



---

**Universidad de Valladolid**

Facultad de Ciencias

Trabajo Fin de Grado

Grado en Química

**Estudio y determinación de  
3,4-Dimetoxifeniletamina**

*Autor: Alba Deza López*

*Tutores:*

*Dr. Luís Mariano Deban Miguel*

*(Dpto. Química Analítica)*

*Dr. Jesús Miguel Tejedor Muñoz*

*(Delegación del Gobierno)*

El trabajo que se expone a continuación se ha llevado a cabo por la estudiante de Grado en Química de la Universidad de Valladolid ALBA DEZA LÓPEZ, en el Departamento de Química Analítica de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Valladolid y en la Delegación del Gobierno, Área de Sanidad de Castilla y León, bajo la dirección del Dr. LUIS MARIANO DEBAN MIGUEL y el Dr. JESÚS MIGUEL TEJEDOR MUÑOZ.

## ÍNDICE

1. Resumen .....	4
2. Introducción .....	5
3. Antecedentes bibliográficos .....	7
4. Características físico-químicas de los compuestos estudiados .....	9
5. Objetivos .....	12
5.1. Técnicas para el estudio y determinación de DMPEA.....	12
5.1.1. Espectroscopia de absorción molecular UV/Vis .....	12
5.1.2. Cromatografía .....	12
6. Experimentación y resultados .....	13
6.1. Reactivos.....	13
6.2. Equipos empleados.....	13
6.3. Preparación de patrones de DMPEA .....	14
6.4. Estudio de la capacidad de absorción por espectroscopia UV-Vis.....	14
6.5. Cromatografía líquida de alta resolución con detector UV-Vis.....	19
6.5.1. Estudio fase móvil .....	19
6.5.2. Separación de DMPEA y 2C-B.....	24
6.6. Cromatografía de gases con detector de ionización de llama .....	27
6.6.1. Estudio de las condiciones cromatográficas .....	27
7. Conclusiones .....	30
8. Bibliografía .....	31
9. Anexos.....	33
9.1. Cromatografía líquida de alta resolución .....	33
9.1.1. Determinación de DMPEA en agua .....	33
9.1.2. Determinación de DMPEA en etanol .....	37
9.1.3. Determinación de los otros compuestos estudiados.....	40
9.2. Cromatografía de gases .....	44
9.2.1. Columna HP1 .....	44
9.2.2. Columna BP20 .....	49

# 1. RESUMEN

## Resumen

El 3,4-Dimetoxifeniletamina (DMPEA) es un compuesto análogo de la dopamina, principal neurotransmisor humano, donde los grupos hidroxilo de las posiciones 3 y 4 han sido reemplazados por grupos metoxi. Algunos autores consideran que está implicado en procesos clínicos relacionados con enfermedades mentales.

En este trabajo se desarrollan dos métodos analíticos para su determinación basados en técnicas de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) con detector UV/Vis y cromatografía de gases (CG) con detector de ionización de llama (FID), en presencia de otros compuestos: urea, ácido úrico, cafeína, paracetamol, ácido acetilsalicílico, ibuprofeno y diazepam. Además de 4-bromo-2,5-dimetoxifeniletamina (2C-B), droga de diseño con efectos psicoestimulantes, dada su similitud estructural. Del estudio se concluye la posibilidad de determinación de dicho compuesto, se llevó a cabo por HPLC en un tiempo de análisis no superior a 3 minutos y con un límite de detección de 0,9 ppm. En el caso de CG, el tiempo de análisis fue inferior a 7 minutos y el límite de detección de 1,3 ppm.

## Summary

The 3,4-Dimethoxyphenylethylamine (DMPEA) is a compound analogous to dopamine, main human neurotransmitter, where the hydroxy groups at positions 3 and 4 have been replaced by methoxy groups. Some authors consider that it is involved in clinical processes related to mental illness.

In this work two analytical methods are developed for their determination based on high resolution liquid chromatography techniques (HPLC) with detector UV / Vis and gas chromatography (GC) with flame ionization detector (FID), in the presence of other compounds: urea, uric acid, caffeine, acetaminophen, acetylsalicylic acid, ibuprofen and diazepam. In addition to 4-bromo-2,5-dimethoxyphenylethylamine (2C-B), designer drug with psychostimulant effects, given its structural similarity. The study concluded the possibility of determining said compound, it was carried out by HPLC at a time of analysis not exceeding 3 minutes and with a detection limit of 0,9 ppm. In the case of CG, the analysis time was less than 7 minutes and the limit of detection is of 1,3 ppm.

## 2. INTRODUCCIÓN

El 3,4-dimetoxifeniletamina (DMPEA) es un derivado dimetilado de la dopamina, principal neurotransmisor humano, donde los grupos hidroxilo del anillo aromático han sido reemplazados por grupos metoxi. Algunos autores, Osmond y Smythies, Friedhoff y Van Winkle (1), relacionan esta transmetilación con enfermedades del cerebro, concretamente con la esquizofrenia, sus estudios, se basan en la observación de que las drogas alucinógenas como: el 3,4,5-trimetoxifeniletamina (mescalina), 4-hidroxi-N,N-dimetil-triptamina (psilocina) y la dietilamida del ácido lisérgico (LSD) son químicamente parecidas a algunos neurotransmisores. Según esta teoría, un error congénito del metabolismo puede causar algunos casos de esquizofrenia. Dentro de las sustancias que se forman por transmetilación dentro del organismo están: la bufotenina a partir de la serotonina, la dimetiltriptamina a partir de la triptamina y la 3,4-dimetoxifeniletamina (DMPEA), a partir de la dopamina (2). La vía de síntesis de los principales neurotransmisores, o catecolaminas endógenas, *dopamina* a partir de L-dihidroxitifenilalanina (L-DOPA), a partir de la dopamina *noradrenalina*, que al metilarse por acción de la feniletanolamina-N-metiltransferasa forma la *adrenalina*, se muestra en la figura 1.

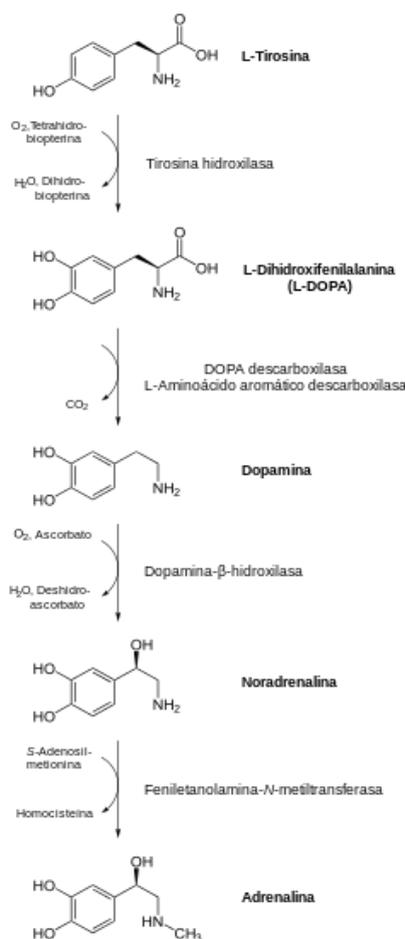


Figura 1. Biosíntesis de las principales catecolaminas <sup>[1]</sup>

Las alteraciones en la biosíntesis de estas catecolaminas parecen explicar ciertos trastornos neurológicos y neuropsiquiátricos. Por ejemplo la depresión se asocia a niveles bajos de estas sustancias, ocurre lo contrario en el caso de ansiedad. Por otra parte, la dopamina parece ejercer un papel esencial en enfermedades como el parkinson y la esquizofrenia. La transformación de dopamina en noradrenalina se produce por la acción de la enzima dopamina- $\beta$ -hidroxilasa, mientras que el DMPEA es un derivado dimetilado de la dopamina. En los enfermos esquizofrénicos, la enzima dopamina- $\beta$ -hidroxilasa esta disminuida respecto a las personas sanas, por lo que la transformación de dopamina en noradrenalina se ve disminuida, aumentando así el nivel de dopamina y en consecuencia el de su derivado dimetilado.



Figura 2. Metilación de la dopamina.

La síntesis de este compuesto ha sido descrita por Alexander Shulgin y Ann Shulgin, tal como se refleja en su libro PiHKAL (3).

### 3. ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS

En 1962, Friedhoff y Van Winkle detectaron 3,4-dimetoxifeniletamina (DMPEA) en la orina de pacientes esquizofrénicos, pero no en la de individuos normales (4), posteriormente, otros autores verificaron que el DMPEA era producido por un alto porcentaje de pacientes con enfermedades mentales (5 y 6) aunque también fue detectado en orina de personas sin este tipo de patología (7); sin embargo, otros estudios no lo detectaron ni en pacientes afectados de dichas patologías ni en personas sanas (8 y 9). Estos trabajos se llevaron a cabo en muestras de orina, previa extracción con cloroformo, por cromatografía en papel.

En 1965 (10) se presenta una correlación entre el DMPEA detectado en orina y el diagnóstico de esquizofrenia, se considera, puede ser debido a la similitud estructural entre el DMPEA y la mescalina, un psicógeno del que ya se tenía un amplio conocimiento sobre su actividad cerebral. Además, una metilación de la 3,4-dihidroxifeniletamina (dopamina) puede inducir a conductas psicóticas, esta metilación, no habitual, da lugar en el organismo a DMPEA, esto se ha constatado "*in vivo*" en algunos animales (5 y 11). La alteración del metabolismo de la dopamina, también se ha observado en algunos pacientes esquizofrénicos (12 y 13).

También se ha demostrado que el DMPEA tiene un efecto depresivo sobre el sistema nervioso central en una gran variedad de animales, al producir un estado de catatonía o acinesia (14 y 15).

En 1967, W. H. Vogel and M. K. Horwitt (16), determinaron mediante cromatografía en capa fina los niveles de DMPEA en cerebro de ratas.

C. VanderWende y J. C. Johnson (17), estudiaron el efecto del DMPEA sobre la actividad antihistamínica, puesto que se había observado que los enfermos de esquizofrenia tenían una incidencia mucho menor de respuestas alérgicas en comparación con la población normal, sin embargo, los resultados indicaron que el DMPEA como tal compuesto, no presenta actividad antihistamínica.

En 1969, Elnora Van Winkle et al. (18), estudiaron en ratas algunos metabolitos derivados de la acetilación del DMPEA, el N-acetil-3,4-dimetoxifeniletamina (NADMPEA), demostrando que este compuesto es diez veces más potente para producir comportamientos hipocinéticos. La identificación se realizó a partir de datos obtenidos por cromatografía en capa fina (TLC)

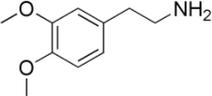
N. Narasimhachari et al. (19), propusieron el uso del disulfuro de carbono para la separación de las aminas primarias. El DMPEA-NCS presenta fluorescencia bajo luz UV por lo que puede utilizarse para la identificación y cuantificación de DMPEA en muestras de orina. Además, este derivado también se puede estudiar por diferentes técnicas cromatográficas.

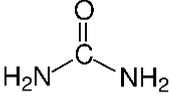
En 1975, Riceber, L. J. et al. (20) desarrollaron un radioinmunoensayo sensible y específico capaz de medir 100 pg de DMPEA que es al menos 1/5000 de la cantidad previamente requerida para identificación y cuantificación por cromatografía de gases o fluorescencia. Compuestos que tienen un núcleo de 3,4-dimetoxifenilo, reaccionan de forma cruzada con el anticuerpo, por lo que es necesario separar el DMPEA de dichos derivados mediante cromatografía líquida antes de la cuantificación por radioinmunoensayo.

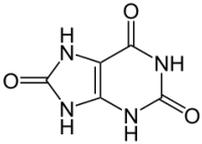
En los últimos años, la popularidad de las drogas sintéticas ha aumentado y los compuestos relacionados con la feniletilamina son drogas comunes de abuso. Son muchos los métodos de separación que se utilizan para su determinación: cromatografía de líquidos con detector UV/Vis (HPLC-UV), electroforesis capilar (CE), cromatografía de gases con detector de masas (GC-MS) y cromatografía de líquidos con detector de masas (HPLC-MS), así, en 2012, Hadir M. M., et al. (21) Hacen un estudio sobre la determinación de regioisómeros del DMPEA mediante métodos de GC-MS y cromatografía de gases con detector infrarrojo GC-IRD, los resultados obtenidos les permiten identificar todos los compuestos sin necesidad de derivatización química.

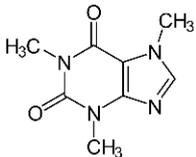
#### 4. CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DE LOS COMPUESTOS ESTUDIADOS

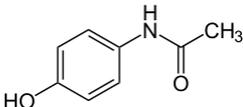
Dadas las referencias bibliográficas indicadas en el apartado anterior, un objetivo interesante, sería la posible determinación de DMPEA en presencia de otros compuestos en muestras biológicas como la orina, hemos procedido por lo tanto al estudio de los compuestos que están presentes en este medio, tales como la urea y el ácido úrico (la orina contiene aproximadamente un 95 % de agua, un 2 % de sales minerales y 3 % de urea y ácido úrico). También se han realizado medidas con algunos de los analgésicos y estimulantes más comunes que pudieran encontrarse opcionalmente en este medio.

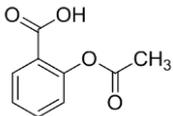
DMPEA	
	Líquido viscoso de color amarillo claro Fórmula: $C_{10}H_{15}NO_2$ Peso molecular: 181,23 g/mol Punto de ebullición: 188°C Miscible en agua y en etanol

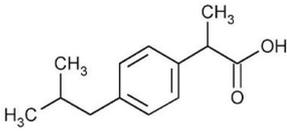
Urea	
	Polvo de color blanco Fórmula: $CON_2H_4$ Peso molecular: 60.06 g/mol Punto de fusión: 133°C Solubilidad en agua: 480 g/L Solubilidad en etanol: 100 g/L

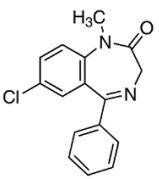
Ácido úrico	
	Sólido cristalino de color beige Fórmula: $C_5H_4N_4O_3$ Peso molecular: 168,11 g/mol Punto de fusión: >300°C Solubilidad en agua: 200 g/L Solubilidad en etanol: poco soluble

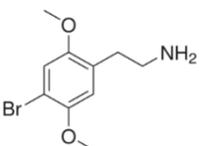
<b>Cafeína</b>	
	<p>Polvo de color blanco  Fórmula: <math>C_8H_{10}N_4O_2</math>  Peso molecular: 194,19 g/mol  Punto de fusión: 234 a 236,5°C  Solubilidad en agua: 16 g/L  Solubilidad en etanol: 15 g/L</p>

<b>Paracetamol</b>	
	<p>Polvo de color blanco.  Fórmula: <math>C_8H_9NO_2</math>  Peso molecular: 151,16 g/mol  Punto de fusión: 167°C  Solubilidad en agua: 14 g/L  Solubilidad en etanol: 13 g/L</p>

<b>Ácido acetilsalicílico</b>	
	<p>Polvo de color blanco  Fórmula: <math>C_9H_8O_4</math>  Peso molecular: 180,16 g/mol  Punto de fusión: 134-136°C  Solubilidad en agua: 2,48 g/L  Solubilidad en etanol: soluble</p>

<b>Ibuprofeno</b>	
	<p>Sólido de color blanco  Fórmula: <math>C_{13}H_{18}O_2</math>  Peso molecular: 206,28 g/mol  Punto de fusión: 77 a 78°C  Solubilidad en agua: 0,021 g/L  Solubilidad en etanol: 60 g/L</p>

<b>Diazepam</b>	
	<p>Sólido de color blanco.  Fórmula: <math>C_{16}H_{13}ClN_2O</math>  Peso molecular: 284,74 g/mol  Punto de fusión: 125 a 126°C  Solubilidad en agua: 0,05 g/L  Solubilidad en etanol: 41 g/L</p>

<b>4-Bromo-2,5-Dimetoxifeniletamina (2C-B)</b>	
	<p>Pastilla con color  Fórmula: <math>C_{10}H_{14}BrNO_2</math>  Peso molecular: 260,13 g/mol  Punto de fusión:  Solubilidad en agua: 0,199 g/L  Solubilidad en etanol: 3 g/L</p>

## 5. OBJETIVOS

Desarrollo de una metodología analítica para la determinación de DMPEA por técnicas cromatográficas de líquidos y gases en presencia de otros compuestos que posiblemente puedan encontrarse en un medio biológico como la orina.

- a) Realizar un estudio de las longitudes de onda óptimas de absorción del DMPEA mediante espectroscopia UV-Vis, para su posterior determinación por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) con detector UV-Visible,
- b) Realizar un estudio por cromatografía de gases (CG) con detector de ionización de llama (FID), para su identificación y determinación

### 5.1. TÉCNICAS PARA EL ESTUDIO Y DETERMINACIÓN DE DMPEA

#### 5.1.1. ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN MOLECULAR UV/VIS

La espectroscopia de UV-Vis nos permite obtener los espectros de absorción de los compuestos estudiados ya que son compuestos orgánicos que pueden absorber radiación en estas regiones del espectro electromagnético. El espectro de absorción de una molécula en solución constituye una característica propia de la molécula que depende de sus propiedades estructurales y del disolvente, pudiendo así, ser detectadas.

#### 5.1.2. CROMATOGRAFÍA

La cromatografía es un método físico de separación en el cual los diferentes componentes de una muestra se distribuyen entre una fase estacionaria de elevada superficie específica y una fase móvil que la atraviesa. La fase móvil, en cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) es un líquido y en cromatografía de gases (CG) es un gas.

En la cromatografía de líquidos de alta resolución, la muestra en disolución, se inyecta en la columna y seguidamente se pasa una fase móvil de forma continua. Los componentes de la muestra se separan en función de su interacción con la columna y fase móvil.

En la cromatografía de gases, la muestra se introduce en estado líquido o gaseoso, es vaporizada y transportada por una fase móvil de gas inerte (nitrógeno o helio) a través de una columna donde se produce la separación de los componentes de la muestra en función de las características de la misma.

En ambos casos, una vez separados los componentes de la muestra, llegan al detector, UV/Vis en el caso de cromatografía de líquidos y FID en el de gases, proporcionando una señal que es registrada y visualizada en un lo que se conoce como cromatógrama.

## 6. EXPERIMENTACIÓN Y RESULTADOS

### 6.1. REACTIVOS

- DMPEA de la casa Sigma Aldrich, con una pureza del 97%.
- Urea de la casa Sigma Aldrich, con una pureza 98%.
- Ácido úrico de la casa Sigma Aldrich, grado analytical standard.
- Cafeína de la casa Sigma Aldrich, grado Sigma Reference Standard.
- Paracetamol de la casa Sigma Aldrich, European Pharmacopoeia (EP) Reference Standard.
- Ácido acetilsalicílico de la casa Sigma Aldrich, grado analytical standard.
- Ibuprofeno de la casa Sigma Aldrich, European Pharmacopoeia (EP) Reference Standard.
- Diazepam (vial 10 mg de diazepam/2 ml, Excipientes: 170,5 mg de etanol, 31,4 mg de alcohol bencílico, 828 mg de propilenglicol, 5 mg de ácido benzoico (E-210), 95 mg de benzoato de sodio (E-211)).
- 2C-B proporcionado por el Área de Sanidad de la Delegación del Gobierno.
- Agua desionizada.
- Etanol absoluto casa Panreac, grado ACS, ISO.
- Acetonitrilo casa Panreac gradiente para cromatografía líquida.
- Metanol casa Panreac tipo (UV-IR-HPLC isocratic) de calidad PAI-ACS.
- Ácido acético, solución para HPLC.

### 6.2. EQUIPOS EMPLEADOS

- Balanza Sartorius Entris  $\pm 0,00001$  g
- Material de vidrio de la casa Scharlau

<b>Espectrofotómetro UV-Vis</b>	
Equipo	HEWLETT PACKARD AGILENT 8453
Cubeta	Cuarzo
Lámpara	Wolframio y Deuterio

<b>Cromatógrafo de líquidos de alta resolución</b>	
Equipo	Agilent 1200
Columna	Col KROMAPHASE C18 5.0 $\mu$ m 150mm x 4.6mm

<b>Cromatógrafo de gases</b>	
Equipo	Agilent Technologies 6890N
Columna	GC Capillary Column HP1 100% dimetilpolisiloxano 5m x 0,53mm x 2,65µm GC Capillary Column BP20 100% polietilenglicol 30m x 0,32mm x 0,25µm
Gas portador	Nitrógeno

### 6.3. PREPARACIÓN DE PATRONES DE DMPEA

En agua:

Se pesan 0,1820 g de DMPEA, se disuelven en agua desionizada y se enrasa en un matraz aforado de 100 ml. Se toman alícuotas de esta disolución y se enrasan al volumen que convenga obteniendo disoluciones cuyas concentraciones están comprendidas, entre 0,1 y 20 ppm.

En etanol:

Se pesan 0,1620 g de DMPEA, se disuelven en etanol y se enrasa en un matraz aforado de 100 ml. Se toman alícuotas de esta disolución y se enrasan al volumen que convenga obteniendo disoluciones cuyas concentraciones están comprendidas, entre 0,1 y 20 ppm.

### 6.4. ESTUDIO DE LA CAPACIDAD DE ABSORCIÓN POR ESPECTROSCOPIA UV-VIS

Teniendo en cuenta las características fisicoquímicas del compuesto a determinar como del disolvente utilizado para la preparación de los patrones, y puesto que se va a utilizar un detector UV para su determinación, se decide realizar espectros UV-Vis de los patrones de DMPEA cuyas concentraciones estén comprendidas entre 0,1 y 20 ppm, en el rango de longitudes de onda entre 200 y 800 nm, cuya finalidad es determinar la longitud de onda óptima de absorción para obtener la máxima sensibilidad, selectividad y precisión en las medidas de DMPEA por HPLC. Los resultados se recogen en la figura 3.

