK_a calculats. Per l'acetonitril aquesta correspondència és pitjor.
 - ✓ En metanol el norsertindole presenta en tots els casos una major mobilitat en relació al sertindole i dehidrosertindole, d'acord amb la seva reduïda grandària i elevat pK_a . En canvi, en acetonitril el norsertindole presenta a tots els valors de pH estudiats la menor mobilitat.
 - ✓ La separació dels anàlits s'ha obtingut a pràcticament tots els valors de pH estudiats, malgrat la mínima diferència estructural entre el sertindole i el dehidrosertindole. A valors de pH propers al pK_a dels anàlits la separació és molt bona, i es poden tenir excel·lents resolucions en anàlisis de 10 minuts pel metanol i 4 minuts per l'acetonitril.