

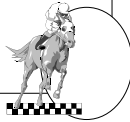
## CROMATOGRAFÍA SOBRE CAPA FINA

Análisis de medicamentos, Doping y drogas de abuso

Q.F. Sergio Salas Ibáñez

Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas

Universidad de Chile



---

---

---

---

---

---

---

---

## MÉTODO DE SCREENING SISTEMA MTTLC

\* tarea analítica de barrido para pesquisar la presencia de drogas y/o productos de biotransformación en las diversas matrices biológicas\*



---

---

---

---

---

---

---

---

## ESTRUCTURA GENERAL

\*screening : primeras informaciones sobre la droga posiblemente presente. Básicamente es la primera etapa en el trabajo de identificación\*

\*identificación : colección de datos analíticos suficientes para concluir que hay una droga presente y no otra sustancia.



---

---

---

---

---

---

---

---

## Selección de una técnica de Screening

Cobertura de drogas y rapidez de ensayo

Sensibilidad

Adaptabilidad

Versatilidad y expansibilidad

Especificidad

Conveniencia

Costo



---

---

---

---

---

---

---

---

## Selección de una técnica de Screening

- Cobertura de drogas y rapidez de ensayo
- Sensibilidad
- Adaptabilidad
- Versatilidad y expansibilidad
- Especificidad
- Conveniencia
- Costo

**...identificar el mayor número de drogas en el menor tiempo posible.**

---

---

---

---

---

---

---

---

## Selección de una técnica de Screening

- Cobertura de drogas y rapidez de ensayo
- Sensibilidad
- Adaptabilidad
- Versatilidad y expansibilidad
- Especificidad
- Conveniencia
- Costo

**...detectar la menor concentración posible de droga.**

---

---

---

---

---

---

---

---

## Selección de una técnica de Screening

- Cobertura de drogas y rapidez de ensayo
- Sensibilidad
- Adaptabilidad
- Versatilidad y expansibilidad
- Especificidad
- Conveniencia
- Costo

**...adaptarse al rastreo o barrido de muestras.**

---

---

---

---

---

---

---

---

## Selección de una técnica de Screening

- Cobertura de drogas y rapidez de ensayo
- Sensibilidad
- Adaptabilidad
- Versatilidad y expansibilidad
- Especificidad
- Conveniencia
- Costo

**...rastrear una amplia variedad de drogas y aceptar nuevas.**

---

---

---

---

---

---

---

---

## Selección de una técnica de Screening

- Cobertura de drogas y rapidez de ensayo
- Sensibilidad
- Adaptabilidad
- Versatilidad y expansibilidad
- Especificidad
- Conveniencia
- Costo

**...detectar el compuesto deseado en presencia de interferentes.**

---

---

---

---

---

---

---

---

## Selección de una técnica de Screening

- Cobertura de drogas y rapidez de ensayo
- Sensibilidad
- Adaptabilidad
- Versatilidad y expansibilidad
- Especificidad
- Conveniencia
- Costo

**...fácil aprendizaje e implementación.**

---

---

---

---

---

---

---

---

## Selección de una técnica de Screening

- Cobertura de drogas y rapidez de ensayo
- Sensibilidad
- Adaptabilidad
- Versatilidad y expansibilidad
- Especificidad
- Conveniencia
- Costo

**...debe ser de bajo costo.**

---

---

---

---

---

---

---

---

## Cromatografía

*Técnica de separación de una mezcla compleja en sus componentes puros.*

---

---

---

---

---

---

---

---

## Sistema cromatográfico

- Muestra : solutos o analitos
- Solvente : fase móvil
- Fase estacionaria : partículas sólidas
- Soporte de la fase estacionaria.