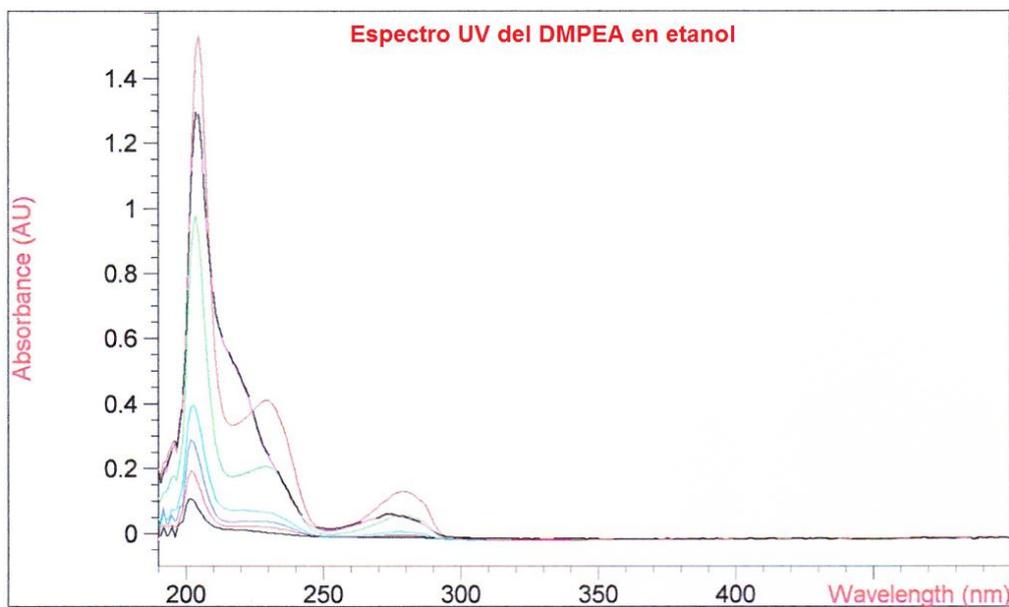
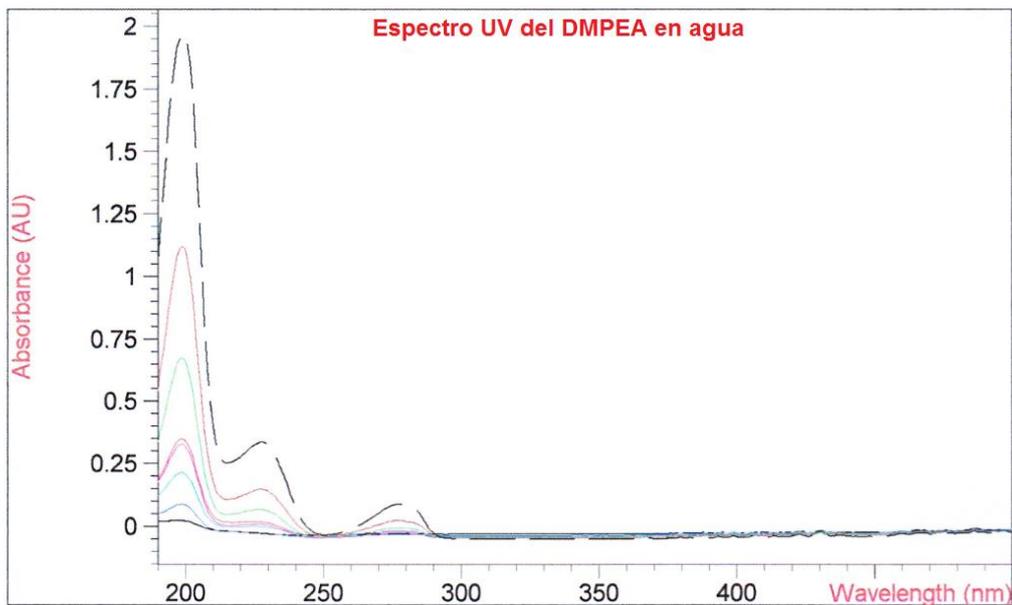


Figura 3. Espectros UV de DMPEA en agua y etanol.

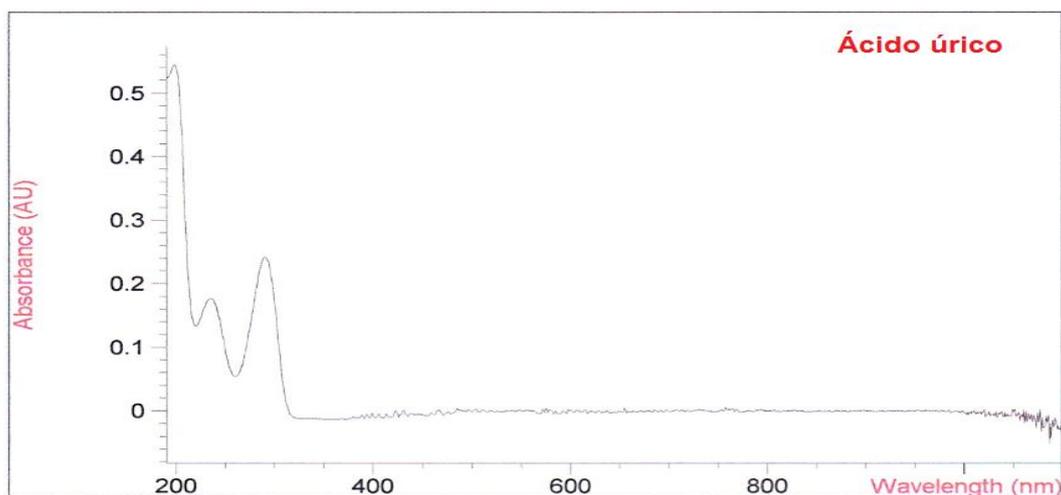
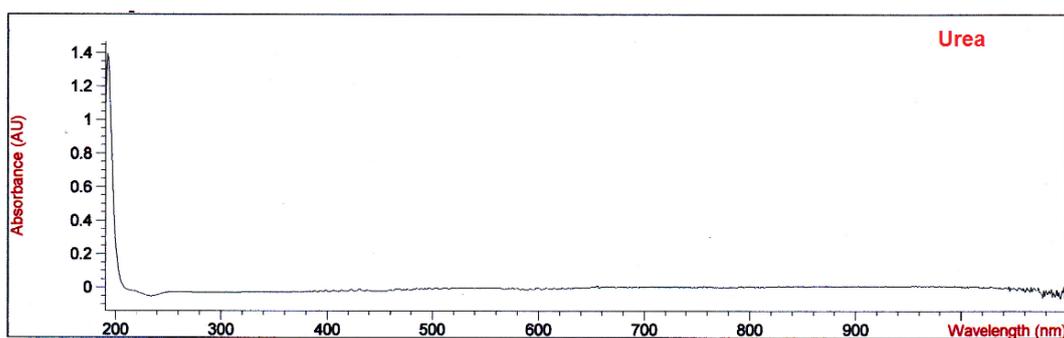
Se observa que en ambos medios aparecen tres bandas de absorción a una longitud de onda de 200, 230 y 280 nm.

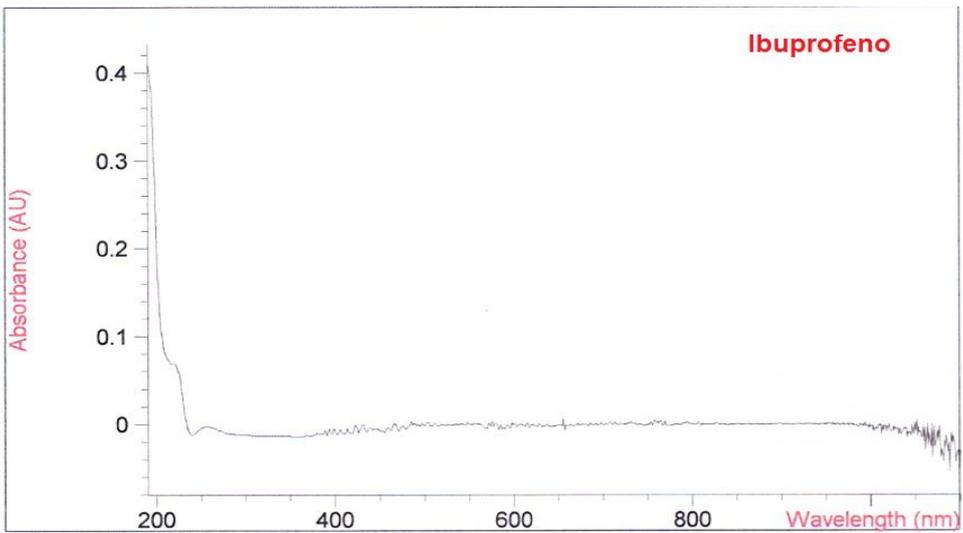
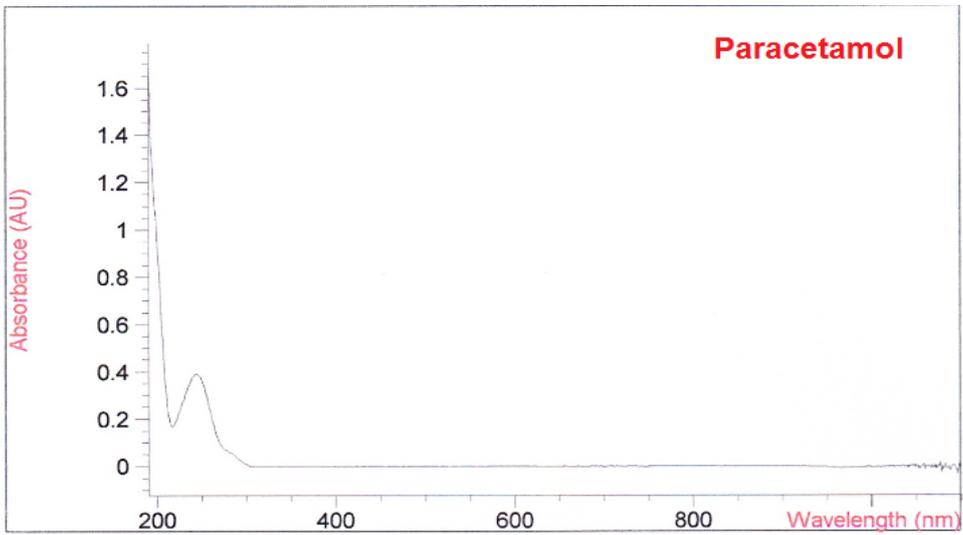
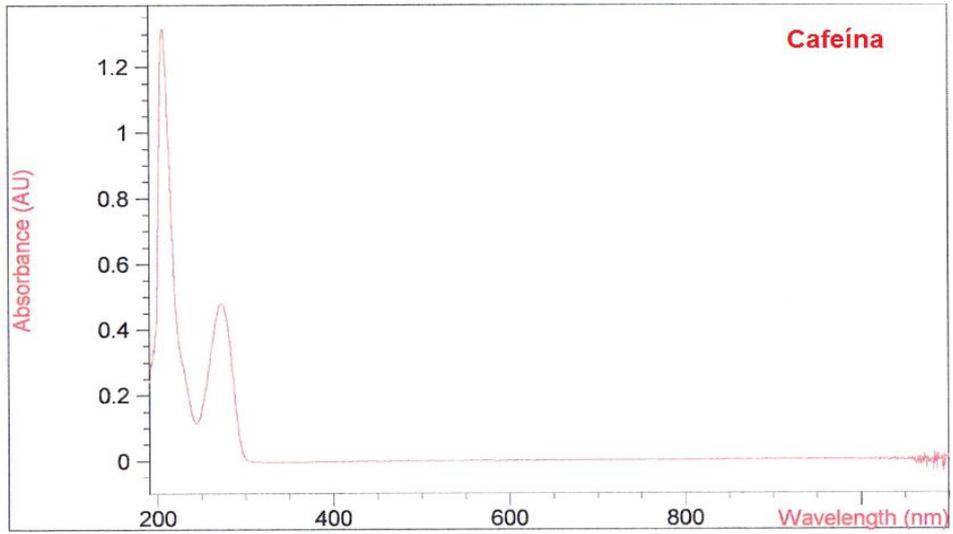
La longitud de onda correspondiente a 200 nm, a pesar de ser la de máxima absorción, no es la más adecuada para trabajar puesto que los otros compuestos que vamos a considerar en el trabajo, absorben también a esta longitud de onda. Por lo que la longitud de onda de trabajo elegida preferentemente va a ser de 230 nm.

Agua			Etanol		
Concentración (ppm)	$\lambda$ (nm)	Absorbancia	Concentración (ppm)	$\lambda$ (nm)	Absorbancia
1,82	200	0,352	1,62	200	0,318
	230	0,050		230	0,052
	280	0,010		280	0,030
18,2	200	2,390	16,2	200	1,800
	230	0,627		230	0,636
	280	0,220		280	0,222

Tabla 1. Datos de absorbancia del DMPEA por espectroscopia UV-Vis

A continuación, de forma análoga al DMPEA, se hizo el estudio de absorción de los compuestos: Urea, ácido úrico, cafeína, paracetamol, ácido acetilsalicílico, ibuprofeno, diazepam y 2C-B. Los resultados se muestran en la Figura 4.





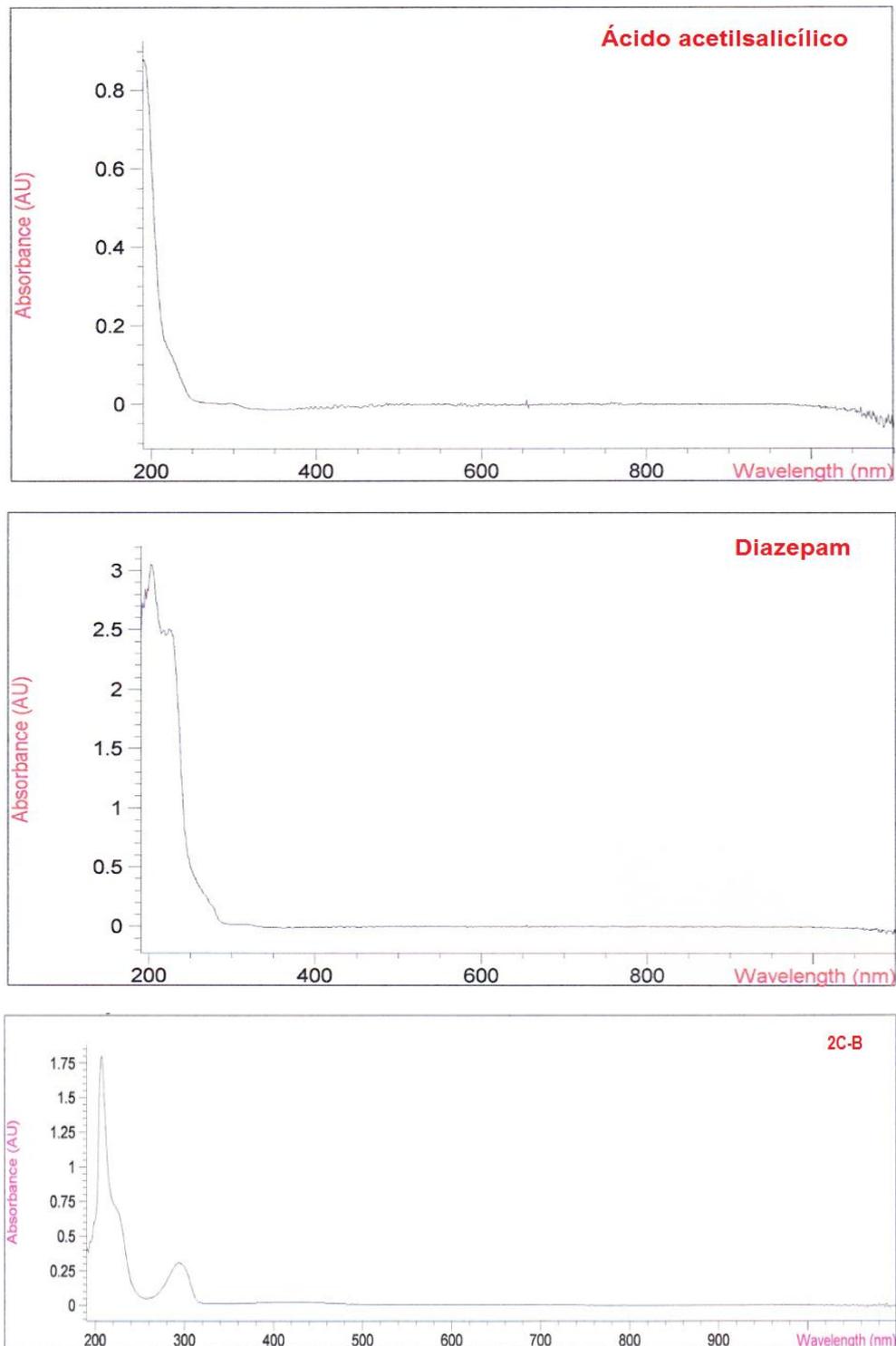


Figura 4. Espectroscopia UV-Vis de: urea, ácido úrico, cafeína, paracetamol, ibuprofeno, ácido acetilsalicílico, diazepam y 2C-B. En concentraciones del orden de las 4 ppm.

Como se puede observar en los espectros, todos los compuestos absorben a 200 nm y aunque bastantes también lo hacen a 230 nm, su respuesta es de mucha menor intensidad, por lo cual vamos a considerar esta para las medidas por HPLC.

## 6.5. CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN CON DETECTOR UV-VIS

Se presenta el desarrollo, y puesta a punto de una metodología analítica por cromatografía líquida de alta resolución para la determinación de DMPEA en presencia de otros compuestos: urea, ácido úrico, cafeína, paracetamol, ácido acetilsalicílico, ibuprofeno, diazepam y 2C-B.

### 6.5.1. ESTUDIO FASE MÓVIL

Teniendo en cuenta las características fisicoquímicas del compuesto a determinar, tanto de polaridad como de absorción de la radiación se decidió ensayar con una fase móvil, en régimen isocrático, conformada por acetonitrilo, agua, metanol y ácido acético 0,01M.

Se fue variando la composición de dicha fase, y en función de dichos estudios, se procede a elegir la composición de fase móvil más adecuada para la determinación de DMPEA, tanto en medio etanol como acuoso.

Los resultados se reflejan a continuación en las tablas 2 y 3.

Acetonitrilo/Agua/Metanol/Ácido acético 0,01M	Tiempo de retención (min)
90/0/0/10	1,696
86/4/0/10	1,719
84/6/0/10	1,742
80/10/0/10	1,790
75/10/5/10	1,864
70/10/10/10	2,022
60/20/10/10	2,245
50/30/10/10	2,464
5/75/10/10	10,385

Tabla 2. Variaciones de la fase móvil para patrones de DMPEA en agua.

Acetonitrilo/Agua/Metanol/Ácido acético 0,01M	Tiempo de retención (min)
50/30/10/10	1,757
40/40/10/10	1,764
30/50/10/10	1,805
20/60/10/10	1,825
10/70/10/10	1,864

Tabla 3. Variaciones de la fase móvil para patrones de DMPEA en etanol.

En medio etanol, no se obtuvo en prácticamente ningún caso una buena resolución del pico, ver anexos (9.1.2).

En función de los resultados obtenidos, en cuanto a respuesta y resolución de pico, se procede a elegir como medio para la medida de las muestras el acuoso y fase móvil, Acetonitrilo/Agua/Metanol/Ácido acético 0,01M: 50/30/10/10; que da señal para el DMPEA a 2,4 minutos como se observa en la figura 5.

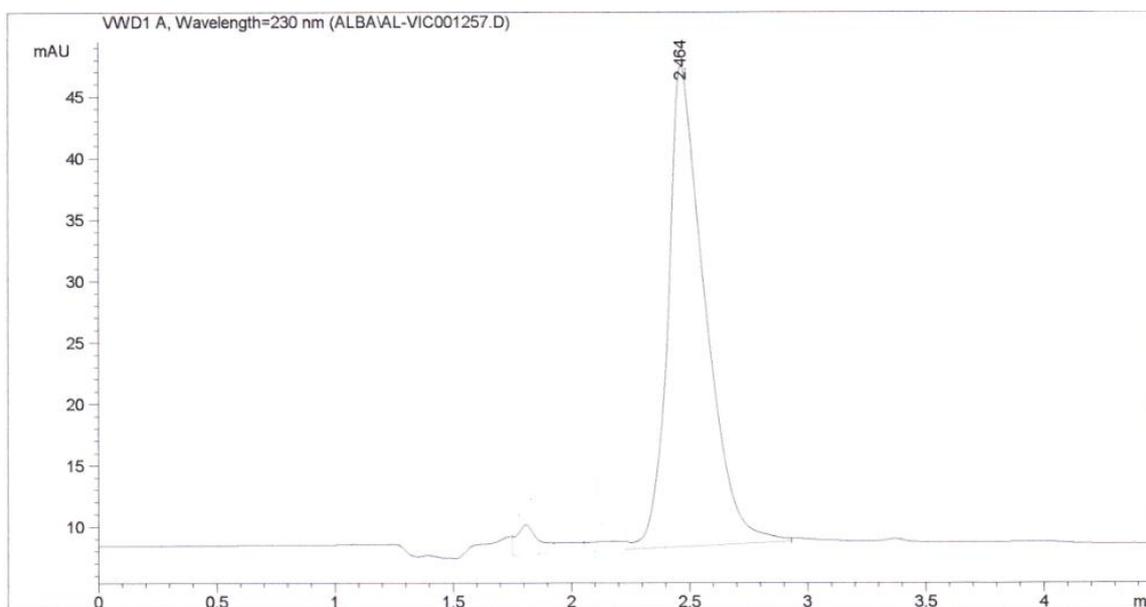


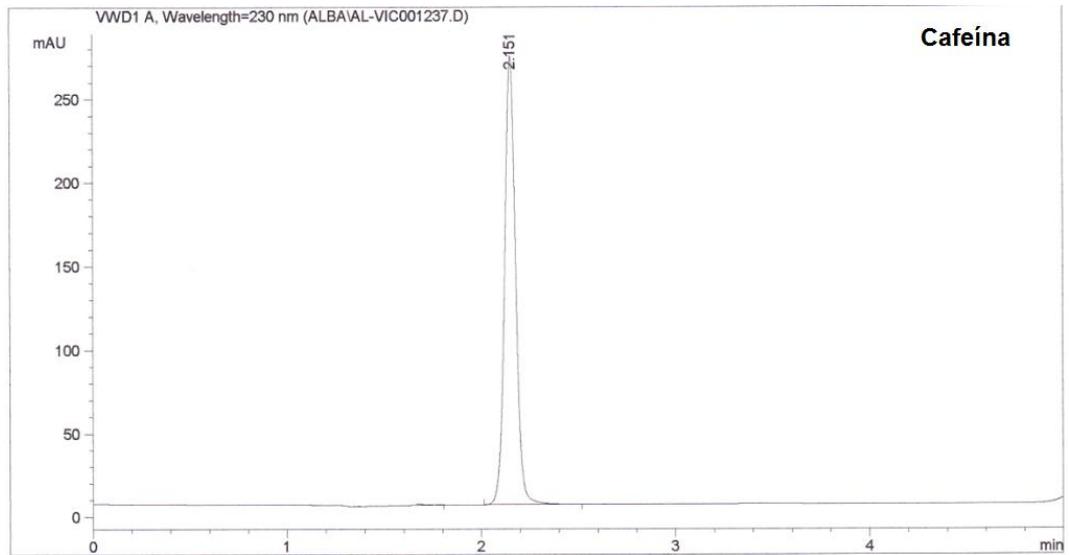
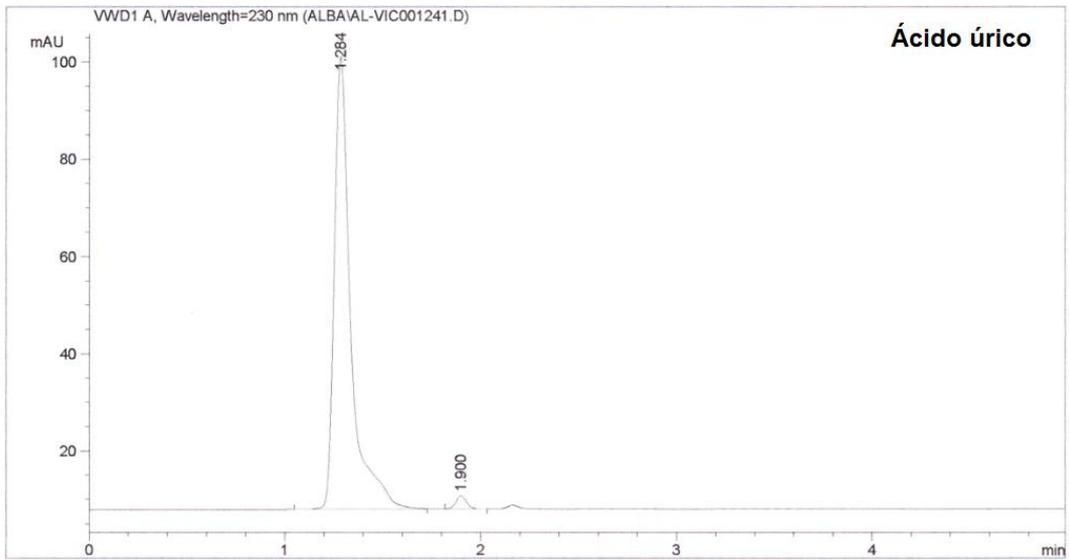
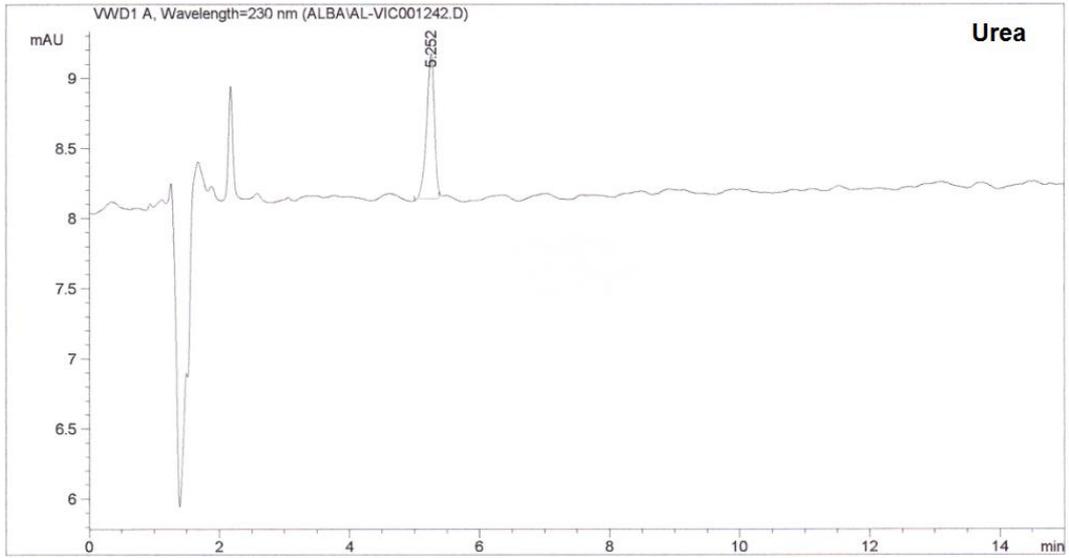
Figura 5. Determinación de DMPEA con fase móvil Acetonitrilo/Agua/Metanol/Ácido acético 0,01M: 50/30/10/10 y  $\lambda$  230 nm.

