

Introducción de una nueva mezcla de solventes en la cromatografía de capa delgada

Introduction of a new mixture of solvents in Thin Layer Chromatography

Lic. Elena Rodríguez Castro, Lic. Octavio del Sol Ortega, Lic. Yaimara Sulroca González, Téc. José Delgado de los Ríos

Centro Nacional de Toxicología. La Habana. Cuba.

RESUMEN

Introducción: la cromatografía de capa delgada constituye uno de los métodos de elección para la detección de fármacos presentes en muestras de fluidos biológicos. En ella la fase móvil es un solvente o una mezcla de ellos. Según la constante de disociación de cada fármaco, se utiliza una fase móvil específica; para las drogas ácidas se emplea la mezcla cloroformo:acetona (80:20). El cloroformo está clasificado como cancerígeno, mutagénico y teratógeno, por lo que es conveniente sustituirlo por otros solventes menos agresivos.

Objetivo: introducir una mezcla de solventes menos tóxica y de menor costo que la de uso habitual en la fase móvil de la cromatografía de capa delgada y utilizar la mitad del volumen de los solventes.

Métodos: se sustituyó el cloroformo, en una ocasión por el diclorometano y en otra, por el dicloroetano; ambos solventes son menos tóxicos que el cloroformo. Se determinaron los R_f de los patrones de medicamentos de referencia suministrados por la Industria Farmacéutica Cubana en los nuevos sistemas de solventes. Se analizó el costo al utilizar las variantes propuestas.

Resultados: se obtuvieron nuevos valores de R_f con los solventes introducidos y un ahorro de 17,3 y de 40,5 % cuando se usó el diclorometano y dicloroetano, respectivamente.

Conclusiones: la introducción de las nuevas mezclas de solventes en sustitución del

cloroformo en la cromatografía de capa delgada, presenta buenos resultados y se obtiene un ahorro considerable en moneda libremente convertible.

Palabras clave: cloroformo, diclorometano, dicloroetano, cromatografía de capa delgada, fase móvil, solventes, toxicidad, Rf.

ABSTRACT

Introduction: thin Layer Chromatography (TLC) is one of the choice methods for detecting pharmaceuticals in samples of biological fluids. In it, the mobile phase is a solvent or a mixture of solvents. According to the dissociation constant of each drug, a specific mobile phase is used, for instance, for acid drugs, a mixture of chloroform - ketone is used(80:20). Chloroform is deemed to be cancerigenic, mutagenic and teratogenic , that is why, is convenient to replace it by other less aggressive solvents.

Objective: to introduce a less toxic mixture of solvents cheaper than the one usually employed in the mobile phase of TLC and using half of the volume of the solvents.

Methods: chloroform was substituted by dichloromethane in one occasion and also by dichloroethane , both solvents are less toxic than Chloroform. The Rfs of reference drug patterns supplied by the Cuban Pharmaceutical Industry (Industria Farmacéutica Cubana) were determined in the new solvents systems. The costs for the proposed variants were analyzed too.

Results: new values of Rf were obtained with the introduced solvents, as well as, a save of 17.3 and 40.5 % with the introduction of dichloromethane and dichloroethane respectively.

Conclusions: The introduction of the new solvent mixtures aimed at substituting Chloroform in the TLC, rendered good results and a considerable save of money in foreign currency.

Key words: chloroform, dichloromethane, dichloroethane, TLC, mobile phase. solvents, toxicity.

INTRODUCCIÓN

La cromatografía de capa delgada es uno de los métodos de elección para la detección de fármacos presentes en muestras de fluidos biológicos. En este método la fase móvil es un solvente o mezcla de solventes que se mueve por capilaridad (cromatografía horizontal y ascendente) a través de una capa delgada y uniforme, estacionaria y adherida a un soporte que puede ser de vidrio o aluminio.

El disolvente utilizado en la fase móvil debe ser inerte frente a los componentes de la muestra y de la fase estacionaria, tener una elevada pureza, adecuada viscosidad y tensión superficial, ser económico y poseer baja inflamabilidad y toxicidad.

Entre los eluyentes más comunes en este método cromatográfico se encuentran el diclorometano, cloroformo, éter de petróleo, éter dietílico, acetato de etilo, acetona, etanol y metanol.