---

---

---

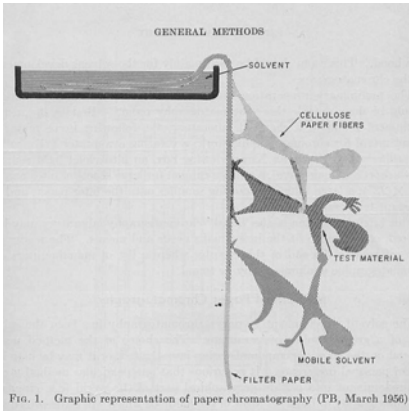
---

---

---

---

---



---

---

---

---

---

---

---

---

## Clasificación

Líquida

**CROMATOGRAFÍA**

Gaseosa

según la naturaleza  
física de la fase móvil

---

---

---

---

---

---

---

---

## Clasificación

	<b>Sólida:</b>	<b>Adsorción</b> ( TLC, Papel ) Exclusión molecular Intercambio iónico Afinidad
<b>Líquida</b>		
<b>CROMATOGRAFÍA</b>	<b>Líquida</b>	Partición ( TLC, Papel )
	<b>Sólida:</b>	C. Adsorción
<b>Gaseosa</b>	<b>Líquida</b>	C. Partición

según la naturaleza física de la fase móvil

según la naturaleza física de la fase estacionaria

---

---

---

---

---

---

---

---

## Cromatografía Líquida

- **Fase normal**  
"Fase estacionaria **más polar** que fase móvil"
- **Fase Reversa**  
"Fase estacionaria **menos polar** que fase móvil"

---

---

---

---

---

---

---

---

## Cromatografía Líquida

- **Fase normal**  
"Fase estacionaria **más polar** que fase móvil"
- **Fase Reversa**  
"Fase estacionaria **menos polar** que fase móvil"



silica

Ej.: TLC: **silica polar**, en los grupos activos silanol se establecen centros de cargas positivas y negativas.

---

---

---

---

---

---

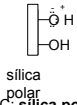
---

---

# Cromatografía Líquida

- **Fase normal**

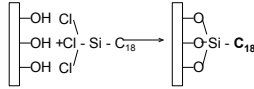
“Fase estacionaria **más polar** que fase móvil”



Ej.: TLC: **sílica polar**, en los grupos activos silanol se establecen centros de cargas positivas y negativas.

- **Fase Reversa**

“Fase estacionaria **menos polar** que fase móvil”



**Sílica no polar**  
(sílica bonded phase)  
sílica C18, RP<sub>18</sub>, ODS

---

---

---

---

---

---

---

---

- **Compuestos Polares**

Compuestos que tienen cargas localizadas positivas y negativas (dipolos).

Contienen: **O, N, S, P**, halógenos

- **Compuestos no polares**

Compuestos que no tienen dipolos fuertes.

Contienen principalmente **C e H**.

---

---

---

---

---

---

---

---

MTTLC



---

---

---

---

---

---

---

---

## Regla de oro de la cromatografía

“ *Lo similar atrae lo similar* “

Ej. Crom. Normal (TLC)

Fase móvil apolar (hexano) movilizará rápidamente los solutos apolares. La fase estacionaria polar (sílica) atraerá fuertemente los solutos polares.

Ej. Crom. Reversa

Fase móvil polar (metanol-agua) movilizará rápidamente los solutos polares. La fase estacionaria no polar atraerá fuertemente los solutos no polares.



---

---

---

---

---

---

---

---

## MTTLC

- 1 Limpieza o extracción
- 2 Separación de las drogas
- 3 Detección de las drogas



---

---

---

---

---

---

---

---

## Etapas MTTLC

- 1 Limpieza o extracción
- 2 Separación de las drogas
- 3 Detección de las drogas



---

---

---

---

---

---


---


---



## Limpieza o extracción



\* **Selectiva** mínimo de productos no deseados 

\* **Limpia** >>>>> Concentrada 



---

---

---

---

---


---


---

---

## Limpieza o extracción



\* **Selectiva** ..... mínimo de productos no deseados 

\* **Limpia** >>>>> Concentrada 



- \* **Cantidad de muestra ( 2- 5 mL)**
- \* **pH fase acuosa**
- \* **Solvente de extracción**

---

---

---

---

---

---

---

---

## Limpieza o extracción



\* **Selectiva** ...

\* **Limpia** >>>>

- \* pH 3 fracción ácida
- \* pH 9,5 fracción básica
- \* pH 5-6 fracción neutra
- \* fracción conjugada
- ...optimizar la recuperación y eliminar la mayor cantidad de interferentes.

