

2016 Mayo, 6(2): 1-1

ENSAYO COMPARATIVO DE NITROXINIL POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTO RENDIMIENTO Y POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS

Errecaide J.O., Schinella G., Errecaide F.A., Raimundo L, Vecchioli G.

Cátedra de Farmacología Básica, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de La Plata. Calle 60 y 120 (1900) La Plata, Argentina. jerrecaide@yahoo.com

Introducción

El nitroxinil (NTX) es un análogo del hexaclorofeno con actividad fasciolicida. El NTX se liga muy fuertemente a las proteínas plasmáticas. Por ello, los niveles en plasma son más altos que los niveles en los tejidos. El NTX se metaboliza muy lentamente y la excreción por orina y heces dura más de 30 días en todas las especies animales. Una parte también se excreta por la leche. La persistencia de sus residuos en tejidos animales puede representar un riesgo para la salud pública. Por esta razón, el desarrollo de métodos eficaces para su detección y cuantificación son de gran importancia. La metodología más utilizada es la cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC), se trata de una técnica bastante laboriosa y cara. Sin embargo, dadas las características de la molécula, la espectrofotometría podría aportar soluciones prácticas y económicas.

Objetivo

Comparar la metodología de ensayo de nitroxinil por HPLC con una por espectrofotometría UV-VIS.

Materiales y Métodos

Estándares de NTX fueron analizados usando un sistema HPLC-UV y un sistema espectrofotométrico. Los métodos fueron desarrollados y validados en el laboratorio de ensayo.

Para la construcción de las curvas de calibración (CC) se preparó una solución madre de NTX patrón de concentración 1 mg/mL disuelto en acetonitrilo. Luego se hicieron diluciones y se construyeron soluciones patrón de NTX en el rango de 0,5 - 200 µg/mL.

Calibración mediante espectrofotometría UV-VIS: Utilizando un espectrofotómetro Beckman DU 640 se procedió a determinar la curva espectral de NTX y determinar las longitudes de onda óptimas para determinar la CC que se correspondieron a 210, 240 y 350 nm. Con las soluciones patrones se procedió a registrar la relación absorbancia vs. concentración y con estos datos se realizó una regresión lineal. El límite de cuantificación (LOQ) fue definido como la concentración del estándar que corresponde a diez veces la relación señal/ruido. Los coeficientes de correlación fueron: para 240 nm, $R^2 = 0,9972$ con un LOQ: 7,8 µg/mL, y para 350 nm $R^2 = 0,9994$, LOQ: 15,2 µg/mL. El rango de linealidad más amplio se correspondió con la curva de calibración medida a 350 nm que alcanzó los 150µg/mL.

Calibración mediante HPLC UV: Se utilizaron reactivos y materiales para HPLC. Se utilizó un equipo HP 1050 con bomba cuaternaria, detector UV variable seteado a 270 nm, horno de columna, desgasificador, Soft Chemstation, columna Beckman ultrasphere ODS, loop de 20 µl. Fase móvil Fosfato de potasio monobásico:acetonitrilo, flujo 1 ml/min, temperatura 30°C. Los ensayos cromatográficos en plasma bovino fueron lineales en los rangos ensayados: NTX 3.125 - 100 µg/ml y LVM: 0,05-1,0 µg/ml

El método usado fue específico, ya que no se encontraron interferencias al tiempo de retención de NTX. El límite de cuantificación fue de 3,125 µg/ml. El coeficiente de correlación fue de $R^2 = 0,9989$.

Discusión y conclusiones

El ensayo cromatográfico fue lineal en los rangos ensayados. El ensayo espectrofotométrico representa una metodología práctica, rápida, exacta y precisa para la determinación de concentraciones de nitroxinil en matrices biológicas dentro de rangos previamente determinados, que puede resultar de gran utilidad.

Palabras claves: Nitroxinil, espectrofotometría, HPLC.