



Faculty of Pharmacy, Pharos University in Alexandria
Department of pharmaceutical Chemistry

ASSAY OF SOME DRUGS USED FOR THE TREATMENT OF CARDIOVASCULAR DISORDERS

**A thesis submitted in partial fulfillment of the
requirements for the degree of
Master in Pharmaceutical Sciences**

Presented by

Sara Adel Mohamed Ismail

B.Sc. in Pharm.Sci, Faculty of Pharmacy, Pharos University, 2012

2022

P.U.A. Library
Central Medical Library (B)
Faculty of :
Serial No : 829
Classification : 615, 19

ABSTRACT

Atrial fibrillation and heart failure frequently co-exist and can exacerbate each other. Their combination increases mortality rate. Risk of sudden death increases by six to nine times in heart failure patients than in normal population. So, continuous update of treatment guidelines in the way that could save patients' lives is necessary.

The last decade witnessed the birth and growth of novel oral anticoagulants (NOACs). **Exdoxaban (EDX)** is a recent NOAC that was approved by US FDA in 2015. It was prescribed for atrial fibrillation patients as a prophylaxis from stroke and systemic embolism. Recently, the new combinations of **Eplerenone (EPL)/Torsemide (TOR)** and **Valsartan (VAL)/Sacubitril (SAC)** became essential therapies in heart failure guidelines. **EDX** and the novel combinations (**EPL/TOR**, **VAL/SAC**) strongly penetrate the pharmaceutical market, even in the developing country. This necessitates fast development of selective analytical methods that are capable of assaying **EDX** and determining **EPL/TOR** and **VAL/SAC**, simultaneously, in their combinations.

In this thesis, **EDX** is a high-risk drug that may cause a life-threatening bleeding. Also, it is prescribed as a chronic therapy for atrial fibrillation and venous thromboembolism patients. They are special population that needs appropriate care and optimum dosing of **EDX**. Hence, its monitoring in the patient plasma is fundamental, especially in emergency and special circumstances. However, such patient mostly receives many drugs of different pharmacological classes, side by side with **EDX**. This study represents the first attempt to quantify **EDX** in plasma without interference of the plasma matrix or concomitant medications. In this thesis, an accurate RP-HPLC-DAD method was developed for this purpose. It succeeded to monitor **EDX** level, selectively, without interference of plasma matrix or 16 of its frequently co-administered drugs. All drugs were extracted from plasma samples by protein precipitation followed by evaporation and concentration. **EDX** was well resolved from the co-administered drugs on C8 column using linear gradient elution of methanol and phosphate buffer (pH 4), at a flow rate of 1 mL/min. **EDX** appeared at retention time 9.6 min and was quantified at its λ_{max} (290 nm). It exhibited a linear response over the concentration range of 0.15-2.2 $\mu\text{g/mL}$ plasma, which covers the reported therapeutic concentration. The suggested method fulfilled the US FDA guidelines for bioanalytical method validation. An in vivo study was performed to ensure applicability of the method on real plasma samples without interference from plasma matrix, co-administered drugs, or the expected metabolites. The method presented a unique selectivity that guarantees accurate laboratory monitoring of **EDX** in plasma in almost all combined treatments including such novel oral anticoagulant drug Atrial fibrillation and heart failure frequently co-exist and can exacerbate each other. Their combination leads to increase mortality. Risk of sudden death increases by six to nine times in heart failure patients than in normal people. So, continuous update of treatment guidelines in the way that could save patients' lives is necessary.

On the other hand, validated analytical methods have been established for simultaneous quantitation of **EPL** and **TOR**. One of the methods represents the first high performance thin layer chromatographic (HPTLC) attempt for **EPL/TOR** simultaneous estimation. A mixture of ethyl acetate -methanol- chloroform (8:2:1, v/v/v) was applied as

المخلص العربي

تحتوى هذه الرسالة على ستة أجزاء:

الجزء الأول:

يعرض هذا الجزء مقدمة عامة حول العقاقير المختارة التي تتناولها الرسالة موضحا تركيبها وأسماءها العلمية وأوزانها وصيغها الجزيئية ، وكذلك يتطرق إلى خواصها الفيزيائية وتأثيرها الأقرباريني واستخداماتها المختلفة.

الجزء الثاني:

يعرف هذا الجزء اضطرابات القلب والأوعية الدموية مستعرضا الحالات الطبية المختلفة التي تندرج تحت هذه الفئة من الأمراض. ومن ثم يقدم لمحة موجزة عن الفئات الدوائية المختلفة التي تنتمي لها العقاقير المستخدمة في النظم العلاجية المختلفة.

وينتهي الجزء بتوضيح هدف هذه الأطروحة العلمية من انشاء و توثيق طرق تحليلية جديدة لتعيين أدوية مختارة مستخدمة في علاج اضطرابات القلب والأوعية الدموية تجمع بين امكانية الاعتماد عليها و سهولة تطبيقها.

الجزء الثالث:

يتطرق هذا الجزء الى الطرق المختلفة المنشورة في التراث العلمى لتحليل العقاقير المختارة إما في صورتها المنفردة أو في مستحضراتها الصيدلانية وكذلك في السوائل البيولوجية.