- \* **Cantidad de muestra ( 2-5 mL)**
- \* **pH fase acuosa**
- \* **Solvente de extracción**



---

---

---

---

---

---


---

---


## Limpeza o extracción

1

### Concentración

\* evitar pérdida de drogas por: 

- oxidación al aire o luz
- adsorción paredes del vidrio
- volatilización

\*  $t^{\circ} < 50^{\circ} C^*$ , luz difusa\*, \* corriente de  $N_2$  



---

---

---

---

---

---

---


---

## Separación de las drogas

2

### Concentración

\* placas convencionales cortadas a 10cm 

\* aplicación de extractos concentrados 



---

---

---

---

---

---

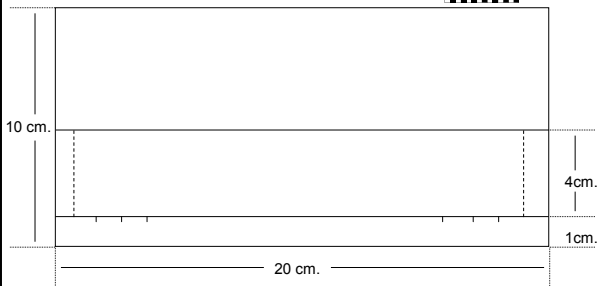
---

---

## Diagrama de aplicación de muestras y estándares

2

Cromatoplasmas 60F254 Merck



---

---

---

---

---

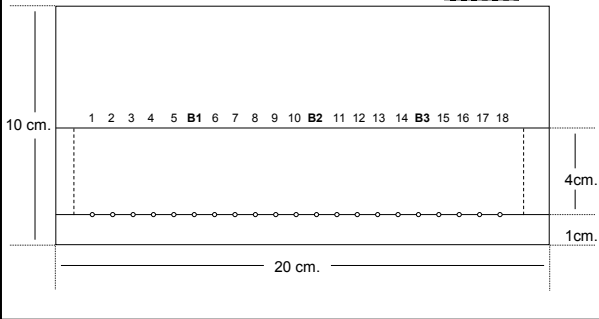
---

---

---

## Diagrama de aplicación de muestras y estándares

2



---

---

---

---

---

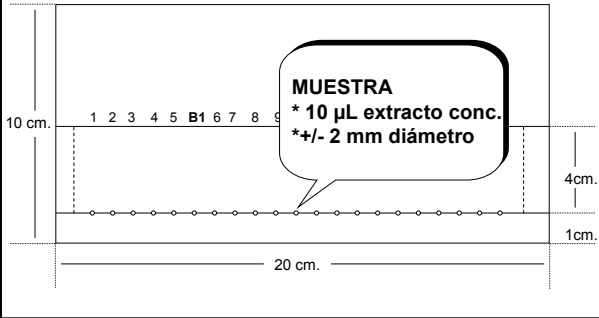
---

---

---

## Diagrama de aplicación de muestras y estándares

2



---

---

---

---

---

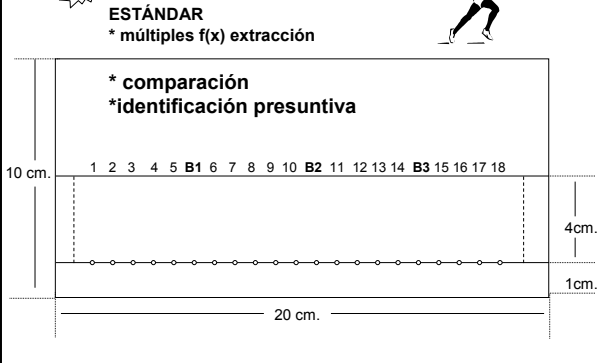
---

---

---

## Diagrama de aplicación de muestras y estándares

2



---

---

---

---

---

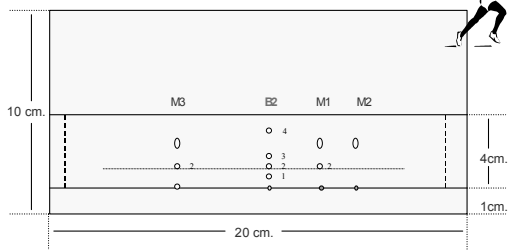
---

---

---

## Diagrama de cromatoplaaca con estandar B2

1 morfina, 2 nicotinamida, 3 cafeína, 4 fencanfamina



---

---

---

---

---

---

---

---

## Desarrollo



\* solvente de desarrollo

\* distancia



---

---

---

---

---

---

---

---

## Desarrollo



\* solvente de desarrollo

\* distancia

...de acuerdo al tipo de extracto que se analiza.



