

Determinación simultánea de enrofloxacin y ciprofloxacina por espectrometría ultravioleta y métodos de calibración multivariada

William Ricardo da Rosa de Almeida; Felipe Ferrarini Machado; Fávero Reisdorfer Paula; Fabiana Ernestina Barcellos da Silva.

Núcleo de Investigación en Fármacos y Medicamentos – Universidad Federal del Pampa, Campus Uruguiana. RS, Brasil. BR 472. Km 592. CP: 97500970.

* E-mail: willian_almeid@hotmail.com

Introducción: Espectroscopia UV-visible es una herramienta útil en la determinación de los fármacos porque es simple, rápida y de bajo costo. Además, la mayoría de los fármacos tiene una absorción en esta región debido a la presencia de dobles enlaces en las moléculas. Sin embargo, la metodología no tiene selectividad, cuando se utiliza para la cuantificación de fármacos que tienen la misma absorción en la región del espectro. Para la determinación de las mezclas de fármacos por espectrometría en el ultravioleta es necesario asociarlo con métodos de calibración multivariada, que permite la separación matemática de las señales superpuestas y el desarrollo de modelos de calibración que pueden predecir la cantidad de la droga sin una separación física de los analitos. Los métodos de calibración multivariada como PLS (*partial least squares*), son populares en el análisis cuantitativo, ya que han sido utilizados con diversos tipos de análisis como los espectroscópicos e cromatográficos. Estos métodos producen modelos basados en la información disponible por una relación entre la señal analítica y la propiedad de interés (la concentración, en la mayoría de los casos). Una de las características más interesantes de este tipo de análisis es el número de variables que se pueden medir en una sola muestra, y también la ventaja de determinación simultánea, la velocidad, un menor costo y la necesidad de una menor manipulación de la muestra. La enrofloxacin es un antibiótico que pertenece a la clase de las fluoroquinolonas, siendo utilizado con éxito en la práctica veterinaria en el tratamiento de infecciones respiratorias y gastrointestinales en los animales grandes y pequeños. Su metabolito principal es la ciprofloxacina, producida después de desacetilación del anillo piperazina. En la literatura no fueron encontrados artículos relacionados con la determinación

simultánea de estos compuestos por espectroscopia ultravioleta y calibración multivariada.

Objetivo: Desarrollar un método analítico para la determinación simultánea de enrofloxacin (ENRO) y su principal metabolito ciprofloxacina (CIPRO) en la espectrometría de rayos ultravioleta (UV) en combinación con métodos de calibración multivariada.

Experimental: Los datos espectrales fueron registrados en espectrómetro UV-VIS 1800 (Shimadzu), en el intervalo 200-500 nm. Los modelos de calibración y previsión consistían en 38 muestras sintéticas de ENRO y CIPRO, considerando las bandas de concentración de 0,25 a 9,75 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para ENRO y 0,25 a 9,75 $\mu\text{g mL}^{-1}$ a CIPRO. Dos soluciones iniciales con 1 mg mL^{-1} ENRO y 1 mg CIPRO mg mL^{-1} fueron diluidas en una mezcla de agua: acetonitrilo (1:2, v/v) y se sometió a sonicación por 10 minutos. Para las diluciones posteriores se utilizó el mismo solvente. El mismo procedimiento se adoptó en la presencia del agente complejante, p-nitrofenol (25 $\mu\text{g mL}^{-1}$). Para el desarrollo de modelos de regresión PLS se utilizó el software Unscrambler 6.11 (CAMO® S.A.). Después de derivación, los modelos fueron obtenidos con toda la información del espectro. Dos modelos fueron generados por ENRO (con y sin p-nitrofenol) y dos para el CIPRO (con y sin p-nitrofenol). La precisión fue determinada por la raíz cuadrada del error cuadrático de predicción - RMSEP y linealidad de los datos, mediante la determinación del coeficiente de correlación - R^2 .

Resultados: Todos los modelos fueron construidos con 4 variables latentes, con el tratamiento de la "validación cruzada". RMSEP de los modelos desarrollados para ENRO con y sin p-nitrofenol fueron 0,44 $\mu\text{g mL}^{-1}$ y 1,12 $\mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente. Para CIPRO se obtuvo RMSEP de 0,44 $\mu\text{g mL}^{-1}$ en presencia de p-nitrofenol y 1,18 $\mu\text{g mL}^{-1}$ en ausencia de agente complejante. Los coeficientes de correlación obtenidos para los modelos de ENRO fueron de 0,99 y 0,98. Para CIPRO, los coeficientes de correlación obtenidos fueron 0,98 y 0,97.

Conclusión: De este estudio fue concluido que el espectro ultravioleta en combinación con métodos de calibración multivariada es una herramienta útil en la determinación de ENRO y CIPRO. El modelo construido con la presencia de p-nitrofenol fue el más adecuado para la determinación del fármaco debido al menor error de previsión obtenida. Así, esa metodología puede ser usada para la medición de los fármacos en muestras biológicas o en el medio ambiente, sin la necesidad de una etapa de separación previa (preparación de la muestra) o el uso de métodos cromatográficos.

Referencias

MARTINEZ, M.; MCDERMOTT, P.; WALKER, R. **Pharmacology of the fluoroquinolones: A perspective for the use in domestic animals.** *Vet J.* 172, 2006, 10-28.