La toxicidad del cloroformo se manifiesta fundamentalmente a nivel cardíaco (arritmias), nefrológico (necrosis tubular), hepático (neoplasias) y neurológico (embriaguez). Es un producto nocivo e irritante, por absorción produce ansiedad, espasmos y narcosis, y cuando se pone en contacto con la piel es irritante. Por inhalación causa tos y dificultades respiratorias. Su ingestión provoca náuseas y vómitos. Como efectos sistémicos se encuentran el descenso de la tensión arterial, cefaleas, ataxia (alteraciones de la coordinación motriz), trastornos gastrointestinales y efectos sobre el sistema cardiovascular.¹

El diclorometano produce una toxicidad aguda con efectos y síntomas agudos, como son irritación de los ojos, la piel y el tracto respiratorio. Por inhalación puede provocar vértigo, somnolencia, dolor de cabeza, náuseas, pérdida del conocimiento, debilidad y muerte. Después de la exposición por inhalación puede producirse tos e irritación pulmonar. Se considera un posible carcinógeno para los seres humanos, pero hasta el momento no se dispone de información de mutagenicidad.

En las personas que han ingerido o inhalado grandes cantidades de dicloroetano se han descrito desórdenes del sistema nervioso, enfermedades del hígado y del riñón y efectos en los pulmones.² En animales de laboratorio que han respirado o ingerido grandes cantidades de dicloroetano también ha causado desórdenes del sistema nervioso y efectos en el hígado, riñón y el pulmón. Los estudios en animales sugieren que esta sustancia puede dañar el sistema inmunitario. Se ha observado enfermedad del riñón en animales que ingirieron dosis bajas de este producto por largo tiempo. Los estudios en seres humanos que evaluaron si el dicloroetano produce cáncer han sido considerados inadecuados. En animales expuestos por inhalación, ingestión y contacto con la piel, se han observado aumentos en las tasas de cánceres del estómago, la glándula mamaria, el hígado, el pulmón y el endometrio.³

En el Laboratorio de Toxicología Analítica del Centro Nacional de Toxicología (CENATOX) la cromatografía de capa delgada forma parte de la sistemática de urgencia que ayuda a la identificación de medicamentos, drogas, hongos y plaguicidas. La fase móvil que se utiliza para las drogas ácidas está compuesta por una mezcla de cloroformo:acetona (80:20). El cloroformo está clasificado como cancerígeno, mutagénico y teratógeno,⁴⁻⁶ por lo que este trabajo se propuso como objetivos introducir una mezcla de solventes menos tóxica y de menor costo que la de uso habitual en el sistema de solventes para drogas ácidas y utilizar la mitad del volumen. Esta mezcla está compuesta por diclorometano: acetona y dicloroetano:acetona. (40:10).

MÉTODOS

Se determinaron los R_f de todas la drogas ácidas y alcalinas que se analizan en el CENATOX empleando como fase móvil una mezcla de diclorometano:acetona (80:20) y de dicloroetano:acetona (80:20). El R_f es la relación entre la distancia recorrida por una sustancia y la distancia que viaja el frente del solvente, medidas ambas en

centímetros desde el sitio de aplicación de la sustancia en cuestión; su determinación permitió precisar sus valores para los patrones de medicamentos de referencia suministrados por la Industria Farmacéutica Cubana con los nuevos sistemas de solventes empleados.

Se realizó la corrida cromatográfica con ambos sistemas de solventes, en diferentes momentos.

Se determinó el costo de las nuevas fases móviles propuestas en los volúmenes indicados tomando como referencia el valor de la fase móvil con cloroformo. Los precios de los solventes se tomaron del catálogo de la casa comercial Sigma de los EE. UU.⁷

Los reactivos utilizados fueron:

- Diclorometano MERCK Uvasol, dicloroetano MERCK Uvasol, acetona SIGMA-ALDRICH y sílica gel G-60 SIGMA.

- Patrones de medicamentos de referencia suministrados por la Industria Farmacéutica Cubana (hipnóticos, barbitúricos, neurolépticos, tranquilizantes o ansiolíticos, timolépticos, anticonvulsivantes, antihistamínicos, estimulantes del sistema nervioso central, analgésicos, antipiréticos, relajantes de fibra estriada, simpaticomiméticos, antiinflamatorios no esteroideos, antiparkinsonianos, anticolinérgicos y drogas de abuso.

- Todos estos patrones se prepararon disolviendo 10 mg del patrón en 3 L de metanol SCHARLAU P.A.

- Reveladores: Mandelín, cloruro férrico, sulfato de mercurio, difenil carbazona, FPN, solución de Dragendorf, iodo platinato, ludi tender, van hur.