---

---

---

---

---

---

---

---

## Desarrollo

2

\* solvente de desarrollo

\* distancia 



---

---

---

---

---

---

---

---

## Desarrollo

2

\* solvente

\* distancia 

la velocidad del solvente disminuye en la distancia y la mancha se hace difusa.....



---

---

---

---

---

---

---

---

## Desarrollo

2

\* solvente

\* distancias y tiempos cortos 



La velocidad del solvente disminuye en la distancia y la mancha se hace difusa..... preferir distancias y tiempos cortos siempre que se obtengan buenas separaciones.

---

---

---

---

---


---

---

---

### Selección del solvente de desarrollo

2

- perfil de requisitos 
- material lastre
- residuos



**\*gran pureza, \*estabilidad,  
\*buena miscibilidad, \*baja  
toxicidad, \*baja viscosidad  
y \*buena separación**

---

---

---

---

---


---

---

---

### Selección del solvente de desarrollo

2

- perfil de requisitos
- material lastre 
- residuos



**Drogas deben quedar en la  
parte media del cromatograma**

---

---

---

---

---


---

---

---

### Selección del solvente de desarrollo

2

- perfil de requisitos
- material lastre
- residuos 



**...de acuerdo al tipo  
de residuo**

---

---

---

---

---


---

---

---

### Selección del solvente de desarrollo

2

- perfil de requisitos
- material lastre
- residuo ácido (A) 



\*CHCl<sub>3</sub>/MeOH/Ac. Acético (9:0.8:0.2)  
\*CHCl<sub>3</sub>/Ciclohexano/Ac. Acético (4:4:2)

---

---

---

---

---


---

---

---

### Selección del solvente de desarrollo

2

- perfil de requisitos
- material lastre
- residuo básico (B) 



\*Davidow modif., Acetato de etilo/MeOH/NH<sub>4</sub>OH  
(8.5:1:0.6)  
\*MeOH/NH<sub>4</sub>OH (10:0.15)

---

---

---

---

---


---

---

---

### Selección del solvente de desarrollo

2

- perfil de requisitos
- material lastre
- residuo conjugado básico(AH) 



\*benceno/acetona(9.5:0.5)  
\*ciclohexano/acetona(9:1)

---

---

---

---

---

---

---

---

## Selección del solvente de desarrollo

2

- perfil de requisitos
- material lastre
- residuo conjugado básico(BH) ←



**\*Davidow modificado**  
**\*CHCl<sub>3</sub>/MeOH/ác. propiónico**  
**(7.2:1.8:1)**

---

---

---

---

---

---

---

---

## Selección del solvente de desarrollo

2

- perfil de requisitos
- material lastre
- residuo(EP) ←

**\*Davidow modificado, acetato de etilo/MeOH/NH<sub>4</sub>OH**  
**(8.5:1:0.6)**  
**\*CHCl<sub>3</sub>/MeOH/Acido Propiónico (7.2:1.8:1)**



---

---

---

---

---

---

---

---

## Etapas MTTLC

- 1 Limpieza o extracción
- 2 Separación de las drogas
- 3 Detección de las drogas



---

---

---

---

---

---

---

---



## Detección de las drogas

3

componentes normales  
del extracto biológico



DROGAS

---

---

---

---

---

---

---

## Detección de las drogas

3

componentes normales  
del extracto biológico



DROGAS



**COMBINACIONES DE REACTIVOS  
EN SECUENCIAS PREDETERMINADAS**

---

---

---

---

---

---

---

## Detección de las drogas

3

**COMBINACIONES DE REACTIVOS  
EN SECUENCIAS PREDETERMINADAS**



- \* UV
- \* Ac. Acético 5%
- \* Fluorescamina
- \* Marquis
- \* Mandelin
- \* calor
- \* diazo

---

---

---

---

---

---

---

### Detección de las drogas

3

### COMBINACIONES DE REACTIVOS EN SECUENCIAS PREDETERMINADAS



- \* UV
- \* Fluorescamina
- \* iodo
- \* ninhidrina
- \* calor
- \* Dragendorff
- \* CuCl<sub>2</sub>

---

---

---

---

---

---

---

---

### Detección de las drogas

3

### COMPARACIÓN CON ESTÁNDARES



Reacciones de absorción/fluorescencia, manchas coloreadas..... caracterización de la droga o grupos de drogas (fluorescencia luz UV, color, Rf).