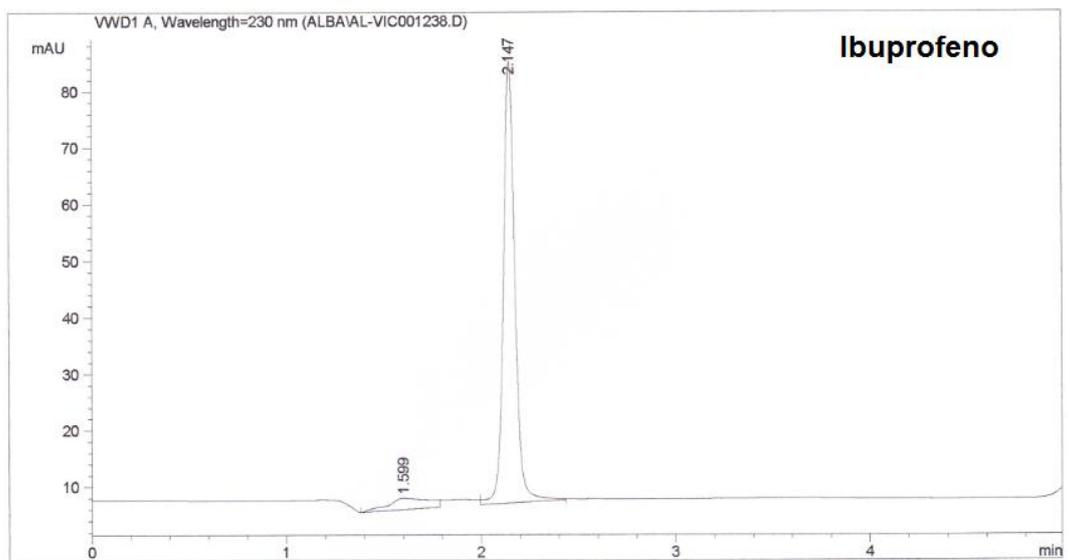
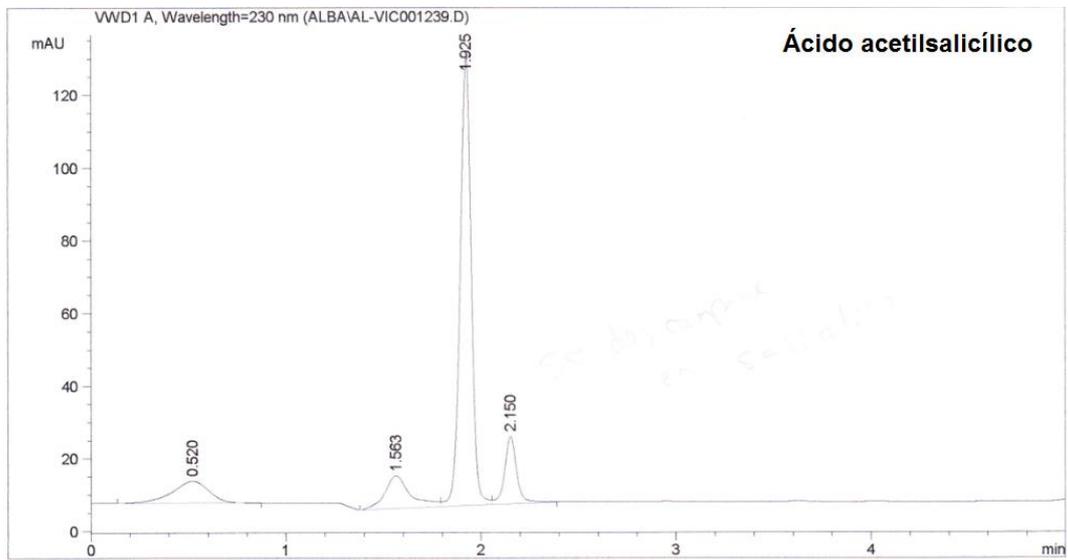
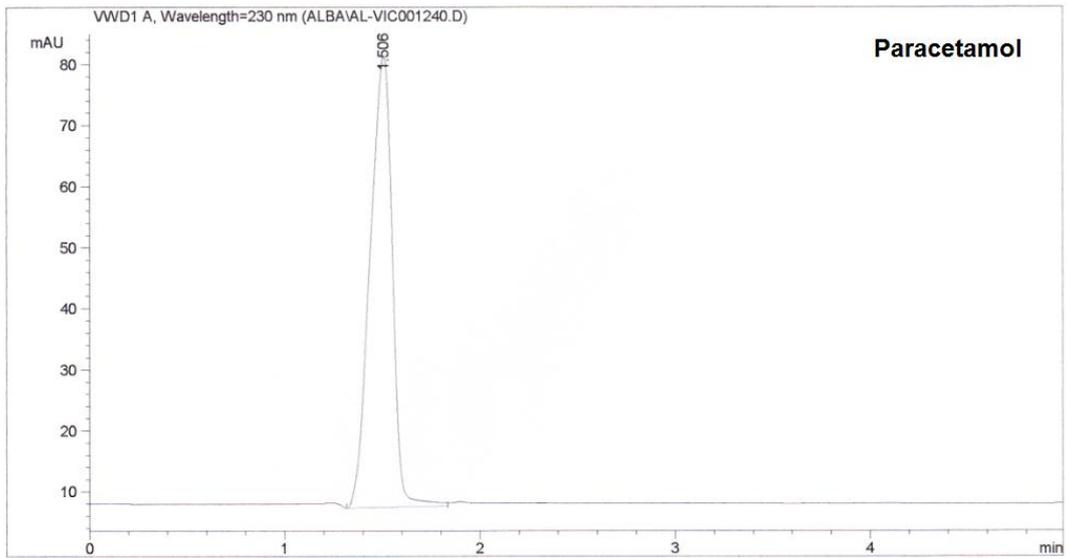
A continuación, en las condiciones anteriormente indicadas, de fase móvil y longitud de onda 230 nm, se hizo un estudio individualizado, en medio acuoso, de los posibles interferentes presentes en la muestra: urea, ácido úrico, cafeína, paracetamol, ácido acetilsalicílico, ibuprofeno y diazepam.

Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 4 y figura 6.

Compuesto	Tiempo de retención (min)
Urea	-
Ácido úrico	1,284
Cafeína	2,151
Paracetamol	1,506
Ácido acetilsalicílico	1,925
Ibuprofeno	2,147
Diazepam	2,163

Tabla 4. Tiempos de retención de los posibles interferentes.





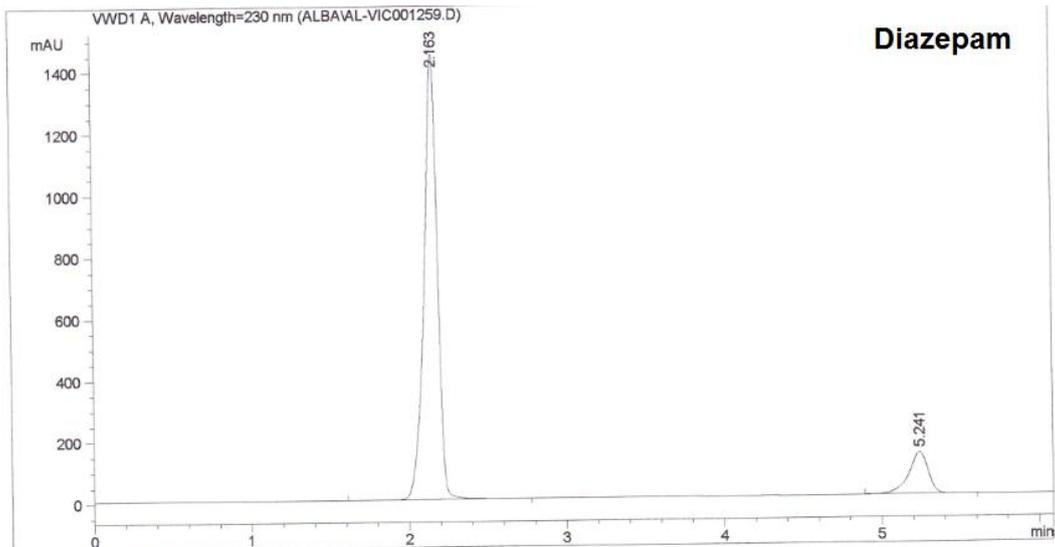


Figura 6. Cromatogramas de los posibles interferentes en medio acuoso con fase móvil Acetonitrilo/Agua/Metanol/Ácido acético 0,01M: 50/30/10/10 y  $\lambda$  230 nm.

A continuación se hizo un patrón con la mezcla de todos estos compuestos, en las mismas condiciones de fase móvil. Los resultados se reflejan en la figura 7.

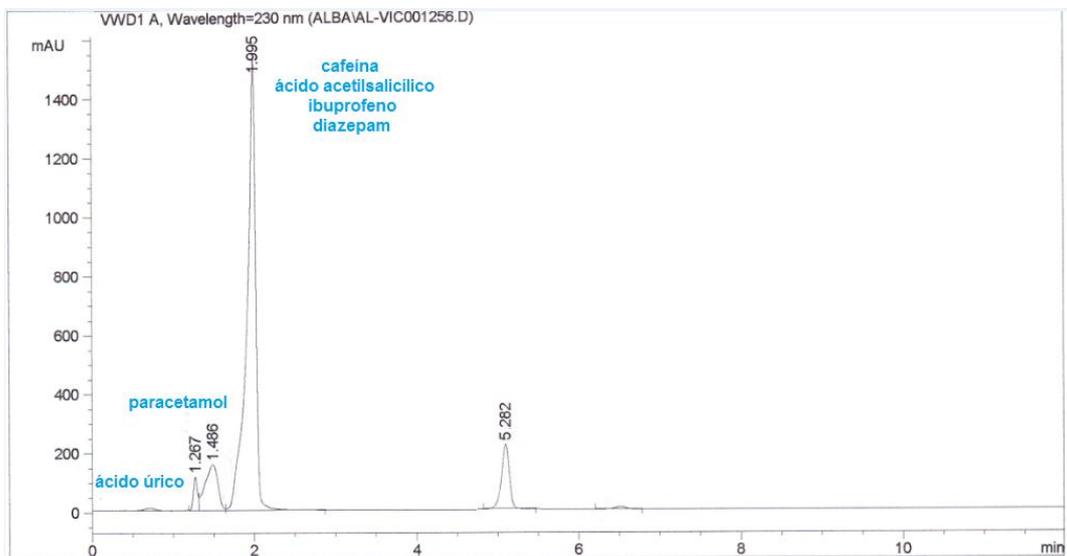


Figura 7. Cromatograma conjunto de los posibles interferentes.

Por último, se procedió a realizar la medida de DMPEA con la mezcla de estos compuestos, para comprobar la posibilidad de su determinación.

El resultado se muestra en la Figura 8.

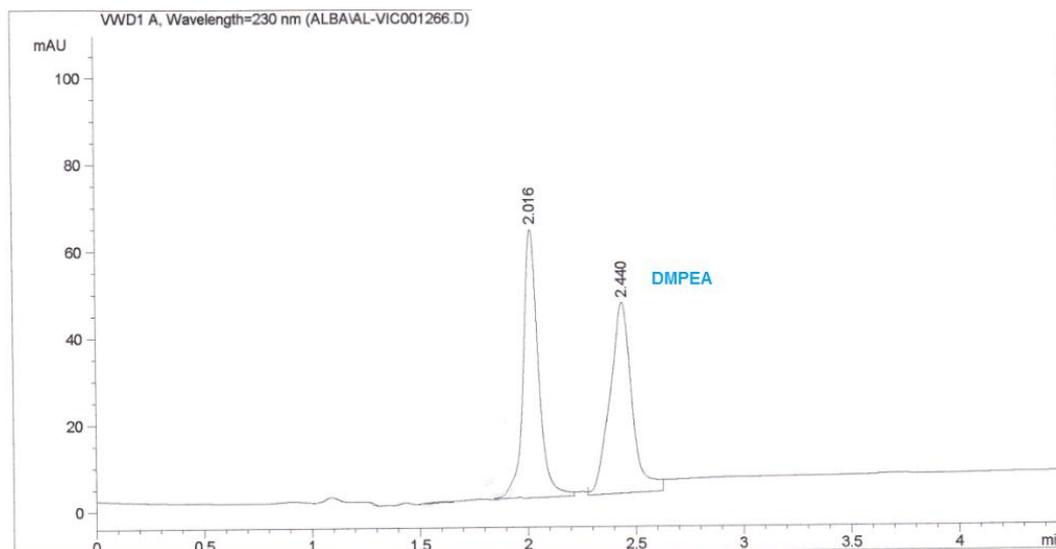


Figura 8. Determinación de DMPEA en presencia de otros compuestos.

A la vista de los resultados obtenidos, se puede considerar que la determinación de DMPEA no se ve afectada por la presencia de estos compuestos.

Con el fin de ver si se podían separar los picos de algunos de los compuestos estudiados, se hizo un estudio con fase móvil acetonitrilo, agua, metanol, ácido acético 0,01 M: 86/4/0/10. Los resultados en estas condiciones no fueron satisfactorios, pues los picos no estaban bien definidos apreciándose en algunos casos desdoblamientos, ver anexo 9.1.3.

#### 6.5.2. SEPARACIÓN DE DMPEA Y 2C-B

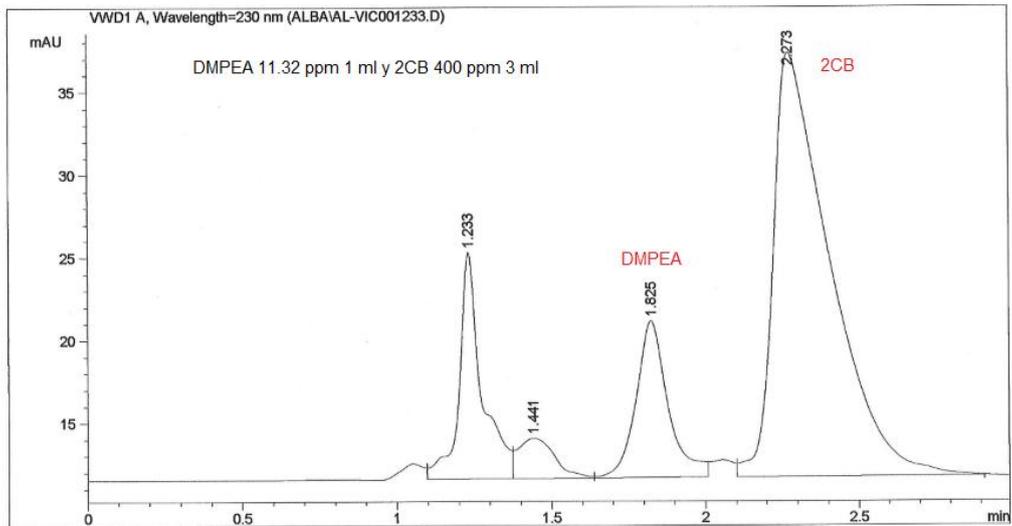
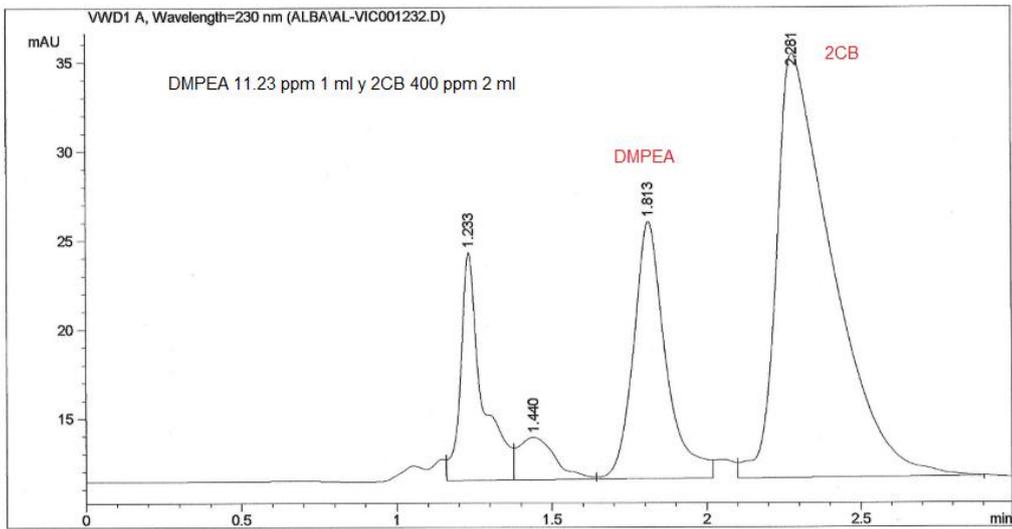
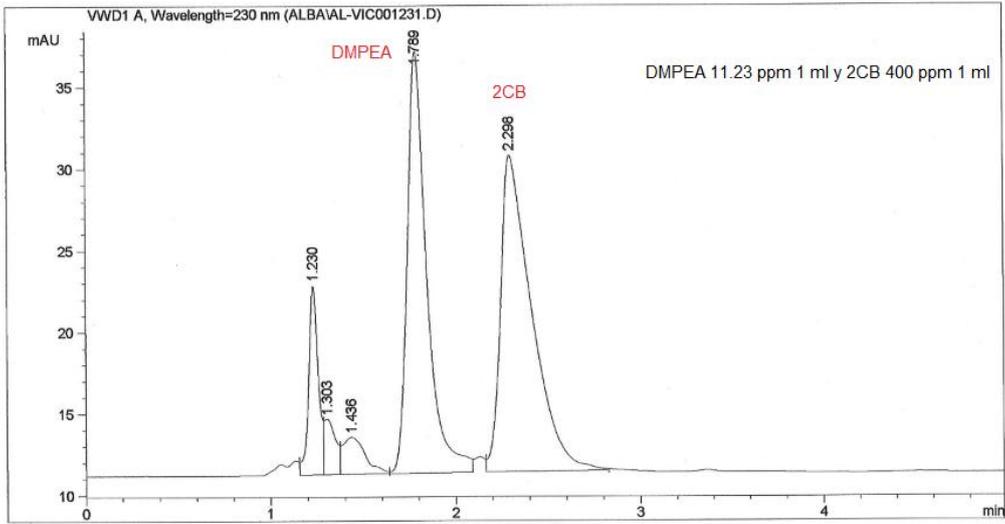
A continuación, dadas las semejanzas estructurales entre el DMPEA y el 4-bromo-2,5-dimetoxifeniletamina, droga conocida como 2C-B, se procede a realizar un estudio a efectos de verificar la posibilidad de separación y determinación por HPLC.

Se realiza un estudio para fijar las condiciones óptimas de medida de fase móvil, pues en las condiciones anteriormente estudiadas, se producen solapamientos.

La fase móvil elegida se corresponde con, Acetonitrilo/Agua/Metanol/Ácido acético 0,01M: 80/10/0/10 y longitud de onda de 230 nm.

Dadas las dificultades para trabajar con patrones de 2C-B (se utilizaba una muestra requisada de pureza del 75%, proporcionada por la Delegación del Gobierno), se procedió a realizar un método de adiciones patrón a efectos de comprobar el pico correspondiente a esta sustancia.

Los resultados se recogen en la figura 9, donde los picos correspondientes a tiempos de retención inferiores a 1,7 minutos, pudieran ser debidos a las impurezas (colorante) de la pastilla de 2C-B.



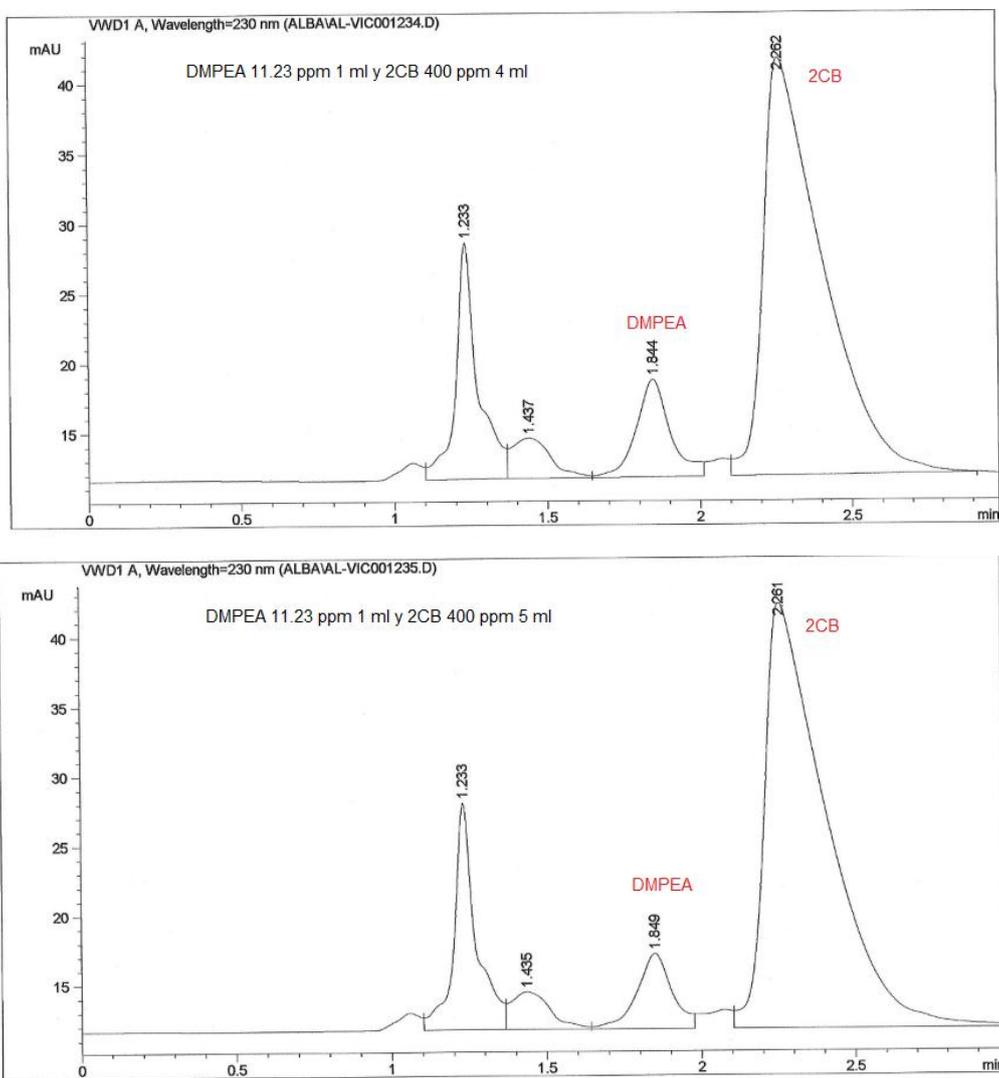


Figura 9. Método de adiciones patrón para la identificación de 2C-B

## 6.6. CROMATOGRAFÍA DE GASES CON DETECTOR DE IONIZACIÓN DE LLAMA

Se presenta el desarrollo, y puesta a punto de una metodología analítica por cromatografía de gases para la determinación de DMPEA en presencia de otros compuestos: urea, ácido úrico, cafeína, paracetamol, ácido acetilsalicílico, ibuprofeno y 2C-B.

