



Programa de Disciplina

Código: FMC 3140000

Nome da disciplina: CROMATOGRAFIA LÍQUIDA APLICADA À ANÁLISE DE DROGAS E A OUTRAS SUBSTÂNCIAS BIOTIVAS.

Nº de Créditos: 3,0 _____ Total Horas-Aula: 45 h

Docente: Anicleto Poli (Coordenador)

Semestre/Ano: 1º semestre de 2017

Período: _ 05 _ / _ 04 _ / _ 2017 _ a _ 07 _ / _ 06 _ / _ 2017

Horário: 4ª feiras – 8:20 – 11:50 h

Número de vagas: 10

Local das aulas: FMC - Sala 14

Horário e local de atendimento a alunos:

-
- Será feito agendamento de horário por demanda e o local será em sala apropriada do Depto.

Pré-requisitos:

- Não há. Será dada prioridade aos alunos do programa de pós-graduação em Farmacologia da UFSC.

Ementas:

-
- Princípios gerais de cromatografia líquida – Histórico, conceituação, classificação, mecanismos de separação, fase móvel e estacionária, parâmetros da separação. Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Instrumental utilizado em cromatografia líquida. Desenvolvimento e validação de métodos cromatográficos. Preparo de amostras.

Metodologia de ensino:

-
- Aulas teóricas: Serão desenvolvidas pelos ministrantes através de técnica de exposição oral com projetor multimídia (data-show). Discussão com os alunos de textos de artigos sobre os assuntos apresentados na forma de seminários pelos próprios alunos.
 - Aulas teórico/práticas: Resolução de cálculos e discussão de exercícios e problemas (PBL), preparo de planilhas para cálculos empregando o Microsoft Excel.
 - Aulas práticas: Serão desenvolvidas pelos professores e/ou técnicos com a participação dos alunos. Os alunos trabalharão em grupo e irão propor uma metodologia analítica para análise cromatográfica de uma substância de nosso interesse. Sobre cada atividade prática o aluno produzirá um relatório que fará parte do seu processo de avaliação de desempenho na disciplina.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
Campus Universitário, Trindade, Bloco D/CCB,
Caixa Postal 476, Florianópolis, SC, 88049-970, Brasil
Tel: (048) 3721 2471 Fax: (048) 3721 9813
email: ppgf@farmaco.ufsc.br



Avaliação:

- **Processo de Avaliação e Critérios:** A avaliação será feita continuamente com cada aluno envolvendo conhecimentos que avaliarão os aspectos cognitivos, procedimentais e atitudinais. Assim, será considerada a participação do aluno nas aulas teóricas e a apresentação de seminários. Nas atividades práticas a elaboração de relatórios e exercícios (problemas) a serem resolvidos pelos alunos durante o curso. O valor de cada avaliação será discutido com os alunos no início do curso, quando da apresentação do Plano de Ensino. Em geral são bem aceitas as atribuições de peso 6,0 para os seminários e peso 4,0 para os exercícios, relatórios e participação as aulas incluindo a frequência.
De acordo com normas vigentes da UFSC (Resolução 017/CUn/97), a média da nota para aprovação é 6,0, ficando para recuperação o aluno que obtiver média entre 3,0 e 6,0.
- **Recuperação:** A recuperação consistirá de atividades didático-pedagógicas executadas pelo aluno, sob orientação do professor, durante um período de tempo, destinadas a adquirir competências sobre conteúdos em que não obteve rendimento suficiente, de modo a capacitá-lo para realizar uma nova avaliação.
- **Nova avaliação:** Após as atividades de recuperação uma nova avaliação será realizada sobre os conteúdos para os quais não obteve suficiência anteriormente.

Conteúdo Programático e Cronograma:

I - PRINCÍPIOS GERAIS DE CROMATOGRAFIA.

1 - Introdução. 2 - Histórico. 3 - Classificação da cromatografia. 4 - Mecanismos de interação 5 - Terminologia geral. 6 - Características da fase móvel (Componente forte e fraco), mistura de solventes - água, tampões, acetonitrila, metanol, dioxana, n-hexano, n-heptano, álcool isopropílico, tetrahydrofurano, pH e força iônica. 7 - Características da fase estacionária (recheio) - materiais, estrutura, forma, tamanho das partículas, porosidade das partículas, resistência, eficiência cromatográfica, aplicabilidade. 8 - Características das colunas. 9 - Características da eluição (corrida) - Velocidade de fluxo, eluição isocrática, eluição por gradiente, volume morto, tempo de retenção, temperatura. 10 - Propriedades do analito (soluto ou composto de interesse), identificação e quantificação. 11 - Injeção da amostra - Efeito de volume e carga (massa). 12 - Características do cromatograma - banda, pico (base, altura, área, largura, ombro, cauda. 13 - Parâmetros qualitativos da separação cromatográfica - razão de distribuição das massas ou fator de capacidade (k'), fator de separação (α), retenção relativa, resolução, eficiência, seletividade, repetibilidade. 14 - Aparelhagem.

II - CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (CLAE).



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
Campus Universitário, Trindade, Bloco D/CCB,
Caixa Postal 476, Florianópolis, SC, 88049-970, Brasil
Tel: (048) 3721 2471 Fax: (048) 3721 9813
email: ppgf@farmaco.ufsc.br



1- Princípios de CLAE. 2 – As técnicas da CLAE. 3 – Características das fases móveis usadas em CLAE.
4 - Características das fases estacionárias usadas em CLAE. 5 - Características das colunas usadas em CLAE.

III - INSTRUMENTAL UTILIZADO EM CROMATOGRAFIA LÍQUIDA

A – Instrumentos: 1. Bombas, 2. desgaseificadores, 3. Fornos para colunas, 4. Válvulas de injeção, 5. Auto-injetores, 6. Registradores, integradores e softwares, 7. Detectores (de espectrometria UV – Vis, de Fluorescência, de Índice de refração, Eletroquímico, de espectrometria de massa.

Sobre os detectores: 1. O detector ideal, 2. Princípio de operação, 3. Limite de detecção. 4. Faixa de Linearidade, 5. Tipo e Volume de Cella, 6. Sensibilidade à temperatura, 7. Sensibilidade à vazão de fase móvel e suporte a gradiente, 8. Aplicabilidade.

B - Métodos de Ionização de moléculas: 1. Por impacto de elétrons, 2. Foto-ionização, 3. bombardeamento de íons, 4. bombardeamento com partículas neutras, 5. por eletro-nebulização (ESI), 6. térmica (íon + e -), 7. de campo, 8. química e 9. termo-nebulização.

C- Analisadores de massa: 1. O analisador magnético, 2. O time-of-flight (TOF), 3. O de ressonância Cyclotron e 4. O quadrupolo.

IV – DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS

1. Introdução. 2. Seleção do ensaio e desenvolvimento de métodos cromatográficos. 3. Protocolo Experimental Analítico - (SOPs). 3. Qualidade do método. 4. Recuperação analítica. 5. Recuperação do padrão interno. 6. Padronização. 7. Padrão externo e interno. 8. Seletividade/especificidade. 9. Calibração: Curva de calibração, linearidade e tratamentos dos dados. 10. Sensibilidade: limite de detecção e quantificação. 11. Exatidão (viés). 12. Precisão (variabilidade) 13. Repetibilidade. 14. Reprodutibilidade. 15. Controle de Qualidade (amostras). 16. Estabilidade. 17. Re-ensaios (Repetições). 18. Robustez. 19. Registros e documentos e sua guarda.

V – PREPARO DE AMOSTRAS

1. Extração e purificação/concentração do analito na amostra. 2. Extração líquido-líquido. 3. Extração em fase sólida. 4. Extração com membranas. 4. Automação no preparo de amostras.

VI - ATIVIDADES PRÁTICAS DE LABORATÓRIO



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
Campus Universitário, Trindade, Bloco D/CCB,
Caixa Postal 476, Florianópolis, SC, 88049-970, Brasil
Tel: (048) 3721 2471 Fax: (048) 3721 9813
email: ppgf@farmaco.ufsc.br



1. Demonstração da influência da composição da fase-móvel, da velocidade de fluxo, do pH e da temperatura sobre os parâmetros de separação de drogas (padrões) por HPLC de fase-reversa com detecção UV.
2. Preparo de curva de calibração de um analito (droga) e análise por HPLC.
 - 2.1. Otimização das condições de análise para o analito pela injeção de padrões no HPLC.
 - 2.2. Preparo de Curva de Calibração e modos de diluição.
 - 2.3. Análise, coleta e tratamento dos resultados e elaboração de relatório.