---

---

---

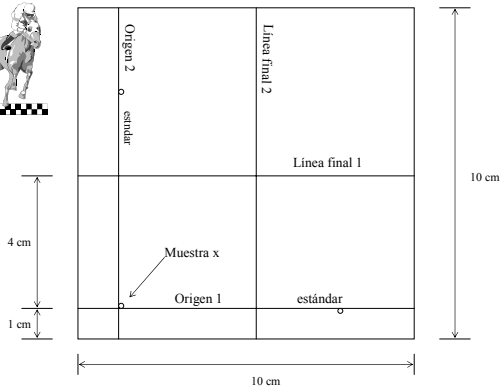
---

---

---

---

---



---

---

---

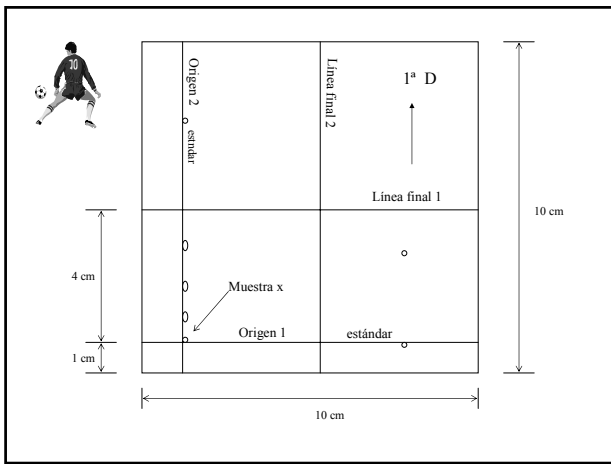
---

---

---

---

---




---

---

---

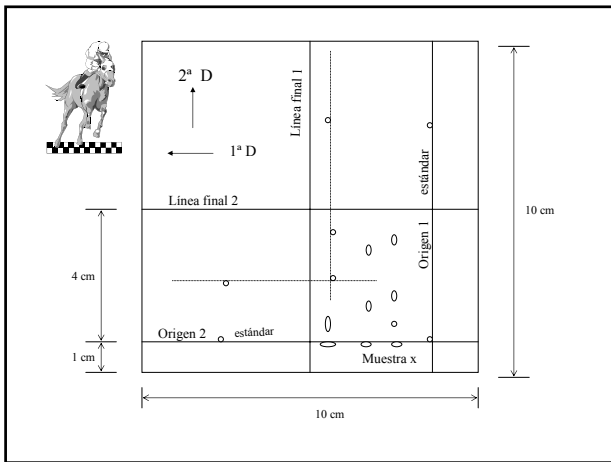
---

---

---

---

---




---

---

---

---

---

---

---

---

**CONCLUSIONES MTTLC**

**La técnica de MTTLC puede separar perfectamente (fluorescencia luz UV, color, Rf) las diferentes drogas.**

---

---

---

---

---

---

---

---

### CONCLUSIONES MTTLC

La técnica de MTTLC puede separar perfectamente (fluorescencia luz UV, color, Rf) las diferentes drogas.

Las secuencias de revelado entregan una gran cantidad de información (15 a 18 muestras simultáneas).

---

---

---

---

---

---

---

---

### CONCLUSIONES MTTLC

La técnica de MTTLC puede separar perfectamente (fluorescencia luz UV, color, Rf) las diferentes drogas.

Las secuencias de revelado entregan una gran cantidad de información (15 a 18 muestras simultáneas).

La correcta interpretación de la información analítica permite discriminar con certeza si una mancha tiene su origen en una droga o en un componente normal de la orina.

---

---

---

---

---

---

---

---

## Microtécnica en capa fina



lab.análisis antidoping/drogas de abuso. Universidad de Chile

---

---

---

---

---

---

---

---