La preparación de los patrones de DMPEA se especifica en el apartado 6.3, en medio etanol.

### 6.6.1. ESTUDIO DE LAS CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS

Se hizo un estudio con la columna HP1, cuyas características se indican en el apartado 6.2, se hicieron estudios previos con patrones de DMPEA con diferentes rampas de temperatura con el fin de ver con cual se obtiene mejor respuesta.

Portal de inyección	Temperatura del inyector	220°C
	Volumen de inyección	1 µL
Horno	Rampa 1	50 °C durante 1 min, 50-220 °C a 16 °C/min
	Rampa 2	60 °C durante 1 min, 60-220 °C a 16,8 °C/min
	Rampa 3	70 °C durante 1 min, 70-220 °C a 18,7 °C/min
	Rampa 4	80 °C durante 1 min, 80-220 °C a 20 °C/min
Detector	Temperatura del horno	250°C

Tabla 5. Estudio de las condiciones cromatográficas con la columna HP1.

Como se observa en el anexo 9.2.1., se obtiene buena resolución de pico para todas las rampas de temperatura, obteniendo señal para el DMPEA a un tiempo de retención entre 6,9 y 5,9 minutos.

A continuación, con la rampa de temperatura 3, se procede al estudio individualizado de otros compuestos: urea, ácido úrico, cafeína, paracetamol, ácido acetilsalicílico e ibuprofeno. Los resultados se muestran en la tabla 6 y en el anexo 9.2.1.

Compuesto	Tiempo de retención (min)
Urea	4,012
Ácido úrico	-
Cafeína	9,005
Paracetamol	5,464
Ácido acetilsalicílico	8,776
Ibuprofeno	4,129

Tabla 6. Tiempos de retención de posibles interferentes.

A la vista de los resultados si sería posible la separación de todos ellos, pero la resolución de los picos no es muy buena.

Un estudio análogo se hace con una columna BP20, cuyas características se indican en el apartado 6.2, para comparar los resultados con la columna HP1, que es la que habitualmente se utiliza en los análisis de drogas.

Como en el caso anterior, se realiza un estudio de las condiciones cromatográficas, encontrándose que las más adecuadas para la determinación e identificación son:

Portal de inyección	Temperatura del inyector	220°C
	Volumen de inyección	1 µL
Horno	Rampa	50 °C durante 1 min, 70-275 °C a 30 °C/min
Detector	Temperatura del horno	250°C

Tabla 7. Estudio de las condiciones cromatográficas con la columna BP20.

En dichas condiciones, se hizo un estudio individualizado de todos los compuestos. Además de una mezcla de DMPEA y 2C-B. Los resultados se muestran en la tabla 8 y en el anexo 9.2.2.

Compuesto	Tiempo de retención (min)
DMPEA	3,925
Urea	6,863
Ácido úrico	5,908
Cafeína	4,425
Paracetamol	4,150
Ácido acetilsalicílico	3,790
Ibuprofeno	4,014
2C-B	4,365

Tabla 8. Tiempos de retención de los compuestos analizados individualmente.

Por último, y en las condiciones anteriormente indicadas, se procede a una determinación conjunta de todos ellos. La respuesta de DMPEA se obtiene a un tiempo de retención de 3,923 minutos, bien definida y separada de todos los componentes de la mezcla. Los resultados se reflejan en la figura 10.

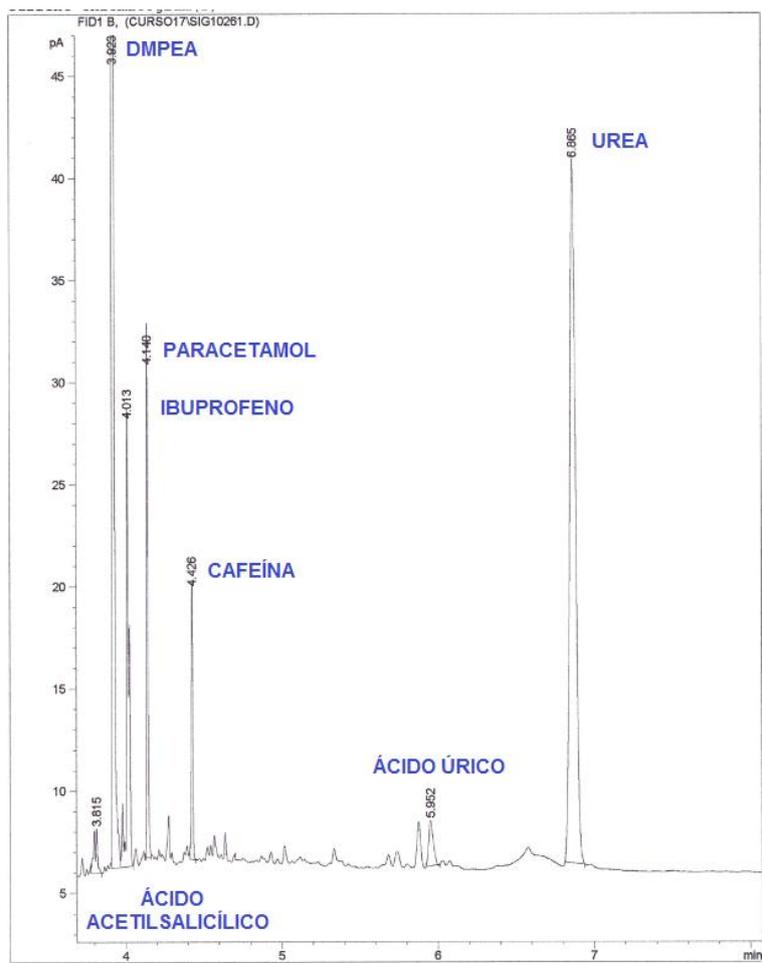


Figura 10. Determinación de DMPEA en presencia de otros compuestos.

Como se puede observar en el anterior cromatograma, el DMPEA puede ser determinado en presencia de compuestos como la urea y el ácido úrico, presentes en muestras biológicas como la orina, además de algunos de los analgésicos y estimulantes más comunes que pudieran encontrarse opcionalmente en este medio. Por lo tanto, la cromatografía con detector de ionización de llama, es un buen método para separar y determinar este compuesto.

## 7. CONCLUSIONES

- Se ha realizado un estudio de absorción molecular UV/Vis, para la posterior determinación por HPLC, de DMPEA en presencia de compuestos como la urea y el ácido úrico, presentes en muestras biológicas como la orina, además de algunos de los analgésicos y estimulantes más comunes que pudieran encontrarse opcionalmente en este medio. A efectos de minimizar interferencias, se determina que la longitud de onda más adecuada es 230 nm.
- Se ha determinado DMPEA, mediante HPLC/UV-Vis, se selecciona como medio para la medida de las muestras el acuoso y fase móvil Acetonitrilo/Agua/Metanol/Ácido acético 0,01M, 50/30/10/10. Su determinación no se ve afectada por la presencia de los otros compuestos. El DMPEA da señal a un tiempo de retención de 2,440 minutos con un límite de detección de 0,9 ppm.  
Se ha determinado DMPEA en presencia de droga 2C-B con fase móvil Acetonitrilo/Agua/Metanol/Ácido acético 0,01M, 80/10/0/10, obteniéndose una buena separación de ambos con tiempos de retención: DMPEA 1,789 minutos y 2C-B 2,298 minutos.
- Se ha determinado DMPEA, mediante CG/FID con dos tipos de columna:  
La columna HP1 proporciona buena resolución de pico para el DMPEA con diferentes rampas de temperatura, dando señal para el DMPEA entre 6,9 y 5,9 minutos.  
La columna BP20 da respuesta para el DMPEA a un tiempo de retención de 3,923 minutos, bien definida y separada de todos los componentes de la mezcla, con límite de detección de 1,3 ppm
- Como conclusión general, indicamos que ambos métodos podrían ser adecuados para la determinación de esta sustancia en muestras de orina, aunque consideramos que la cromatografía de gases presenta mayores ventajas, debido a la mejor separación de los componentes.

## 8. BIBLIOGRAFÍA

1. Vitale, A., Ciprian-Ollivier, J., Vitale, M., Romero, E., and Pomilio, A., Clinical studies of markers of the indolic hypermethylation in human perception alterations. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*, 44, 627-642 (2010).
2. Dsm-IV y Manuales / Psicofarmacología - Psicodinámica IV / Introducción a la psicofarmacología y psiconeurobiología / 1-14. Neurotransmisores. P.20.
3. Shulgin, A. and Shulgin, A. "PiHKAL A Chemical Love Story", 614-616 (1991).
4. Friedhoff, A. J., and Van Winkle, E. Isolation and Characterization of a Compound from the Urine of Schizophrenics. The characteristics of an amine found in urine of schizophrenic patients. *The Journal of nervous and mental disease*, 135, 550-555 (1962).
5. Kuehl, F. A., Hichens, M., Ormond, R. E., Meisinger, M. A. P., Gale, P. H., Cirillo, V. J., and Brink, N. G. p-O-Methylation of dopamine in schizophrenic and normal individuals. *Nature*, 203, 154-155 (1964).
6. Sen, N. P., and McGeer, P. L., 4-methoxyphenylethylamine and 3,4-dimethoxyphenylethylamine in human urine, *Biochemical and Biophysical Research Communications.*, 14, 227-232 (1964).
7. Takesada, M., Kakimoto, Y., Sano, I., and Kaneko, Z., 3,4-Dimethoxyphenylethylamine and other amines in the urine of schizophrenic patients. *Nature*, 199, 203-204 (1963).
8. Perry, T. L., Hansen, S., and Macintyre, L., Failure to detect 3,4-dimethoxyphenylethylamine in the urine of schizophrenics. *Nature*, 202, 519-520 (1964).
9. Faurbye, A., and Pind, K., Investigations on the occurrence of the dopamine metabolite, 3,4-dimethoxyphenylethylamine, in the urine of schizophrenics. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 40, 240-243 (1964).
10. Bourdillon, R. E., Clarke, C. A., Ridges, A. P., Sheppard, P. M., Harper, P., and Leslie, S. A., 'Pink spot' in the urine of schizophrenics. *Nature*, 208, 453-455 (1965).
11. Friedhoff, A. J., and Van Winkle, E. Conversion of dopamine to 3,4-dimethoxyphenylacetic acid in schizophrenic patients. *Nature*, 199, 1271-1272 (1963).
12. Pscheidt, G. R., Berlet, H. H., Bull, C., Spaide, J., and Himwich, H. E. Excretion of catechol amines and exacerbation of symptoms in schizophrenic patients. *Journal of Psychiatric Research*, 2, 163-168 (1964).

13. Friedhoff, A. J., and Van Winkle, E. A biochemical approach to the study of schizophrenia. *American Journal of Psychiatry*, 121, 1054-1055 (1965).
14. Ernest, A. M. Relation between the structure of certain methoxyphenylethylamine derivatives and the occurrence of a hypokinetic rigid syndrome. *Psychopharmacologia*, 7, 383–390 (1965).
15. Barbeau, A., L. Tétrault, L. Oliva, L. Morazain, and L. Cardin. Pharmacology of akinesia-investigations on 3,4-dimethoxyphenylethylamine. *Nature*, 209, 719–721 (1966).
16. Vogel, W. H. and Horwitt, M. K. Brain Levels of 3,4-Dimethoxyphenylethylamine (DMPEA) and Climbing Performance of Rats. *Psychopharmacologia*, 11, 265-269 (1967).
17. VanderWende, C., and Johnson, J. C. Species variation and the antihistaminic properties of 3,4-dimethoxyphenethylamine. *Life Sciences*, 6, 2345-2352 (1967).
18. Van Winkle, E., Schweitzer, J. W., and Friedhoff, A. J.  $\beta$ -Hydroxylation of N-Acetyl-3,4-dimethoxyphenethylamine and the influence of iproniazid on the demethylation of this compound in vivo in the rat. *Biochemical Pharmacology*, 19, 2137-2144 (1970).
19. N. Narasimhachari, Plaut, J., and Leiner, K. A sensitive and specific thin-layer chromatographic method for the identification of 3,4-dimethoxyphenethylamine in urine samples. *Journal of Chromatography*, 64, 341-345 (1972).
20. Riceber, L. J., and Van Vunakis, H. Estimation of  $\beta$ -3,4-dimethoxyphenethylamine and related compounds in urine extracts by radioimmunoassay. *Biochemical Pharmacology*, 24, 259-265 (1975).
21. Hadir, M. M., Tamer, A., Jack, D., and Randall C. GC-MS and GC-IRD Studies on Dimethoxyphenethylamines (DMPEA): Regioisomers Related to 2,5-DMPEA. *Journal of Chromatographic Science*, 50, 1-9 (2012).

#### Páginas web

- [1] Biosíntesis de catecolaminas. Wikipedia. 10 de septiembre de 2018.  
[https://es.wikipedia.org/wiki/Archivo:Biosíntesis\\_de\\_catecolaminas.svg](https://es.wikipedia.org/wiki/Archivo:Biosíntesis_de_catecolaminas.svg)

## 9. ANEXOS

### 9.1. CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN

#### 9.1.1. DETERMINACIÓN DE DMPEA EN AGUA

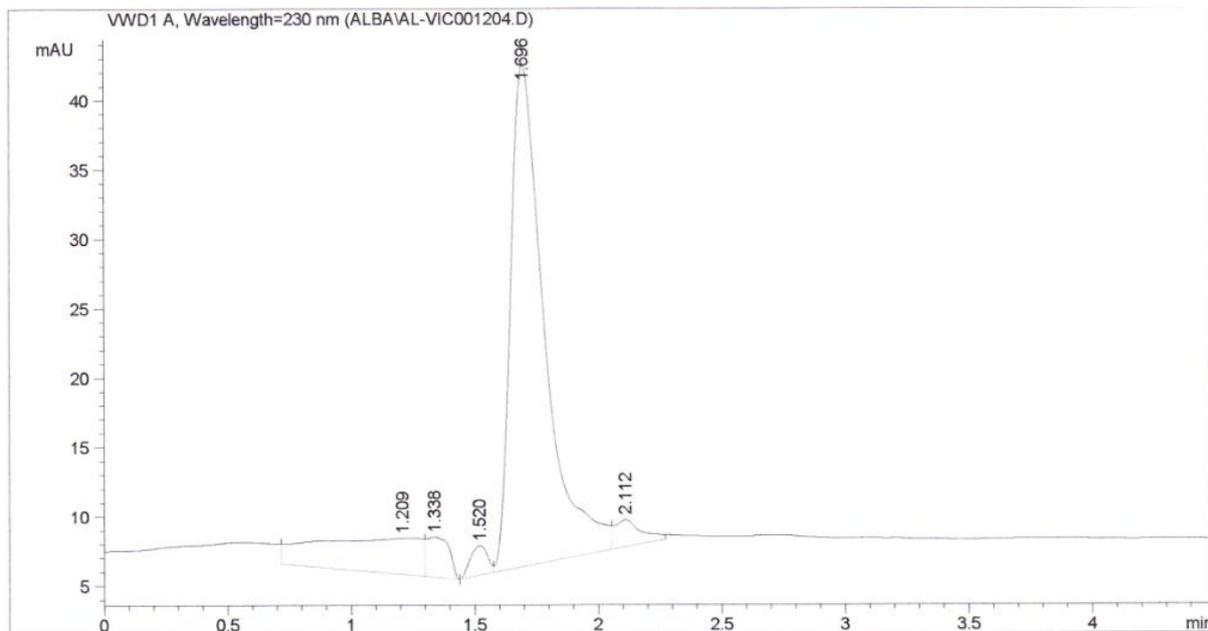


Figura 11. Determinación DMPEA en agua con fase móvil: Acetonitrilo/Agua/Metanol/Ácido acético 0,01M (90/0/0/10)

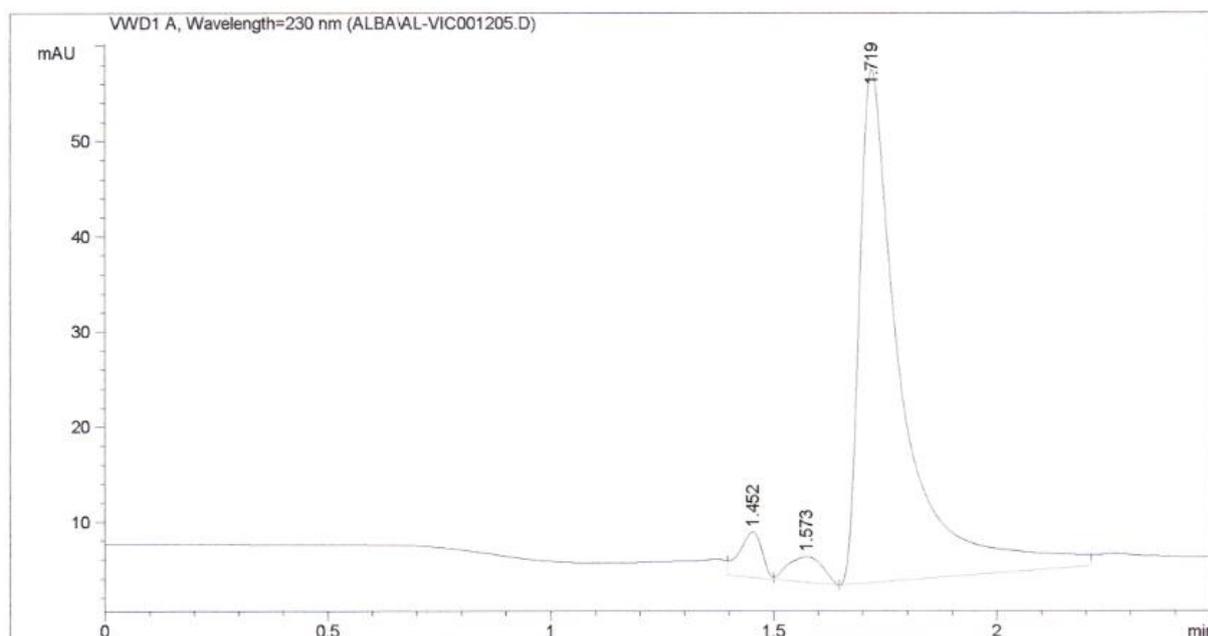


Figura 12. Determinación DMPEA en agua con fase móvil: Acetonitrilo/Agua/Metanol/Ácido acético 0,01M (86/4/0/10)

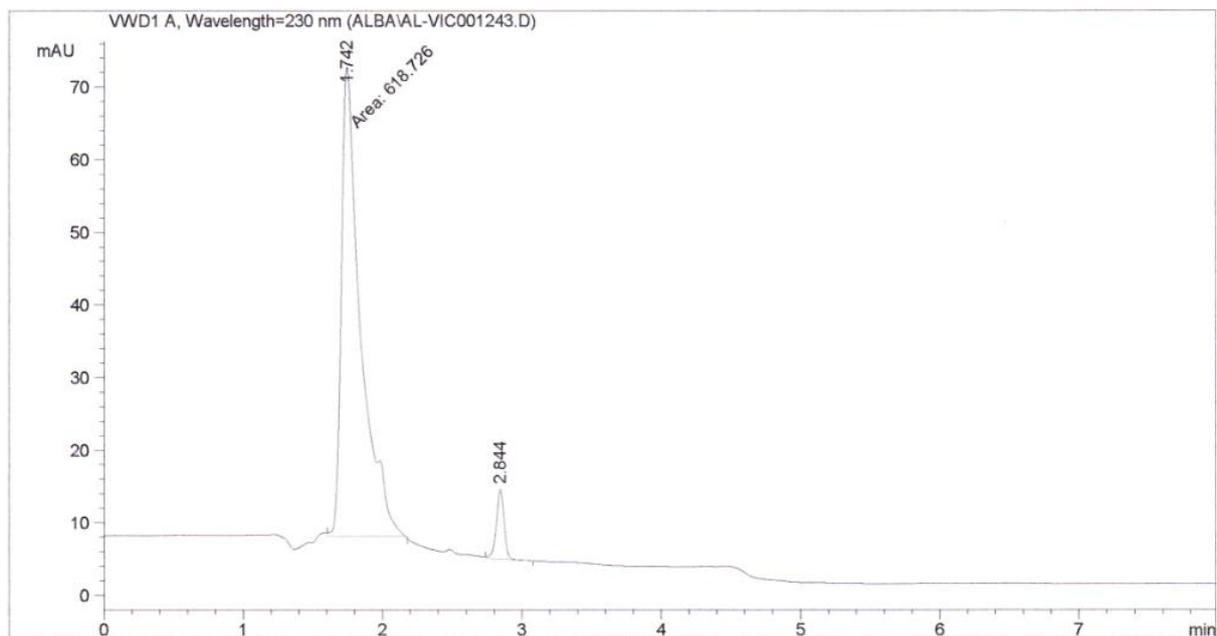


Figura 13. Determinación DMPEA en agua con fase móvil: Acetonitrilo/Agua/Metanol/Ácido acético 0,01M (84/6/0/10)