Bibliografia Recomendada e links de interesse:

- 1) COLLINS, C. H., BRAGA, G. L. & BONATO, P. S. Introdução a métodos cromatográficos. Campinas, Editora da UNICAMP, 1993, p. 218-223.
- 2) SNYDER, L. R., GLAJCH, J. L. & KIRKLAND, J. J. Practical HPLC method development. New York, John Wiley & Sons Inc., 1988.
- 3) WILLIS, W. V. Laboratory experiments in liquid chromatography. Boca Raton, CRC Press Inc., 1991.
- 4) VICKREY, T. M. (Editor) Liquid chromatography detectors. New York, Marcel Dekker Inc. 1983.
- 5) CONSTANTIN, E. & SCHNELL, A. Mass spectrometry. Chichester, Ellis Horwood Ltd, 1990.
- 6) AGUILAR M. I. HPLC of Peptides and Proteins. Methods and Protocols. Totowa, New Jersey, Humana Press Inc., 2004.
- 7) SCOTT R. P. W. Liquid chromatography. Library4Science, 2003, <http://www.library4science.com/>
- 8) SCOTT R. P. W. Liquid chromatography detectors. Library4Science, 2003, <http://www.library4science.com/>



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
Campus Universitário, Trindade, Bloco D/CCB,
Caixa Postal 476, Florianópolis, SC, 88049-970, Brasil
Tel: (048) 3721 2471 Fax: (048) 3721 9813
email: ppgf@farmaco.ufsc.br



CRONOGRAMA DE ATIVIDADES

Horários das aulas: 4ª Feiras - 08:20 – 11:50 h.

Local: Sala FMC 14 – Piso térreo (Teóricas) e Laboratório de Farmacocinética (Práticas)

Professor: Anicleto Poli (Responsável) – Sala 116, Fones 3721-4861, email: poli.anicleto@ufsc.br

Data/Aula	Detalhamento do conteúdo	
1º dia 05/04/2017 Teórica	I - Princípios gerais de cromatografia. Apresentação da disciplina; Introdução; Histórico; Classificação da cromatografia; Mecanismos de interação; Terminologia geral. Características da fase móvel; Características da fase estacionária; Características das colunas; Características da eluição; Propriedades do analito; Injeção da amostra; Características do cromatograma; Parâmetros qualitativos da separação cromatográfica.	
2º dia 12/04/2017 Teórica	II - Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Princípios de CLAE; As técnicas da CLAE; Características das fases móveis usadas em CLAE; Características das fases estacionárias usadas em CLAE; Características das colunas usadas em CLAE.	
3º dia 19/04/2017 Teórica	III - Instrumental utilizado em cromatografia líquida (I) Bombas; Desgaseificadores; Fornos para colunas, Válvulas de injeção; Auto-injetores; Registradores, integradores e softwares. Detectores (de espectrometria UV – Vis, de Fluorescência, de Índice de refração, Eletroquímico, de espectrometria de massa).	
4º dia 26/04/2017 Teórica	IV - Desenvolvimento e validação de métodos cromatográficos (I) Introdução; Seleção do ensaio e desenvolvimento de métodos cromatográficos; Protocolo Experimental Analítico - (SOPs); Qualidade do método; Recuperação analítica; Recuperação do padrão interno; Padronização; Padrão externo e interno; Seletividade; Calibração: Curva de calibração, linearidade e tratamentos dos dados; Sensibilidade: limite de detecção e quantificação. Exatidão (viés); Precisão (variabilidade); Repetibilidade; Reprodutibilidade; Controle de Qualidade (amostras); Estabilidade; Robustez; Re-ensaios (Repetições); Re-análise; Registros e documentos e sua guarda	
5º dia 03/05/2017 Teórica	V – Preparo de amostras 1. Extração e purificação/concentração do analito na amostra. 2. Extração líquido-líquido. 3. Extração em fase sólida. 4. Extração com membranas. 4. Automação no preparo de amostras.	
6º dia 10/05/2017	VI – ATIVIDADE PRÁTICA	
7º dia 17/05/2017	VII – ATIVIDADE PRÁTICA	



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
Campus Universitário, Trindade, Bloco D/CCB,
Caixa Postal 476, Florianópolis, SC, 88049-970, Brasil
Tel: (048) 3721 2471 Fax: (048) 3721 9813
email: ppgf@farmaco.ufsc.br



8º dia 24/05/2017	VIII – SEMINÁRIO – DISCUSSÃO DE ARTIGOS	
8º dia 31/05/2017	IX - SEMINÁRIO – DISCUSSÃO DE ARTIGOS	
9º dia 07/06/2017	X – Entrega e discussão dos Exercícios. Planejamento da recuperação (se for o caso).	