- Permanganato de potasio,

- Verde bromocresol.⁵

El procedimiento utilizado fue el siguiente:

1. Preparar la cámara cromatográfica con 40 mL de diclorometano y 10 mL de acetona.
2. Puntear en la placa los patrones de medicamentos de referencia.
3. Colocar la placa en la cámara cromatográfica.
4. Retirar la placa y esperar a que seque.
5. Asperjar con los distintos reveladores.
6. Determinar el R_f de cada droga estudiada.
7. Realizar el mismo procedimiento con el dicloroetano.

RESULTADOS

En la [tabla](#) aparecen los valores de Rf obtenidos empleando dos nuevos solventes orgánicos en el sistema específico para las drogas ácidas.

Los costos de los nuevos solventes incorporados son:

- Costo de la fase con cloroformo: \$ 2,76 (A).
- Costo de la fase con diclorometano: \$ 2,28 (B).
- Costo de la fase con dicloroetano: \$ 1,64 (C).

Todos los precios están expresados en moneda libremente convertible. La diferencia del costo entre (A) y (B) es de \$0,48 y entre (A) y (C) de \$1,12.

La diferencia entre los precios de cloroformo y el diclorometano produjo una disminución de 17,3 %. De igual forma para el dicloroetano, la disminución en el costo fue de 40,5 %. Con el uso de los solventes a la mitad de su volumen, la disminución del costo es de 80 % cuando se usa el dicloroetano, teniendo en cuenta que este reactivo es menos costoso.

DISCUSIÓN

El cloroformo es un solvente polar, a diferencia del diclorometano y dicloroetano que presentan una polaridad intermedia, debido a los efectos inductivos (I) de ambas moléculas de cloro que provocan una disminución de la densidad electrónica en el átomo de carbono, lo que conlleva a que existan diferencias entre los valores de Rf obtenidos con los distintos sistemas empleados, no obstante, permiten la perfecta identificación de los fármacos.^{1,2}

La literatura informa que la toxicidad de los nuevos solventes empleados en relación con la del cloroformo, es más baja, lo que brinda una seguridad al analista y se logra una identificación adecuada de las drogas de carácter ácido y alcalina como fenotiacinas, imipramina, carbamazepina, verapamilo, captopril, dipirona, meclizine y cafeína.

Finalmente se puede concluir que la mezcla de diclorometano con acetona y de dicloroetano con acetona en volúmenes (80:20), en sustitución del cloroformo en la fase móvil de la cromatografía de capa delgada para drogas ácidas, proporciona buenos resultados en los valores de Rf de los patrones de medicamentos de referencia probados. Si empleamos la mitad del volumen de los solventes obtenemos un ahorro en moneda libremente convertible, siendo este mayor en el caso del dicloroetano, por ser menos costoso.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Enfermedades ocupacionales: guía para su diagnóstico. Washington: OPS; 1989.
2. Albiano N. Toxicología Laboral. Buenos Aires: Superintendencia de Riesgos del Trabajo; 1999.
3. Secretaría de Riesgos del Trabajo de Argentina. Resolución 306/03. Buenos Aires: SRT. [citado 12 Jun 2011]. Disponible en: <http://www.srt.gov.ar>
4. Flanagan RG, Braitwaite RA, Brown SS, Widdop B, Wolf FA. Basic Analytical Toxicology. Geneva: WHO; 1995.
5. Clarke D, editor. Clarke's analysis of drugs and poisons. London: Pharmaceutical Press; 2004.
6. Dierksmeier G. Métodos cromatográficos. La Habana: Editorial Científico-Técnica; 2005.
7. Biochemical & Reagents for life science research. St. Louis: SIGMA; 2004.

Recibido: 2 de julio de 2011.

Aprobado: 8 de agosto de 2011.

Lic. *Elena Rodríguez Castro*. Centro Nacional de Toxicología (CENATOX). Calle 114 y Avenida 31, Gaveta Postal 1404, municipio Marianao, La Habana, Cuba. Correo electrónico: elenarc@infomed.sld.cu

Tabla. Comparación de los Rf obtenidos en los sistemas de solventes

Medicamentos	Cloroformo:acetona	Diclorometano:acetona	Dicloroetano:acetona
Fenobarbital	50	75	67
Fenitoina	43	60	57
Meprobamato	11	45	23
Ibuprofeno	50	52	70
Naproxeno	30	35	66
Piroxicam	25	72	83
Furosemida	4	17	17
Carbamazepina	33	46	49
Verapamilo	25	10	15
Captopril	5	0	24
Dipirona	10	0	22
Meclizine	74	76	80
Cafeína	0	29	34
Clorpromacina	8	16	0
LevomEPROMACINA	11	28	0
Tioridazina	7	23	5
Trifluoperacina	6	10	0
Imipramina	5	19	0

[Regresar](#)