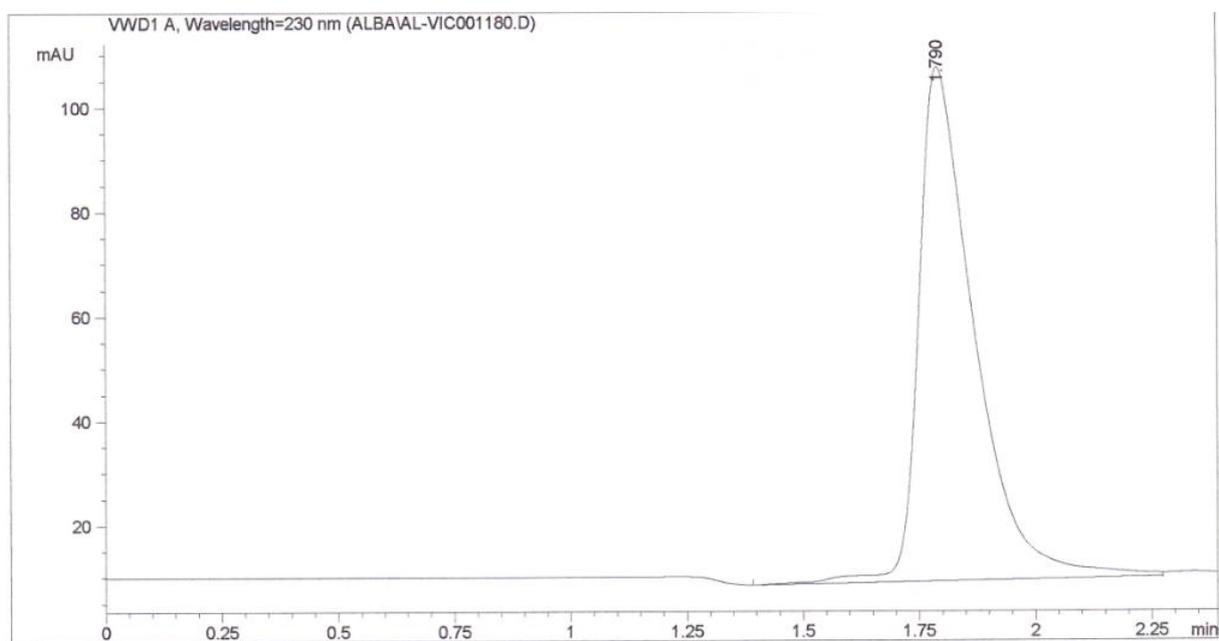


Figura 14. Determinación DMPEA en agua con fase móvil: Acetonitrilo/Agua/Metanol/Ácido acético 0,01M (80/10/0/10)

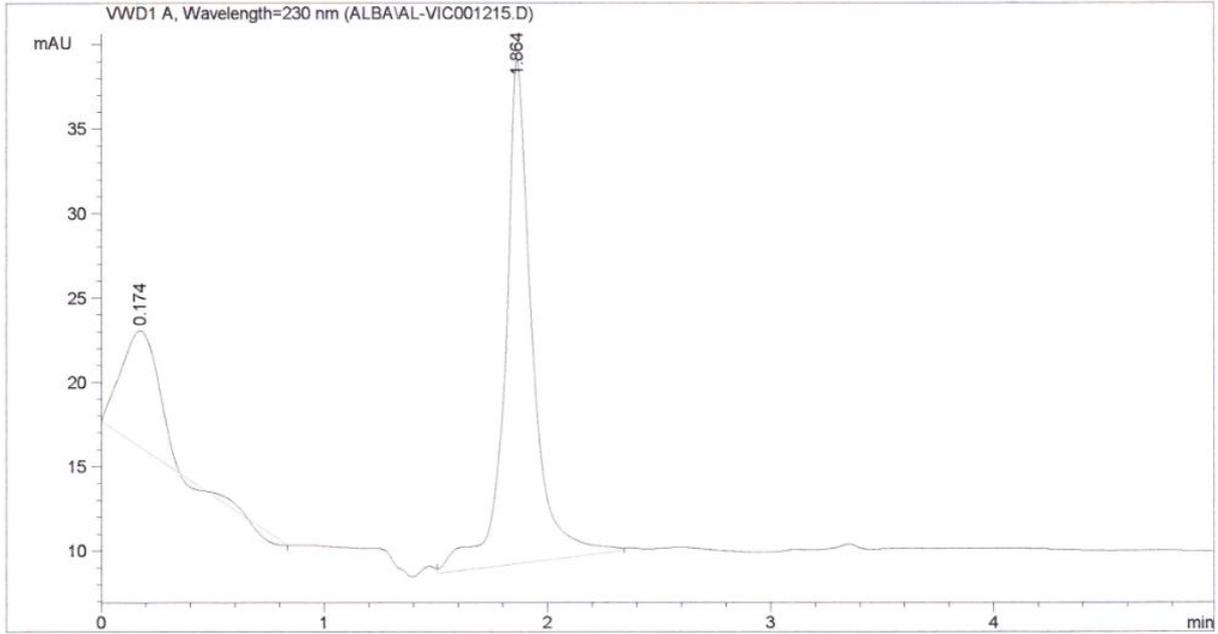


Figura 15. Determinación DMPEA en agua con fase móvil: Acetonitrilo/Agua/Metanol/Ácido acético 0,01M (75/10/5/10)

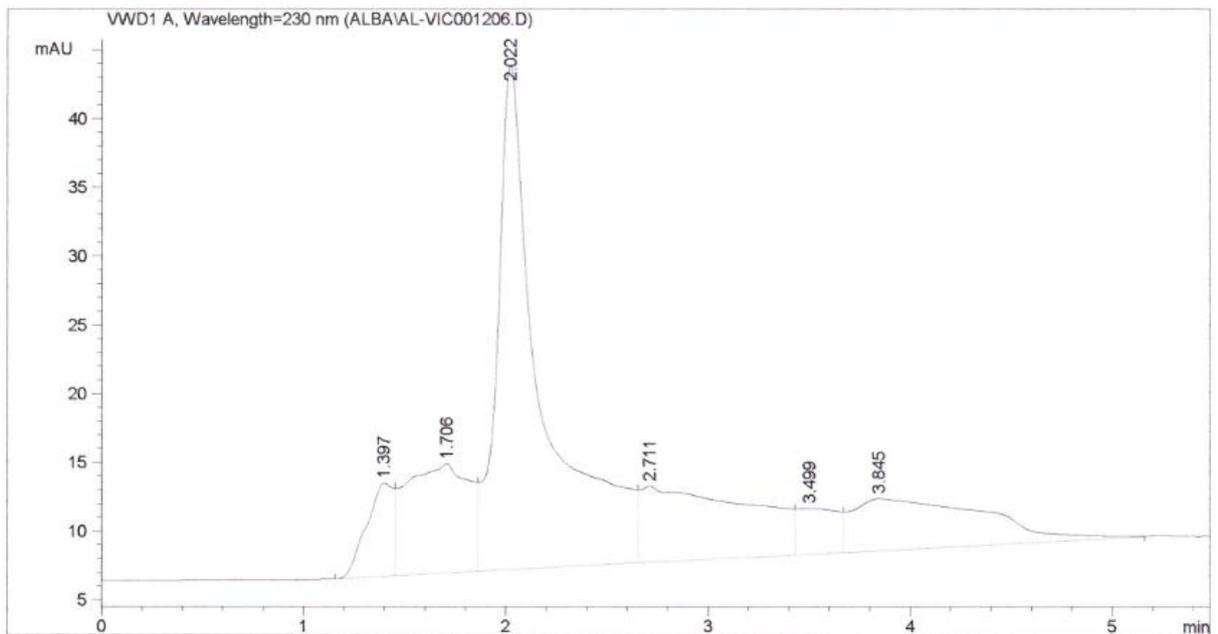


Figura 16. Determinación DMPEA en agua con fase móvil: Acetonitrilo/Agua/Metanol/Ácido acético 0,01M (70/10/10/10)

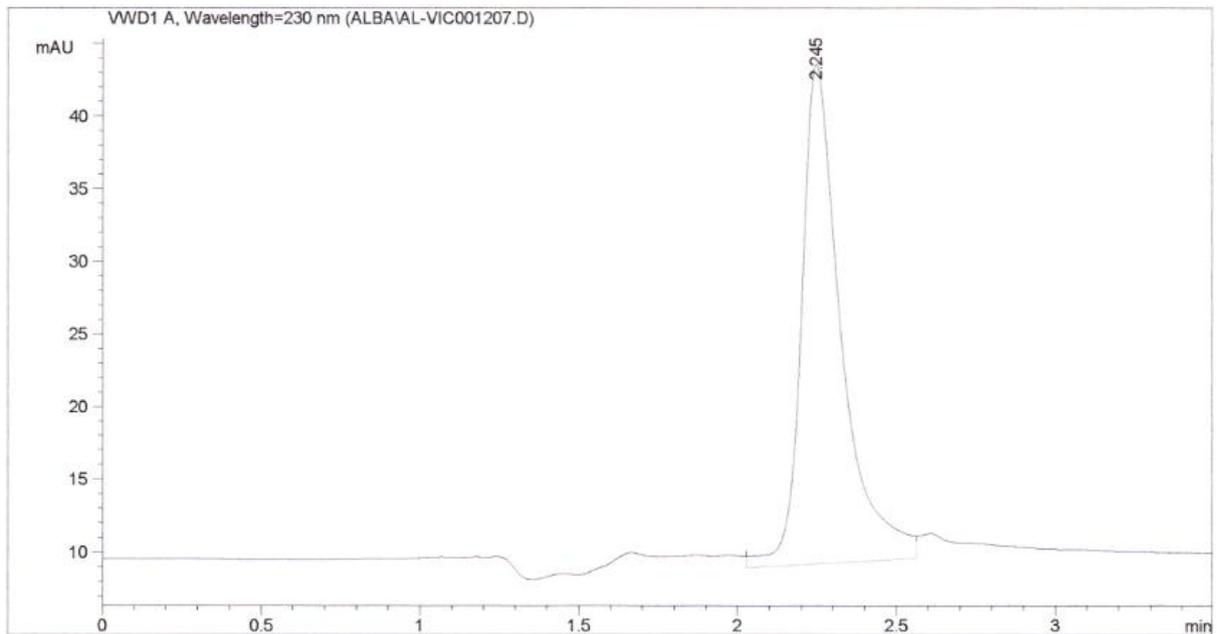


Figura 17. Determinación DMPEA en agua con fase móvil: Acetonitrilo/Agua/Metanol/Ácido acético 0,01M (60/20/10/10)

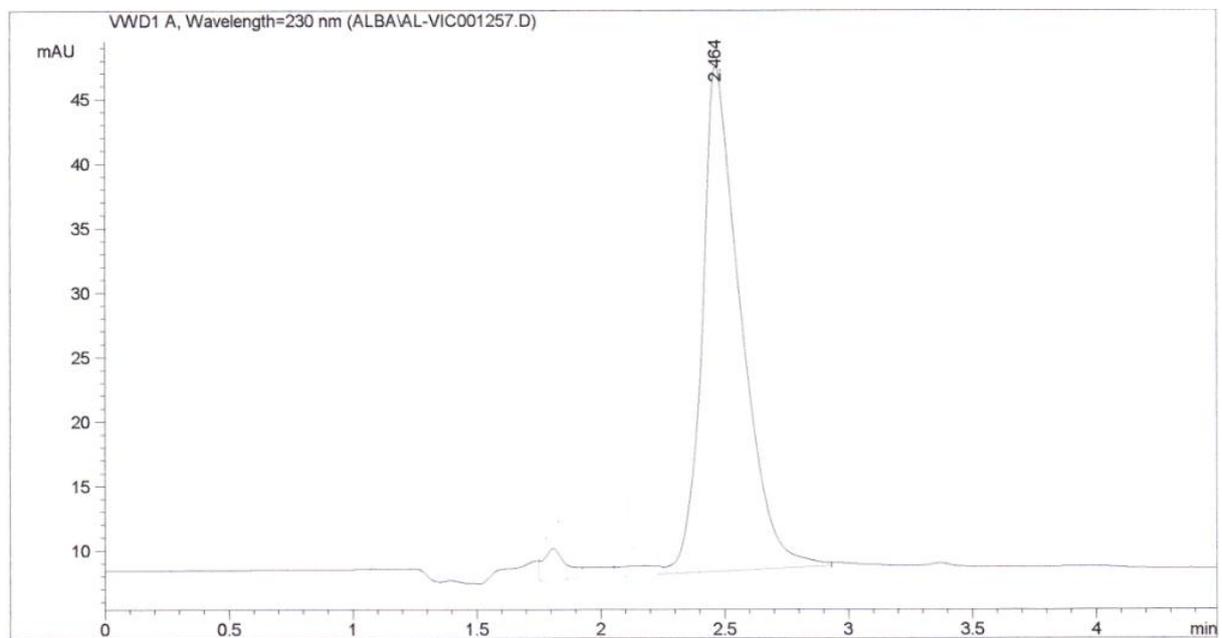


Figura 18. Determinación DMPEA en agua con fase móvil: Acetonitrilo/Agua/Metanol/Ácido acético 0,01M (50/30/10/10)

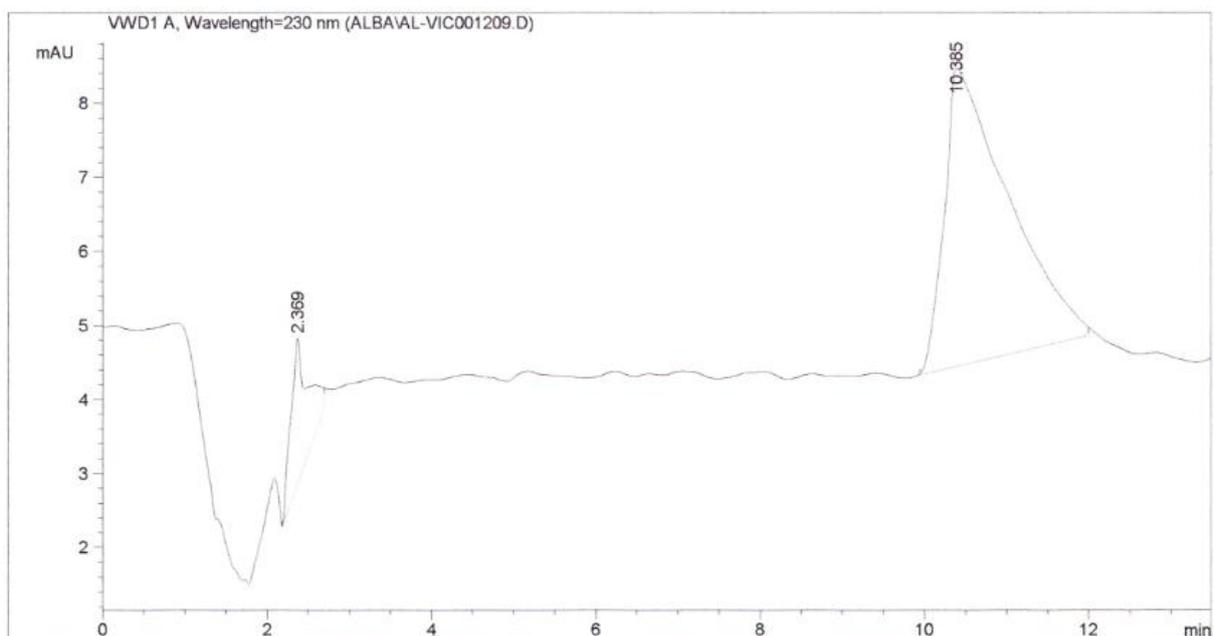


Figura 19. Determinación DMPEA en agua con fase móvil: Acetonitrilo/Agua/Metanol/Ácido acético 0,01M (5/75/10/10)

### 9.1.2. DETERMINACIÓN DE DMPEA EN ETANOL

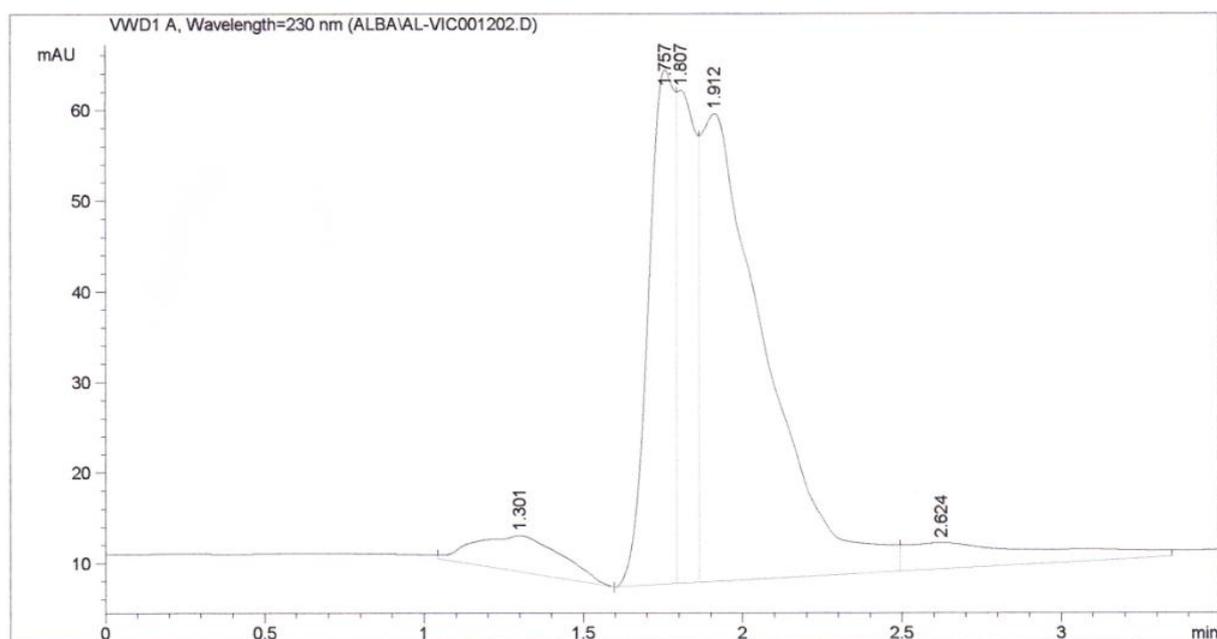


Figura 20. Determinación DMPEA en etanol con fase móvil: Acetonitrilo/Agua/Metanol/Ácido acético 0,01M (50/30/10/10)

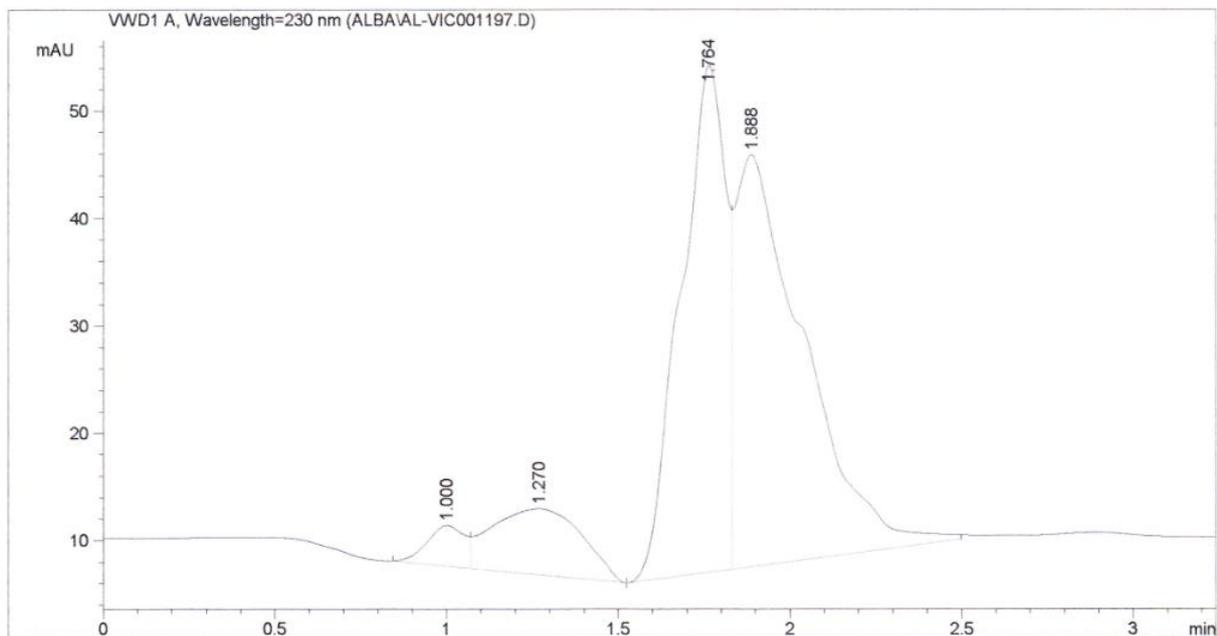


Figura 21. Determinación DMPEA en etanol con fase móvil: Acetonitrilo/Agua/Metanol/Ácido acético 0,01M (40/40/10/10)

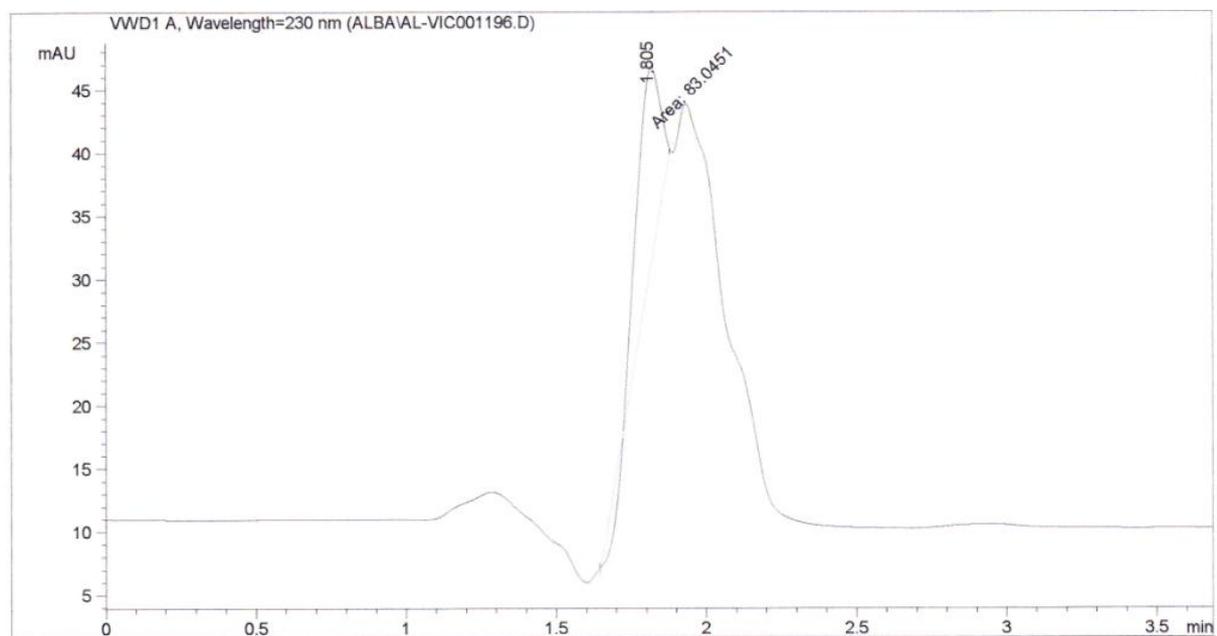


Figura 22. Determinación DMPEA en etanol con fase móvil: Acetonitrilo/Agua/Metanol/Ácido acético 0,01M (30/50/10/10)

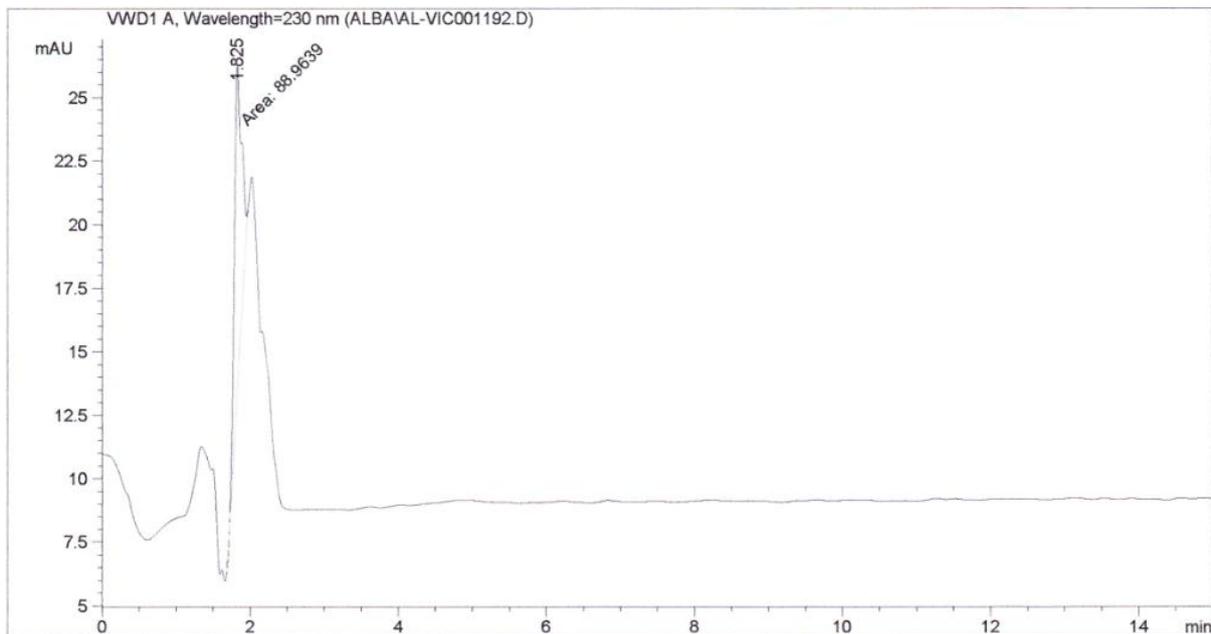


Figura 23. Determinación DMPEA en etanol con fase móvil: Acetonitrilo/Agua/Metanol/Ácido acético 0,01M (20/60/10/10)