الجزء الرابع:

يقدم هذا الجزء طرق تحليلية مختلفة لتعيين عقارى الايبيليرينون والتورسيميد بشكل متزامن فى الصورة النقية وفى أقرصهما المشتركة، حيث يبدأ بنبذة مختصرة عن قصور القلب الاحتقاني واستخدام كلا العقارين المقترحين في علاجه. ثم يتم تناول أولي الطرق التحليلية المستحدثة والتي تتضمن فصل العقارين المذكورين و المتواجدين فى مزيج واحد باستخدام طريقة كروماتوجرافيا الطبقة الرقيقة ذات الكفاءة العالية، يليها قياس الكثافة الضوئية لبقع الايبيليرينون والتورسيميد المفصولة عند ٢٤٢ و ٢٨٨ نانومتر علي التوالي.

ولنفس الغرض السابق ذكره يقدم هذا الجزء عدة طرق طيف ضوئية كبدايل أكثر بساطة وسرعة وأقل تكلفة مثل فرق الامتصاص الضوئي الناتج عن استخدام مذيبات مختلفة، فرق الامتصاص الضوئي النسبي، الاشتقاق التفاضلي لمنحنى الامتصاص الضوئي النسبي، وأخيرا طرح منحنى الامتصاص الضوئي النسبي بالتكامل مع طريقة نقطة الامتصاص المتساوية.

وقد تم عقد مقارنة تفصيلية للطرق المقترحة توضح تفوقها بالعديد من المزايا على الطرق المنشورة فى التراث العلمى لنفس الغرض.

الجزء الخامس:

يعرض هذا الجزء فى بدايته مقدمة بسيطة عن الجيل الجديد من مضادات التخثر الدموى الفموية و موقع عقار الايدوكسبان بين تلك الفئة من العقاقير، و من ثم يصف طريقة مبتكرة لتحليل الايدوكسبان فى البلازما انتقائيا فى وجود ستة عشر عقارا قد يتم تناولهم بالتزامن مع العقار المقترح، و قد تم اختيار تلك العقاقير لكثرة وصفهم من قبل الاطباء المصريين بالتزامن مع الايدوكسبان فى نفس الروشتة الطبية بالإضافة الى تغطيتها لأغلب الفئات الدوائية المختلفة التى قد تحتاجها تلك الفئة من المرضى.

تعتمد الطريقة المقترحة على كروماتوجرافيا السائل ذات الكفاءة العالية حيث يتم ادخال الطور المتحرك بطريق خطية متدرجة مع استخدام كاشف امتصاص الضوء متعدد الأطوال الموجية لتعيين الايدوكسبان عند ٢٩٠ نانومتر، و لضمان تفادى أى تداخل من مكونات البلازما الداخلية يتم استخلاص العقاقير محل الدراسة بطريقة ترسيب البروتين وكذلك يتم إضافة كمية محددة من التورسيميد كمعيار داخلي لتعيين العقار محل الدراسة، و بالإضافة إلى ذلك فقد تم إجراء دراسة في الجسم الحي باستخدام مجموعة من الفئران كتطبيق عملي لإثبات أن الطريقة المقترحة يمكن الاعتماد

عليها، و كانت النتائج جذابة بما فيه الكفاية لدعم الطريقة المقترحة و فتح الطريق مستقبلاً لمزيد من الاستقصاء حولها في التطبيقات الممكنة للطب الشرعى.

وفى النهاية يعقد هذا الجزء مقارنة تفصيلية للطريقة المقترحة توضح تفوقها لتعيين الايدوكسبان فى البلازما على الطرق المنشورة فى التراث العلمى من حيث العديد من الركائز الاساسية فى علم التحليل الكيماى للعقاقير.

الجزء السادس:

يستنبط هذا البحث طريقة هجينة جديدة للتعين المتزامن للخلانط الثنائية بدون أى خطوات فصل مسبقة، ومن ثم تطبيقها بنجاح للتعين المتزامن للتركيز فى نموذج جديد من الخلانط الثنائية يتكون من الفالسارتان و الساكويبتريل والذى تمت الموافقة عليه مؤخرًا من قِبل إدارة الأغذية والعقاقير لما أظهره من فائدة كبيرة فى الحد من المضاعفات و الوفيات للحالات المصابة بفشل القلب.

تقرن هذه الطريقة القياس المتزامن للوميض اللصفى و المعالجة الرياضية بالنسبة المشتقة حيث تم قياس المشتقة التفاضلية الأولى لمنحنى الانبعاث الضوئى المتزامن النسبى عند طول موجى ٢٩٥-٢٥٨ نم للفالسارتان و ٢٠٤ نم للساكويبتريل، و قد أبدى عقارى الفالسارتان و الساكويبتريل استجابة خطية فى مدى تركيز ٢٠٠-٦٠ و ٢٠٠-٢٠ نانوجرام فى كل ملليمتر على التوالى.

و قد تم عقد مقارنة تفصيلية للطريقة المقترحة مع الطرق المنشورة فى التراث العلمى لنفس الغرض، و لما أظهرته الطريقة المقترحة من دقة و انتقائية و بساطة كبيرة بالاضافة الى تكلفتها المنخفضة فإنه يرجح استخدامها على نطاق واسع فى التحليل الروتينى للاقراص المصنعة و المحتوية على هذا الخليط الثنائى.

علاوة على ماسبق فتطبيق هذه الطريقة الجديدة اللصفية المدمجة كان جديرا بالثقة كفاية لاقتراح توسيع نطاق تطبيقها فى المستقبل على تركيبات علاجية و محيطات مختلفة.