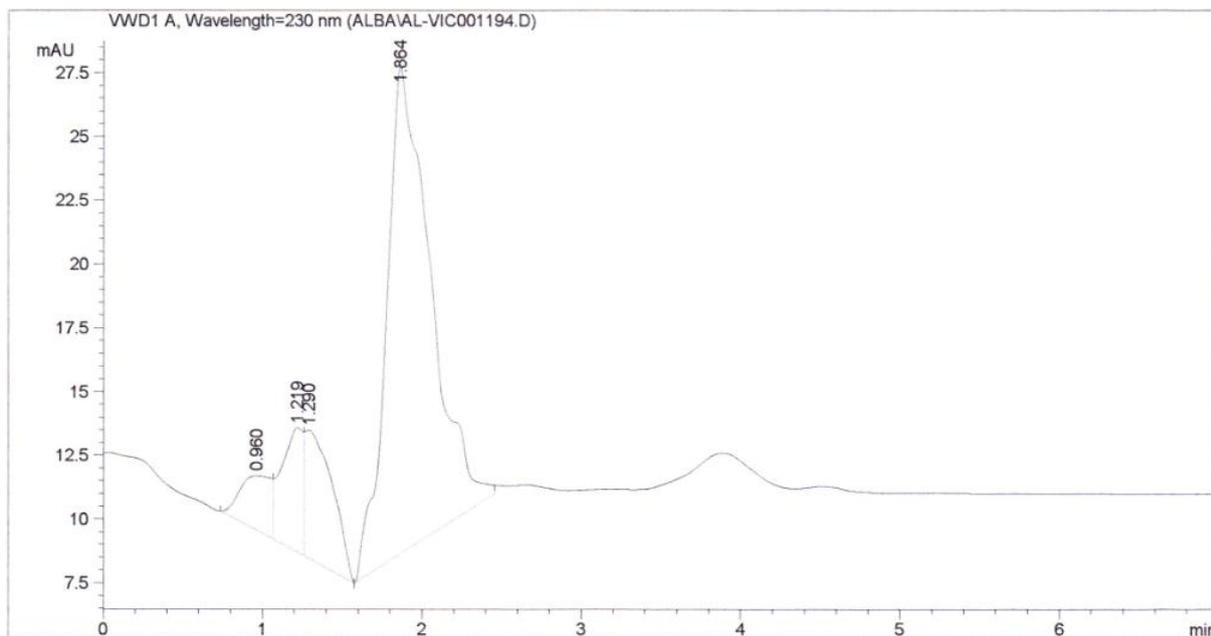


Figura 24. Determinación DMPEA en etanol con fase móvil: Acetonitrilo/Agua/Metanol/Ácido acético 0,01M (10/70/10/10)

### 9.1.3. DETERMINACIÓN DE LOS OTROS COMPUESTOS ESTUDIADOS

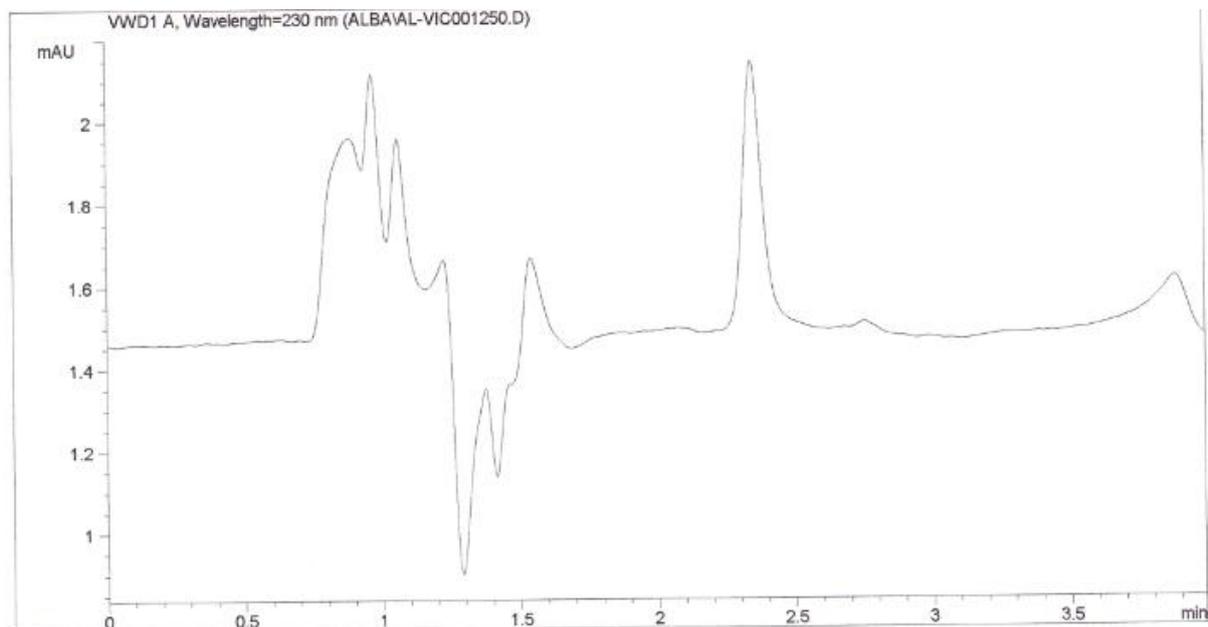


Figura 25. Determinación urea en agua con fase móvil: Acetonitrilo/Agua/Metanol/Ácido acético 0,01M (86/4/0/10)

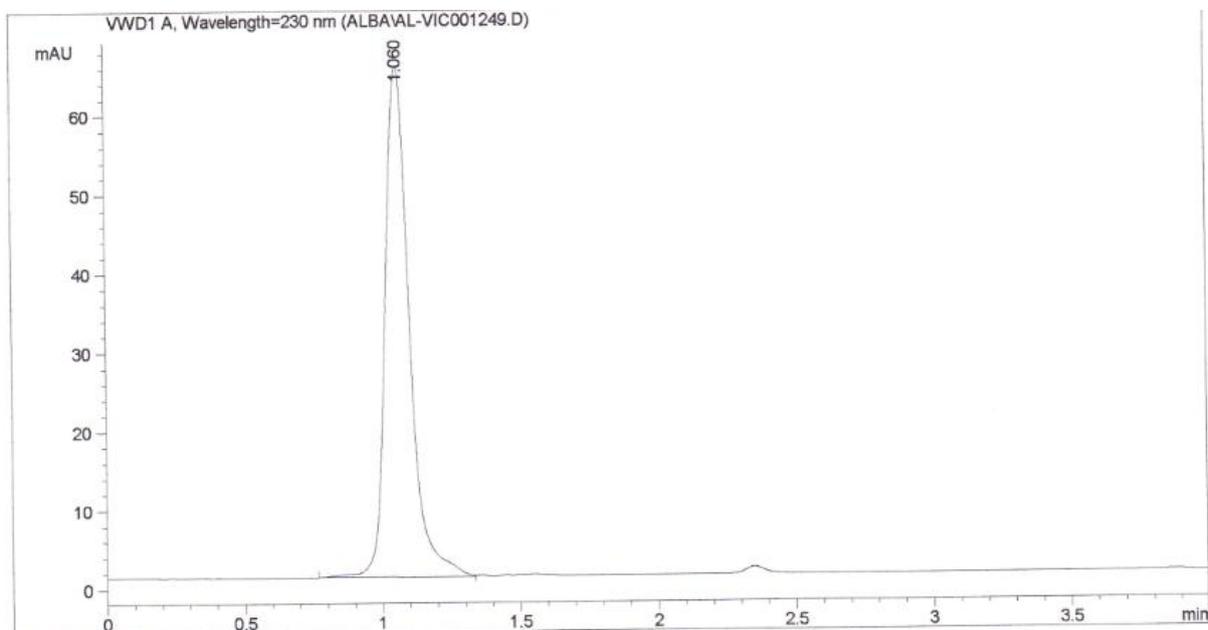


Figura 26. Determinación ácido úrico en agua con fase móvil: Acetonitrilo/Agua/Metanol/Ácido acético 0,01M (86/4/0/10)

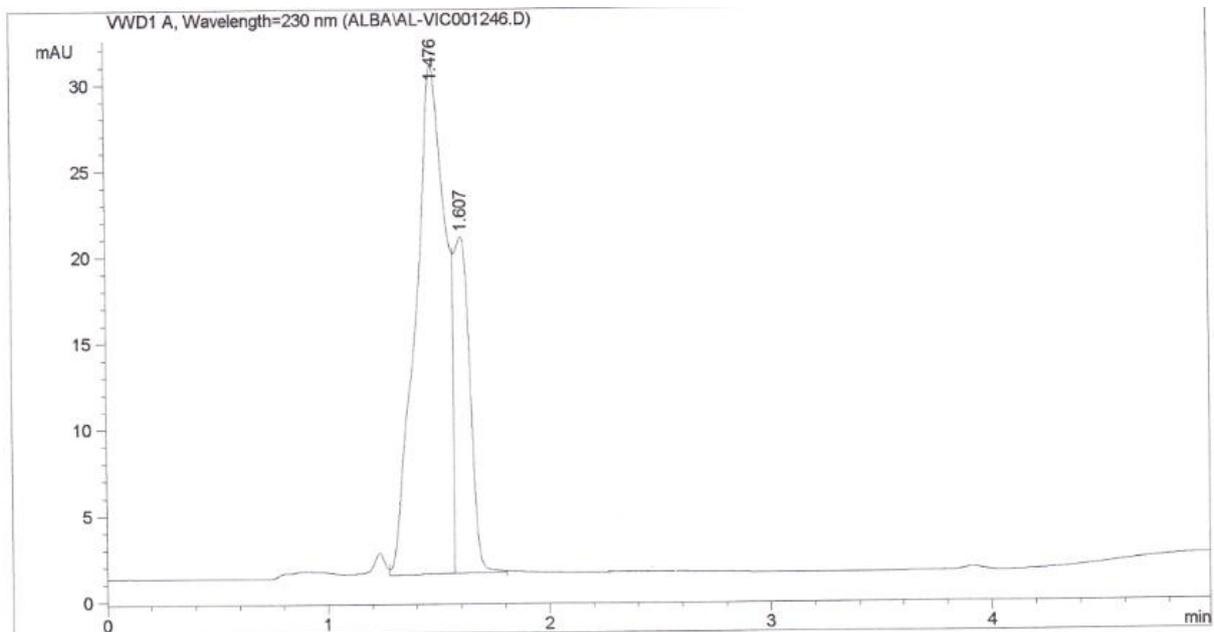


Figura 27. Determinación cafeína en agua con fase móvil: Acetonitrilo/Agua/Metanol/Ácido acético 0,01M (86/4/0/10)

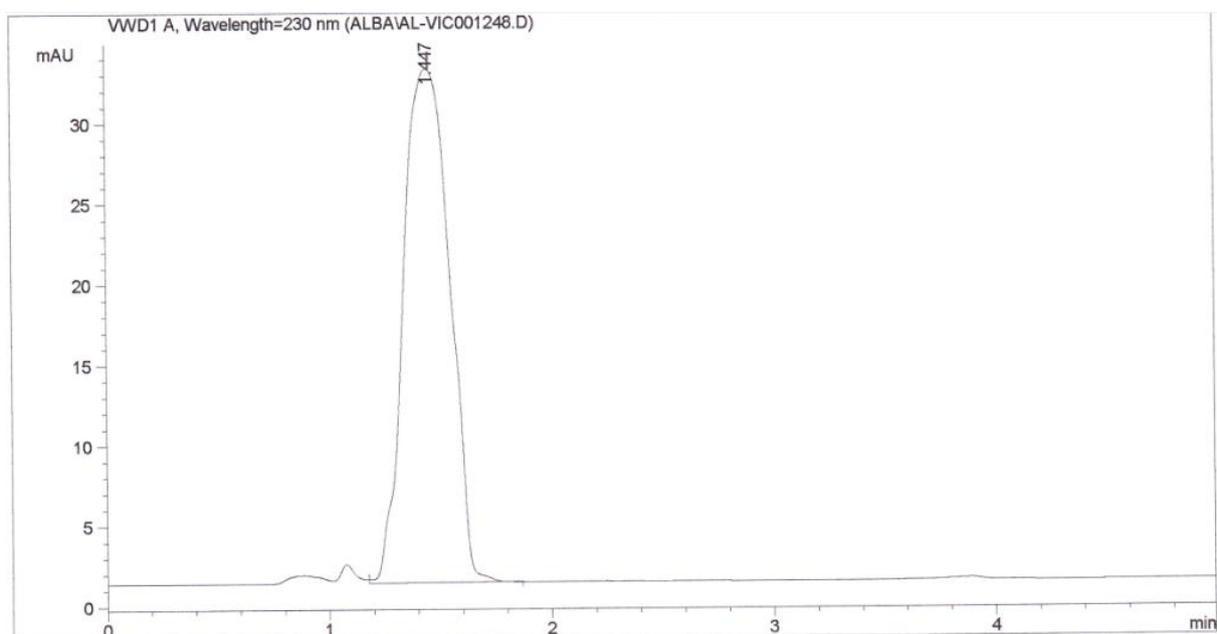


Figura 28. Determinación paracetamol en agua con fase móvil: Acetonitrilo/Agua/Metanol/Ácido acético 0,01M (86/4/0/10)

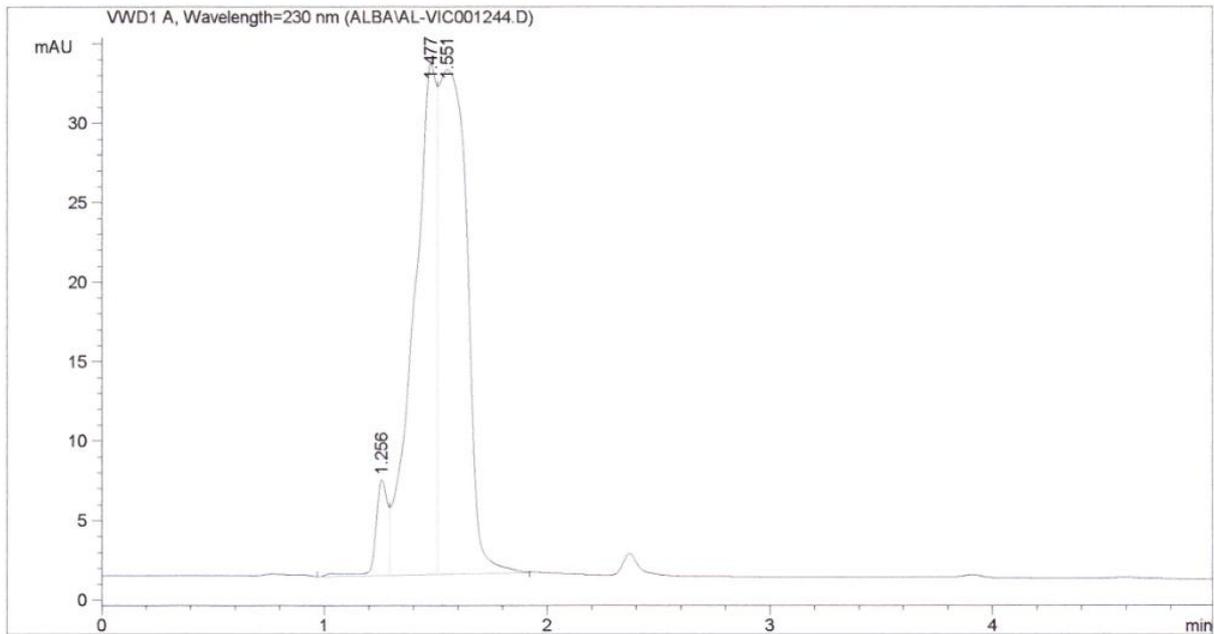


Figura 29. Determinación ácido acetilsalicílico en agua con fase móvil: Acetonitrilo/Agua/Metanol/Ácido acético 0,01M (86/4/0/10)

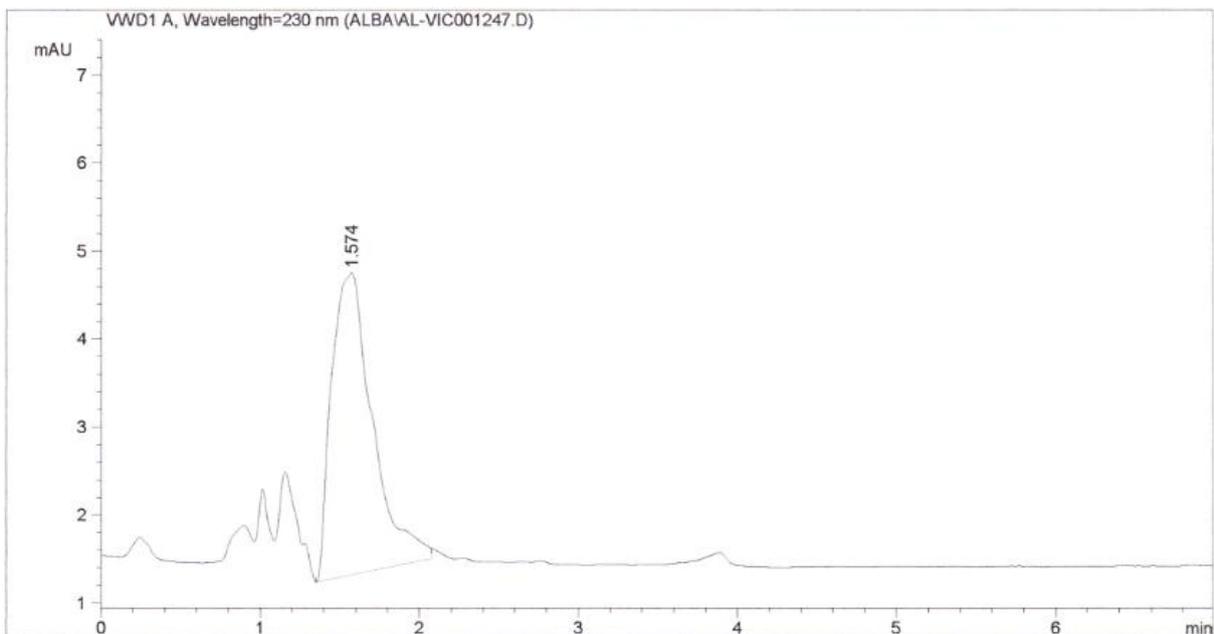


Figura 30. Determinación ibuprofeno en agua con fase móvil: Acetonitrilo/Agua/Metanol/Ácido acético 0,01M (86/4/0/10)

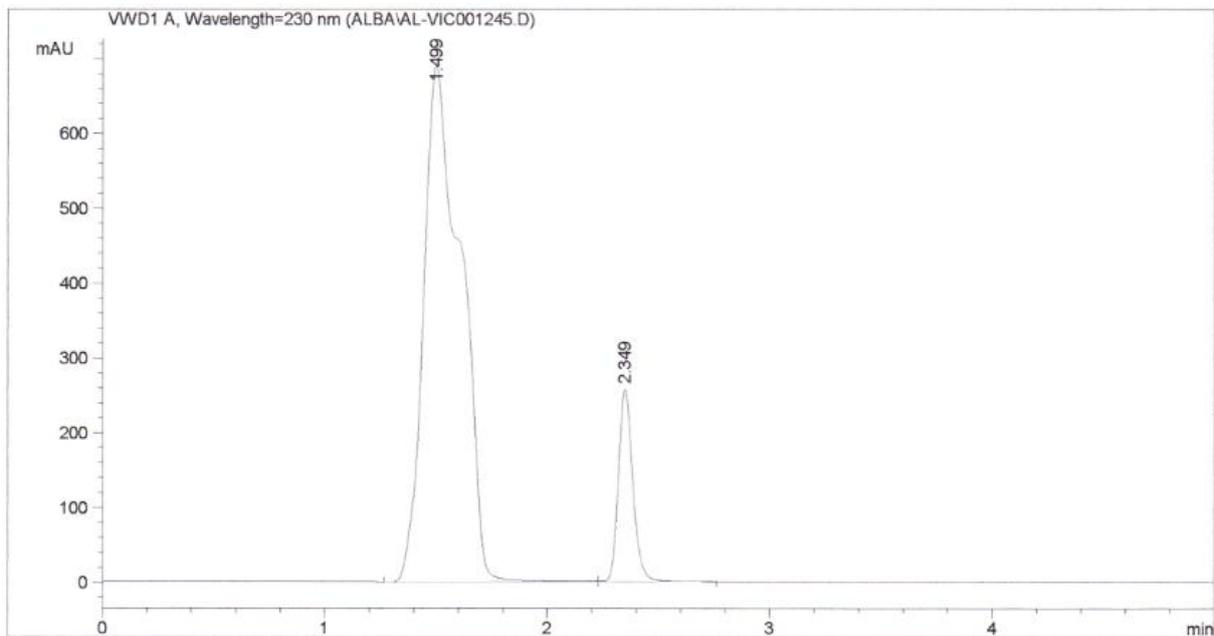


Figura 31. Determinación diazepam en agua con fase móvil: Acetonitrilo/Agua/Metanol/Ácido acético 0,01M (86/4/0/10)

## 9.2. CROMATOGRAFÍA DE GASES

### 9.2.1. COLUMNA HP1

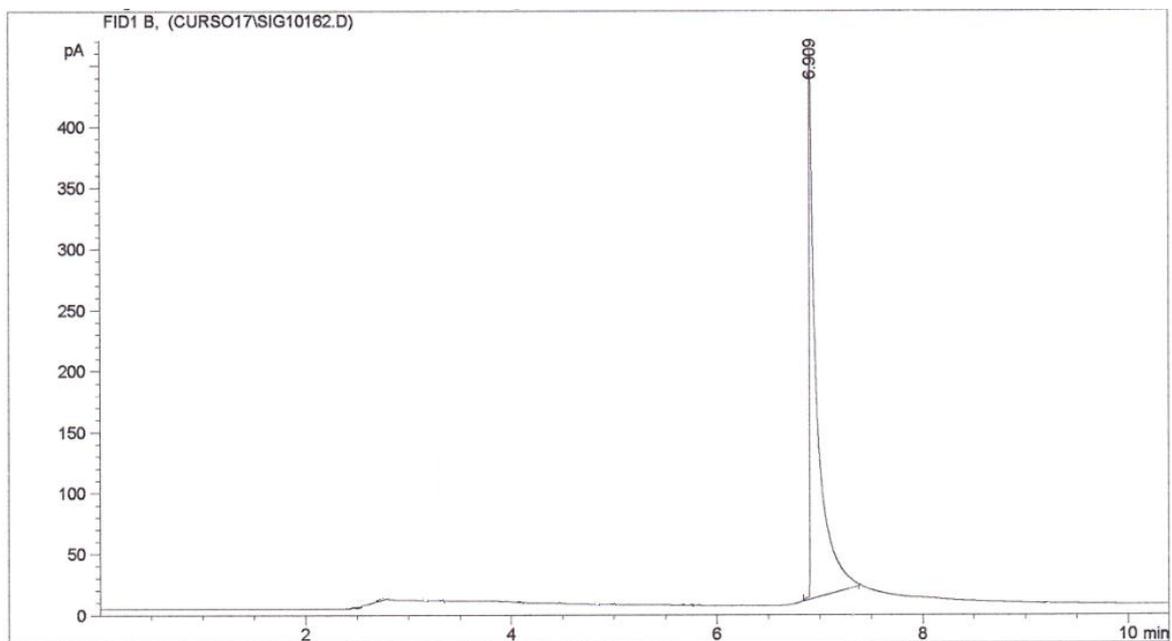


Figura 32. Determinación DMPEA. Rampa 1. 50 °C durante 1 min, 50-220 °C a 16 °C/min

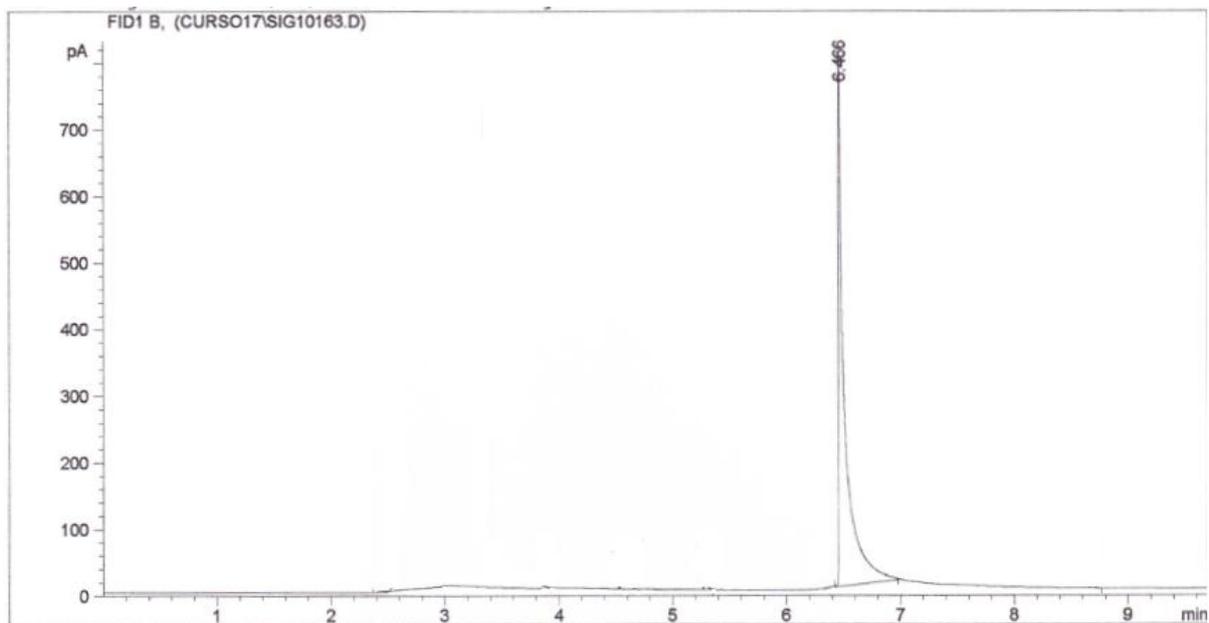


Figura 33. Determinación DMPEA. Rampa 2. 60 °C durante 1 min, 60-220 °C a 16,8 °C/min

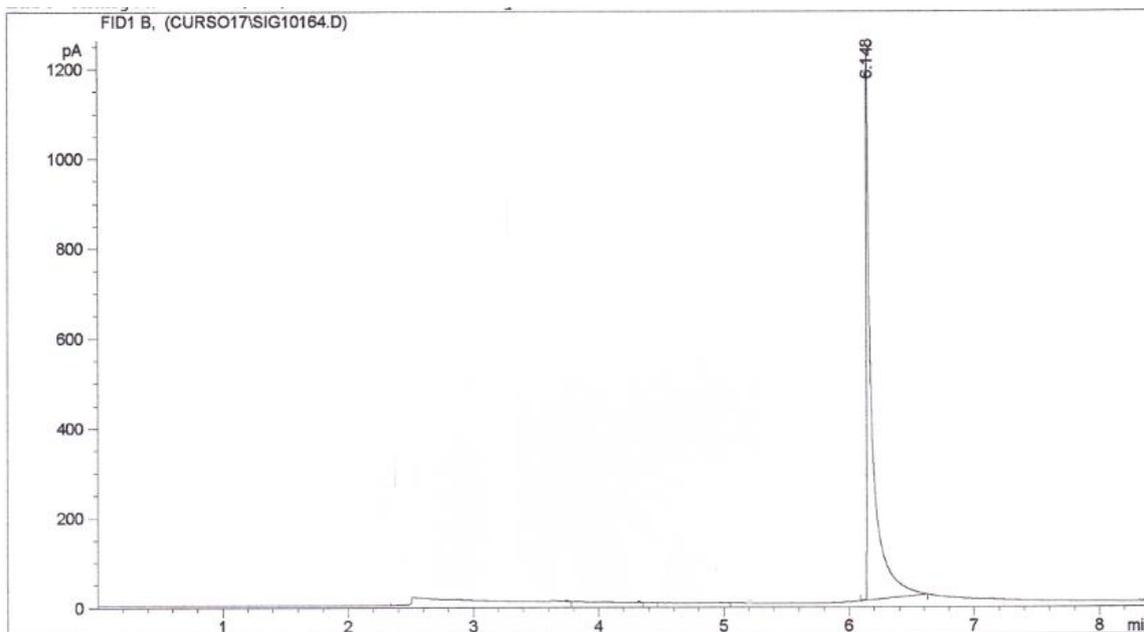


Figura 34. Determinación DMPEA. Rampa 3. 70 °C durante 1 min, 70-220 °C a 18,7 °C/min

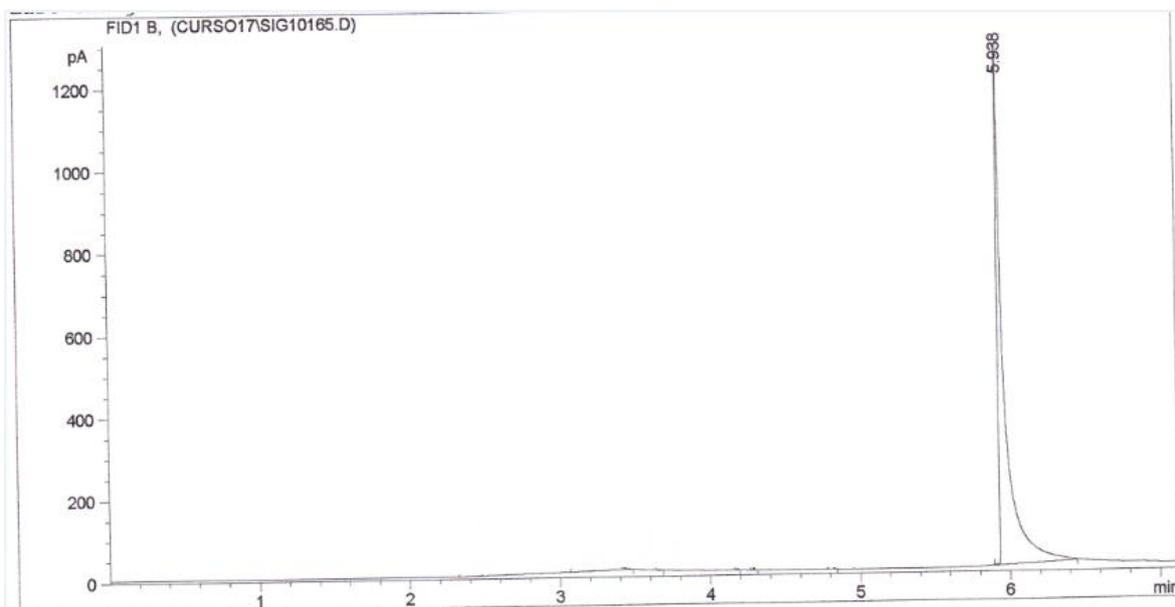


Figura 35. Determinación DMPEA. Rampa 4. 80 °C durante 1 min, 80-220 °C a 20 °C/min

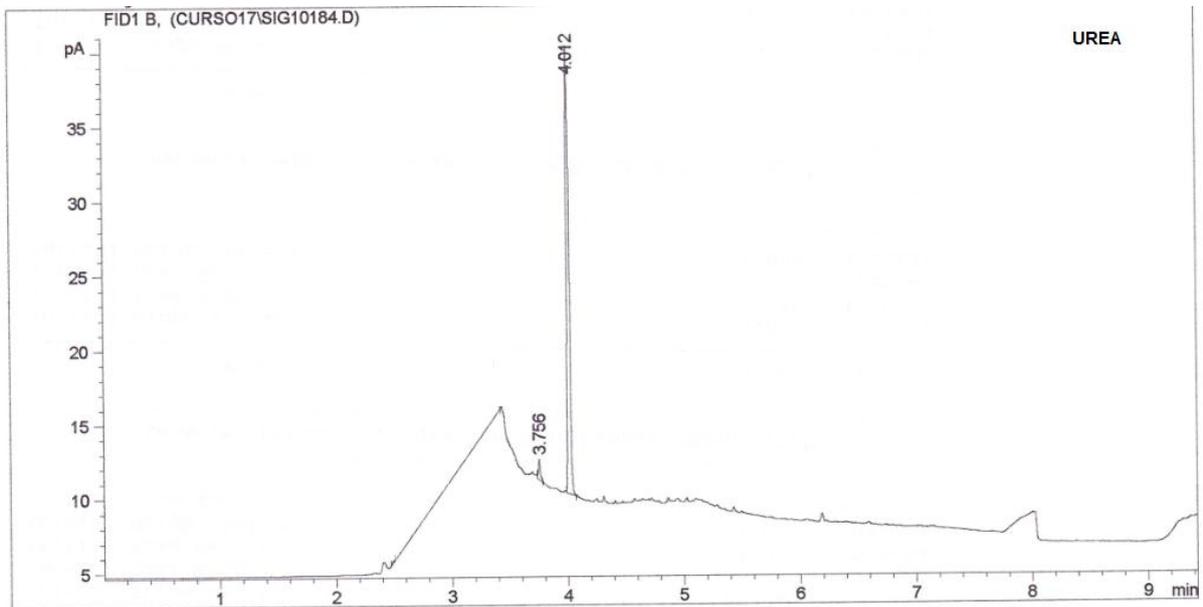


Figura 36. Determinación urea. Rampa 3. 70 °C durante 1 min, 70-220 °C a 18,7 °C/min

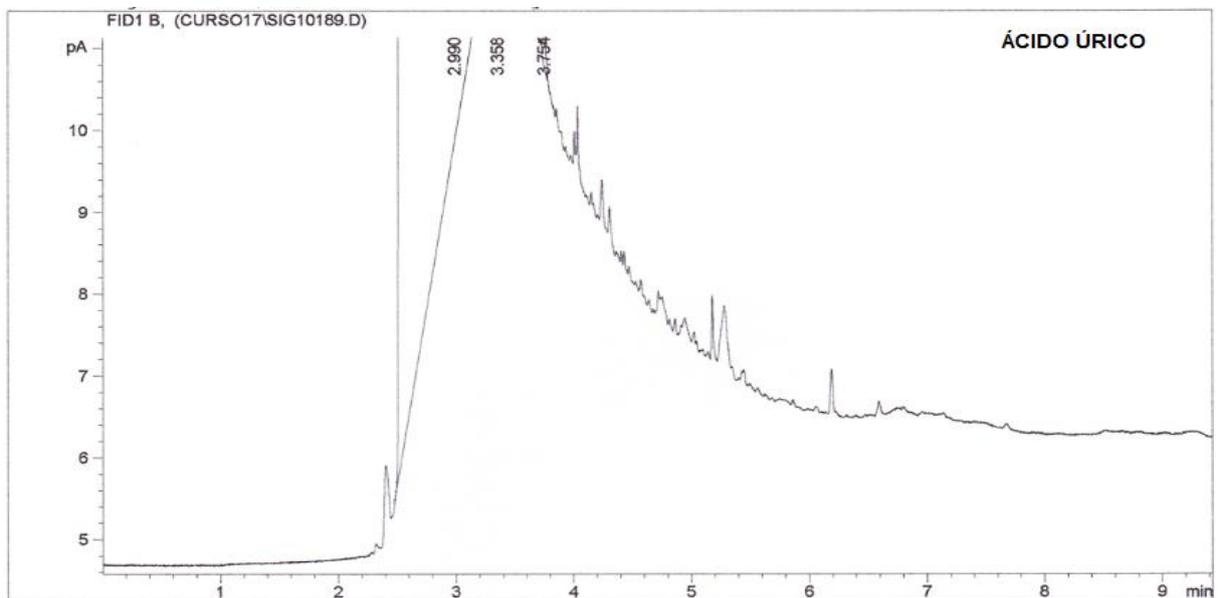


Figura 37. Determinación ácido úrico. Rampa 3. 70 °C durante 1 min, 70-220 °C a 18,7 °C/min

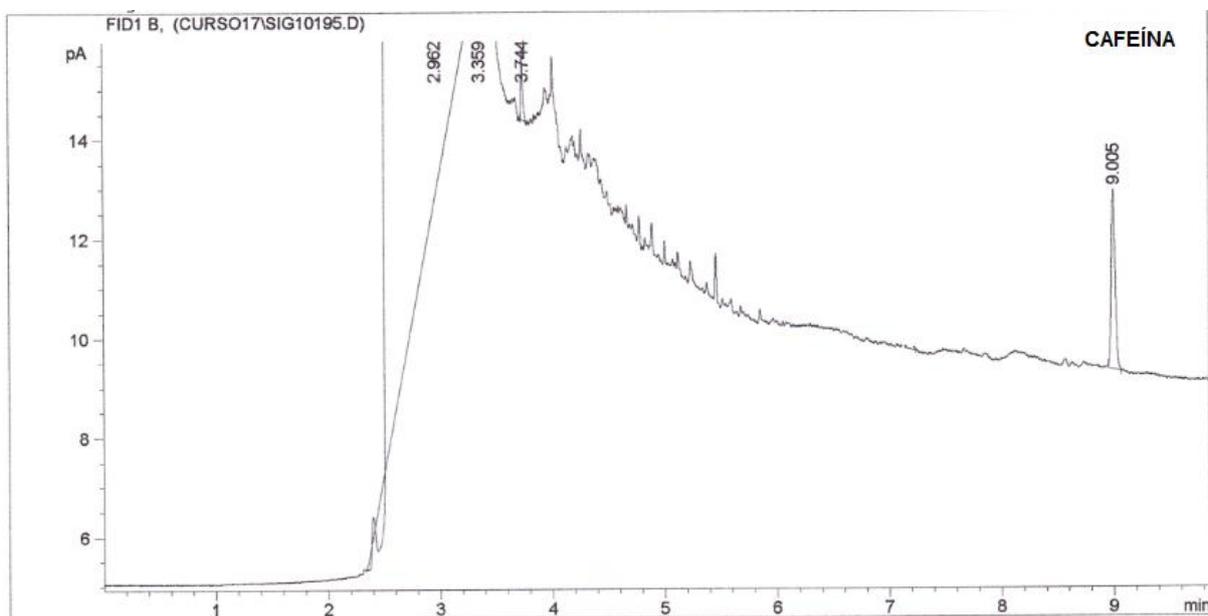


Figura 38. Determinación cafeína. Rampa 3. 70 °C durante 1 min, 70-220 °C a 18,7 °C/min

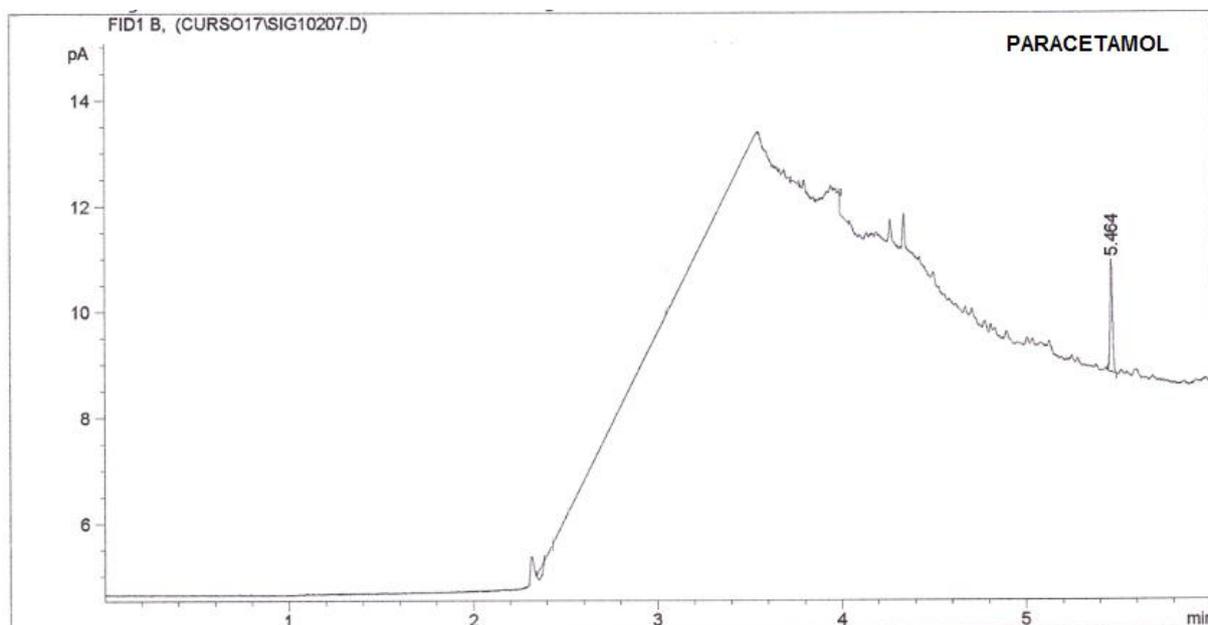


Figura 39. Determinación paracetamol. Rampa 3. 70 °C durante 1 min, 70-220 °C a 18,7 °C/min

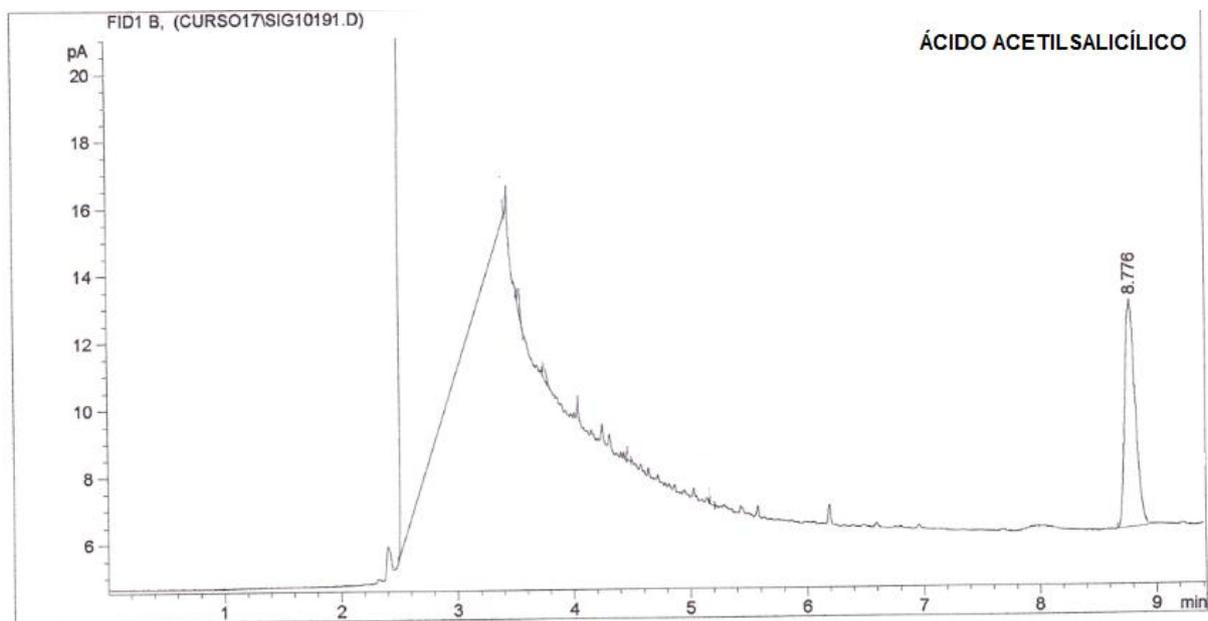


Figura 40. Determinación á. acetilsalicílico. Rampa 3. 70 °C durante 1 min, 70-220 °C a 18,7 °C/min

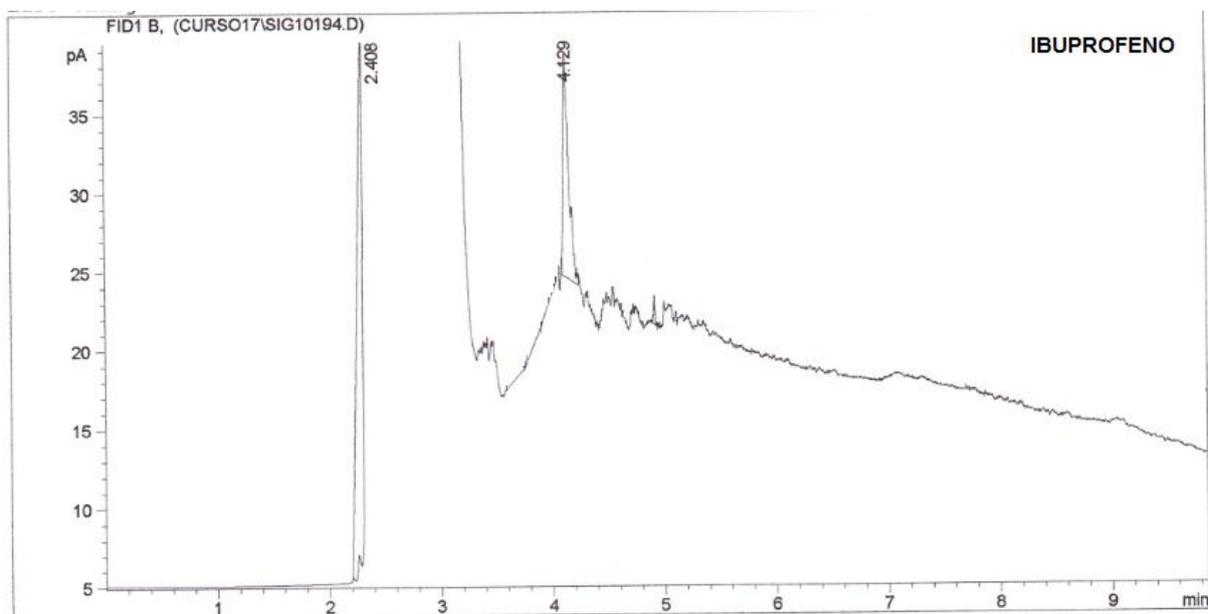


Figura 41. Determinación ibuprofeno. Rampa 3. 70 °C durante 1 min, 70-220 °C a 18,7 °C/min

### 9.2.2. COLUMNA BP20

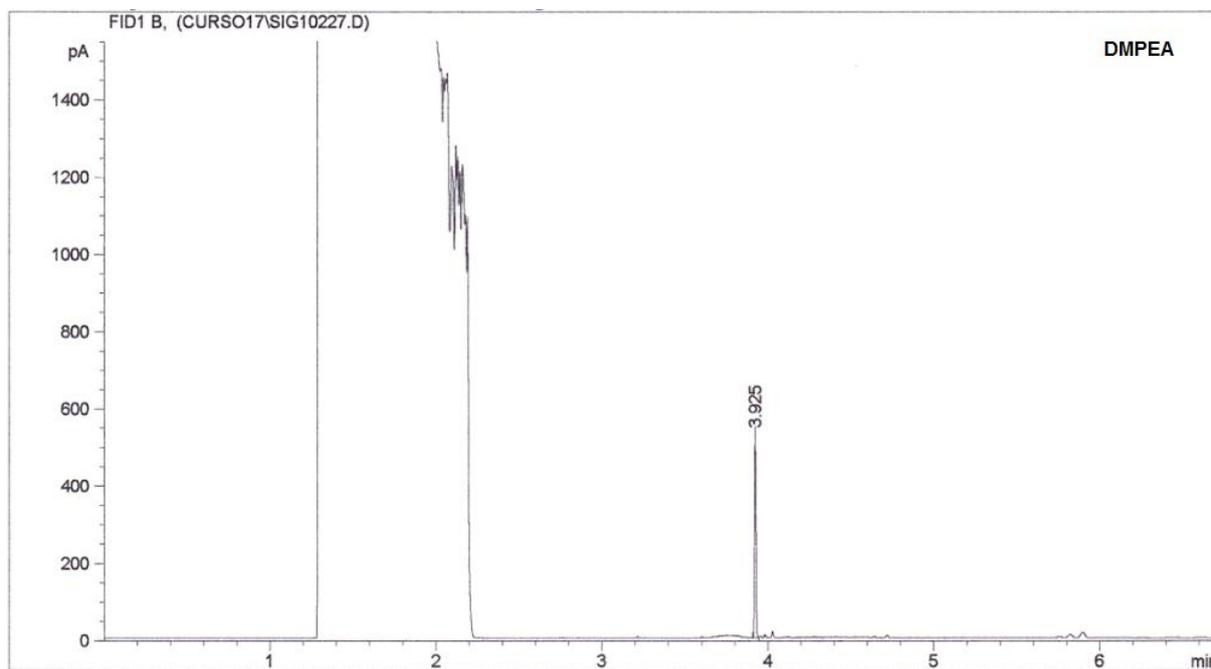


Figura 42. Determinación DMPEA. 50 °C durante 1 min, 70-275 °C a 30 °C/min

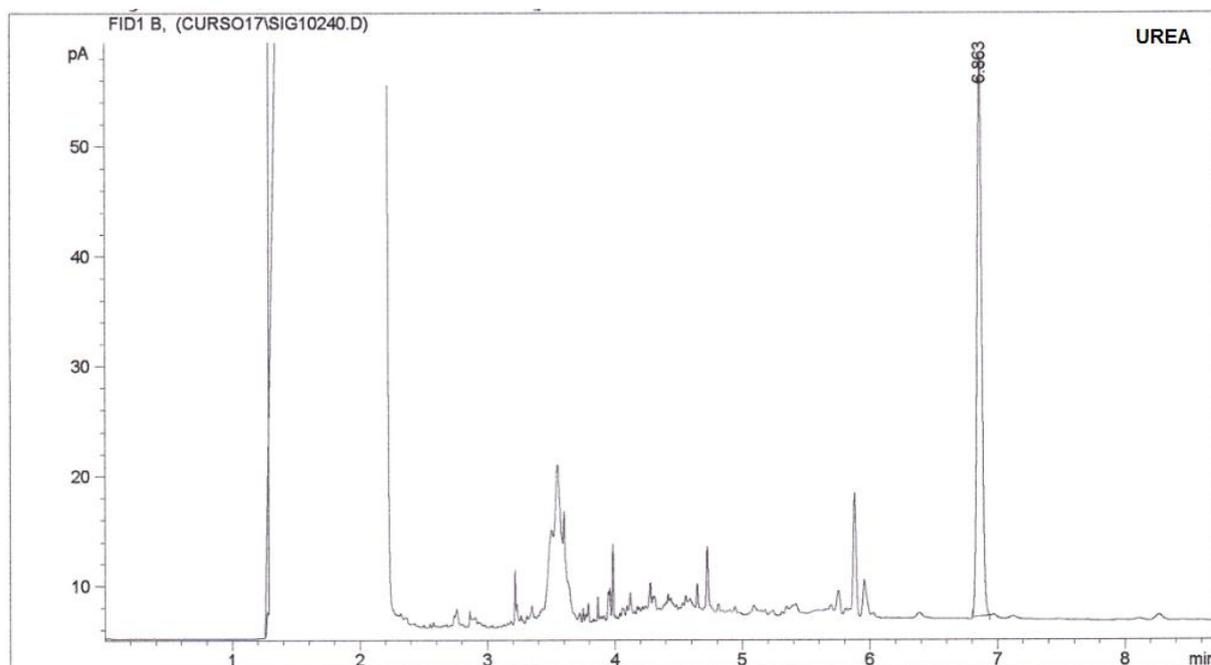


Figura 43. Determinación urea. 50 °C durante 1 min, 70-275 °C a 30 °C/min

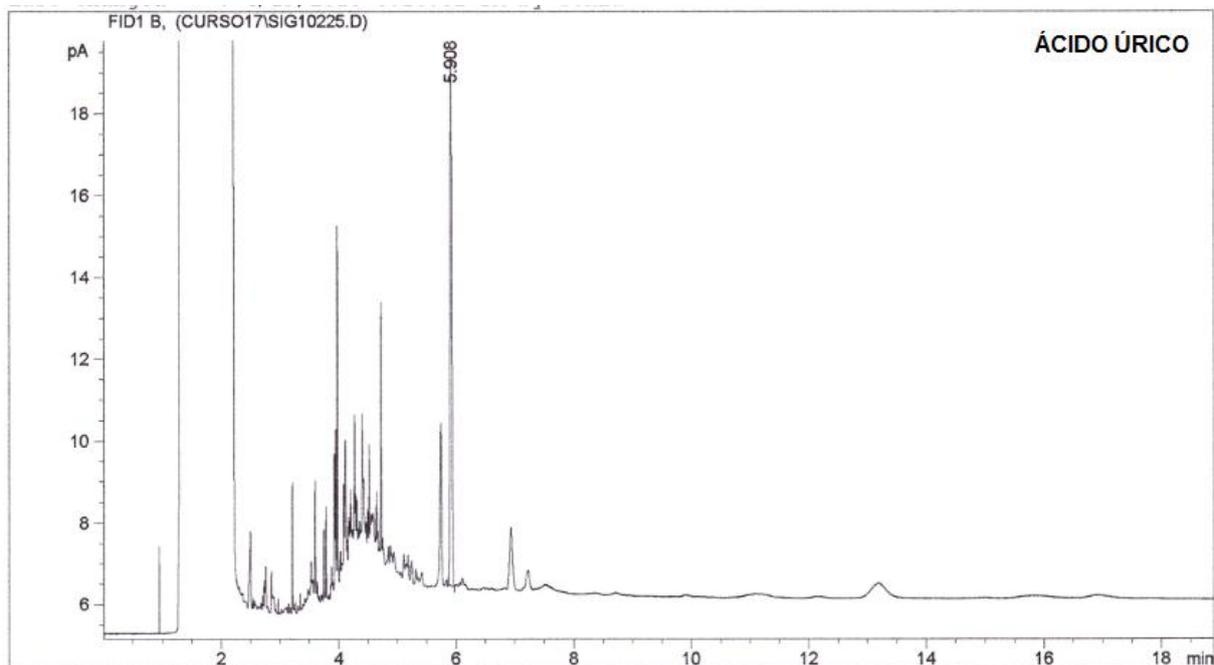


Figura 44. Determinación ácido úrico. 50 °C durante 1 min, 70-275 °C a 30 °C/min

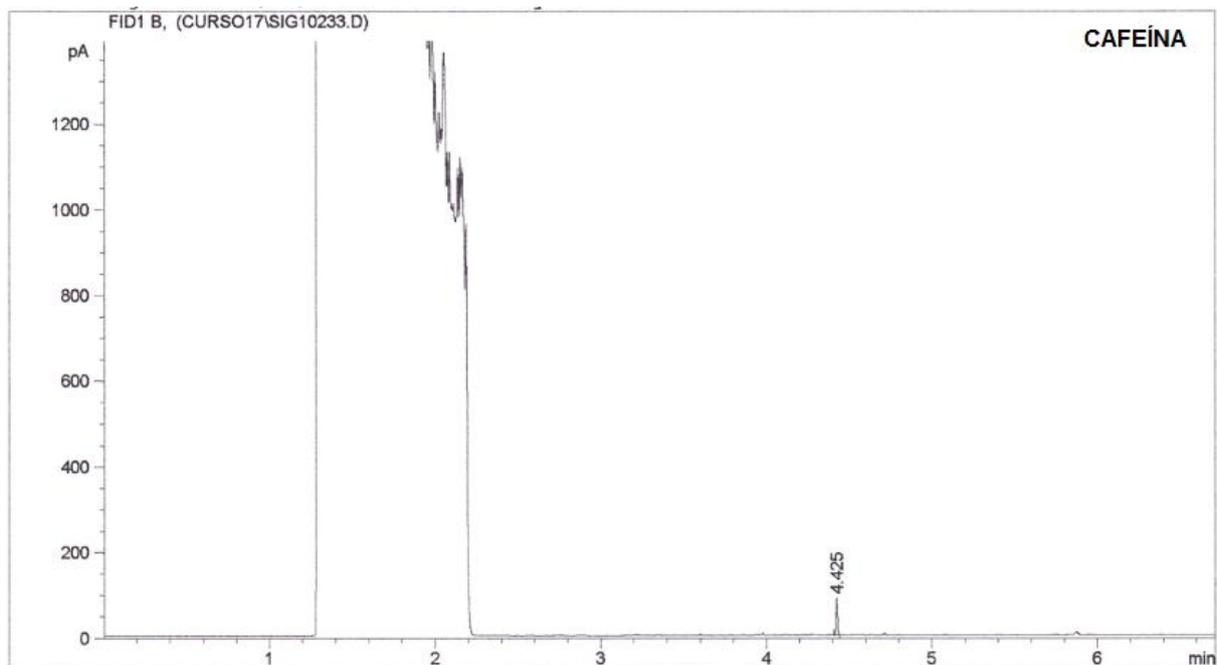


Figura 45. Determinación cafeína. 50 °C durante 1 min, 70-275 °C a 30 °C/min

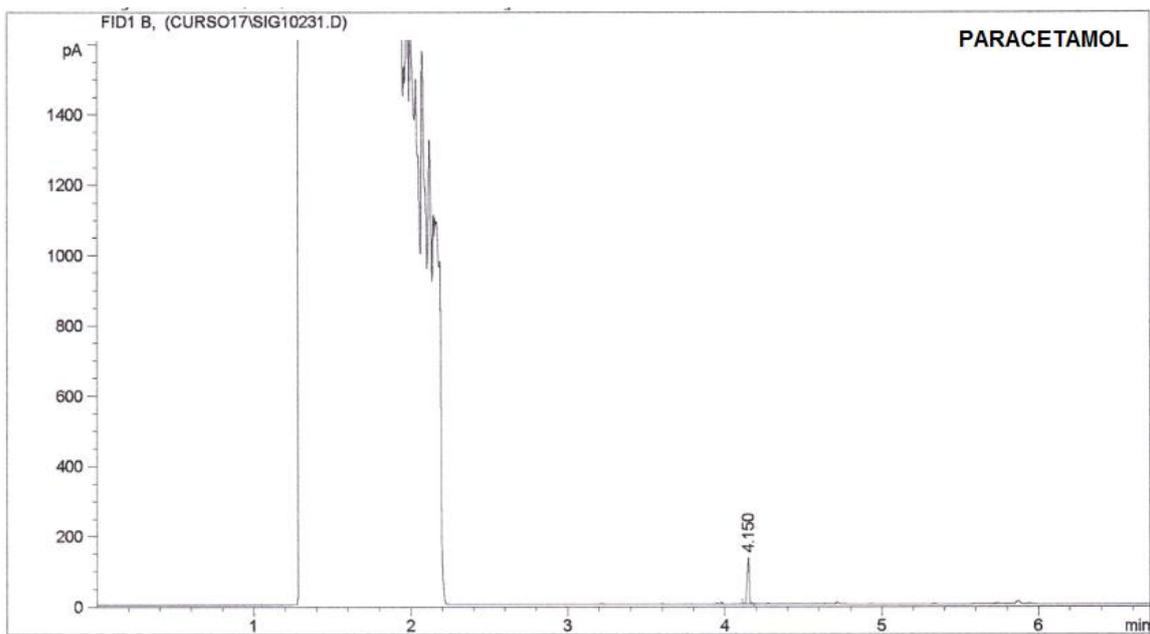


Figura 46. Determinación paracetamol. 50 °C durante 1 min, 70-275 °C a 30 °C/min

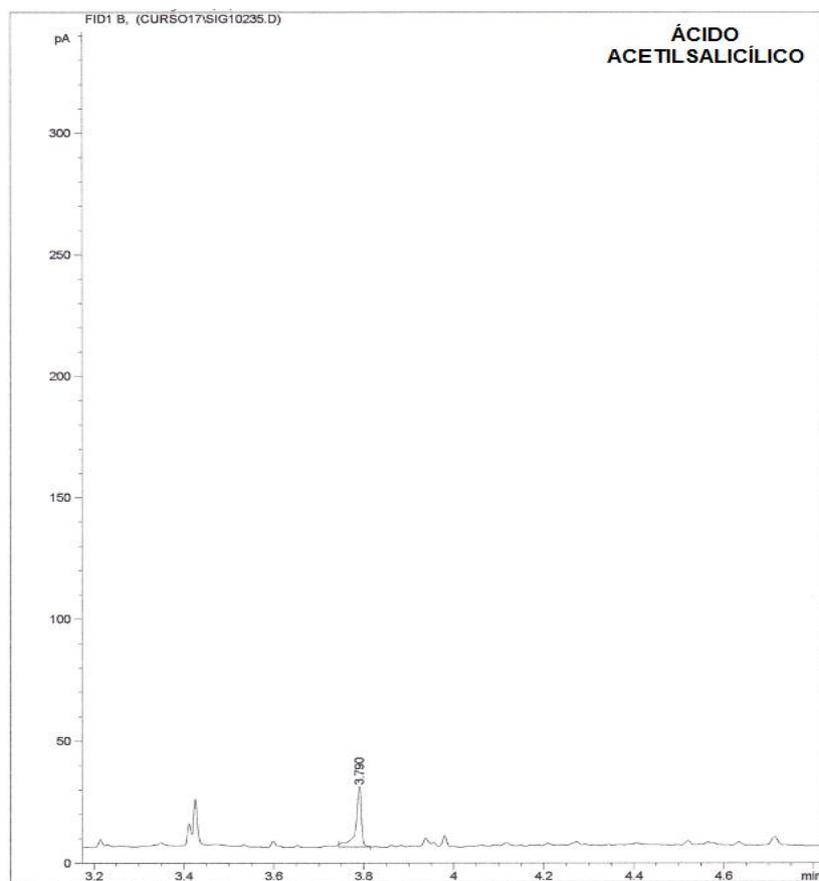


Figura 47. Determinación ácido acetilsalicílico. 50 °C durante 1 min, 70-275 °C a 30 °C/min

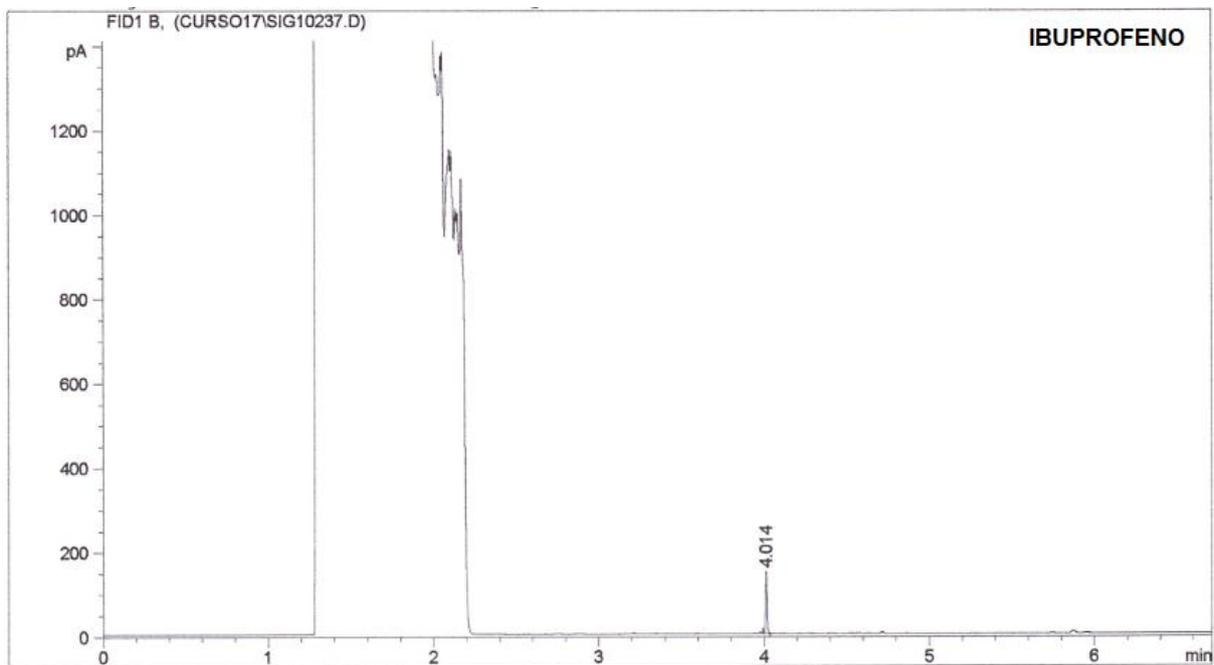


Figura 48. Determinación ibuprofeno. 50 °C durante 1 min, 70-275 °C a 30 °C/min

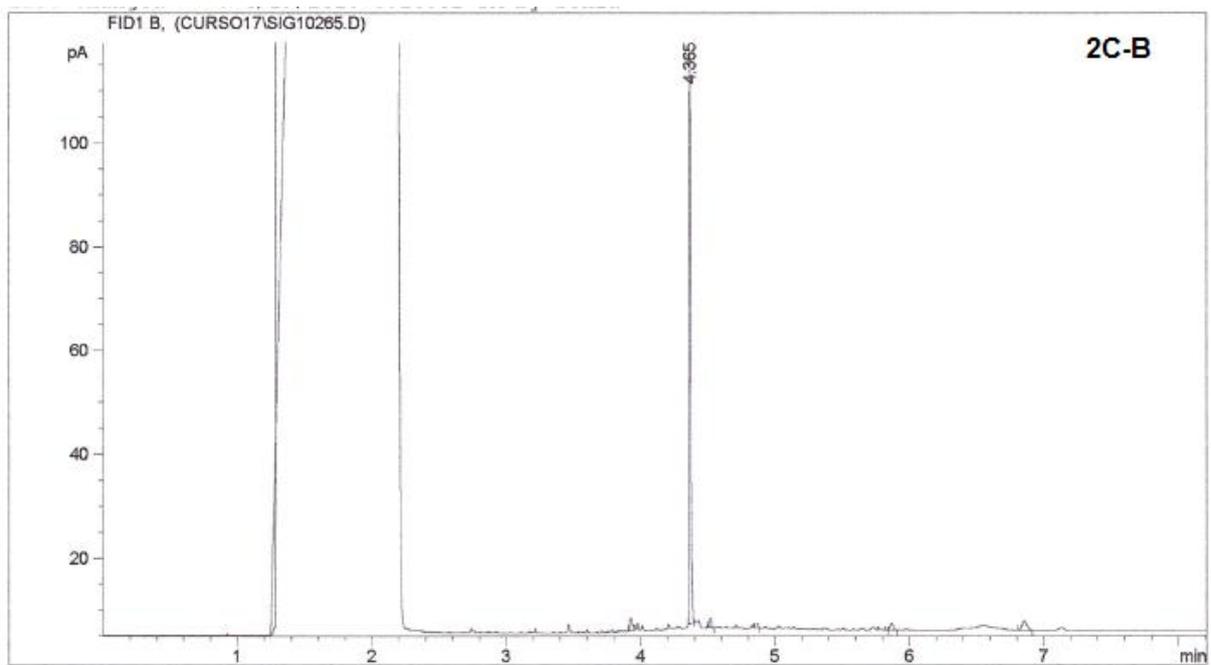


Figura 49. Determinación 2C-B. 50 °C durante 1 min, 70-275 °C a 30 °C/min

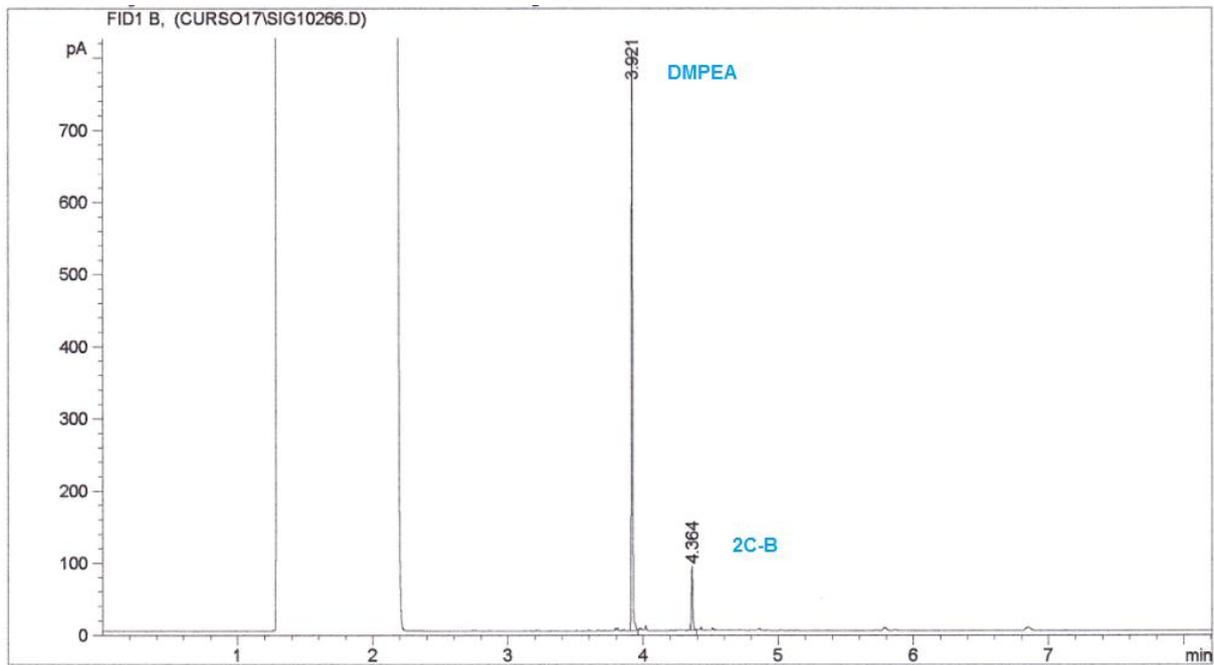


Figura 50. Separación de DMPEA y 2C-B. 50 °C durante 1 min, 70-275 °C a 30 °C/min