

Avaliação do fator de retenção (k) para antibióticos aminoglicosídeos utilizando cromatografia de pareamento iônico e detecção por ELSD.

Angela Cavallini De Pietro (PG)*, Fernando G. de Almeida (IC), Quezia B. Cass (PQ) - pietro@dq.ufscar.br

Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos – UFSCar, C.P.676, CEP 13565-905, São Carlos, SP.

Palavras Chave: Cromatografia de Pareamento Iônico, ELSD, Aminoglicosídeos.

Introdução

Os aminoglicosídeos são antibióticos amplamente utilizados no tratamento de doenças causadas por bactérias aeróbicas gram-negativas e gram-positivas. Devido à alta toxicidade apresentada por estes compostos, o desenvolvimento de métodos analíticos rápidos e eficientes para análises de formulações, monitoramento terapêutico e controle residual em alimentos, torna-se necessário.

Em cromatografia líquida de alta eficiência, as propriedades físico-químicas apresentadas por estes compostos são bastante desafiadoras, uma vez que são compostos de poliaminas polares com baixa absorvância no UV.

Os métodos cromatográficos descritos¹ são indiretos e fazem uso de pré ou pós-colunas de derivação para detecção no UV ou por fluorescência. Deste modo, a cromatografia de pareamento iônico com auxílio de detectores universais como MS, RID e ELSD tornam-se importantes ferramentas para o desenvolvimento de métodos diretos de análise.

Resultados e Discussão

O conhecimento do comportamento cromatográfico destes compostos na cromatografia de pareamento iônico é essencial para o desenvolvimento dos métodos de análise. Visando contribuir para tal conhecimento, um estudo de concentração de diferentes agentes de pareamento iônico para duas colunas cromatográficas diferentes (C_{18} e Fenil) foi realizado com o auxílio do detector de espalhamento de luz (ELSD).

Os antibióticos aminoglicosídeos selecionados para o estudo foram estreptomicina, neomicina e gentamicina e os agentes de pareamento iônico selecionados foram TFA, HFBA e PFPA avaliados nas concentrações 0,005; 0,01; 0,05; 0,08 e 0,1M.

As condições do detector foram ajustadas de acordo com a fase móvel avaliada para eficiente evaporação e detecção da amostra.

De acordo com os resultados obtidos para a coluna C_{18} , o ácido TFA foi seletivo para o antibiótico gentamicina, onde uma separação cromatográfica excelente dos componentes da mistura foi obtida a partir da concentração 0,05M (Figura 1B). Os outros ácidos avaliados ofereceram uma separação parcial.

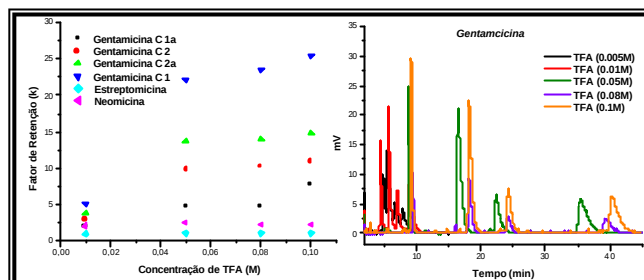


Figura 1A: k dos aminoglicosídeos estudados de acordo com a concentração de TFA para a coluna C_{18} . **Figura 1B:** Cromatogramas obtidos na coluna C_{18} .

Os fatores de retenção calculados apresentaram uma resposta linear com o aumento da concentração de TFA para a gentamicina e uma resposta constante para a estreptomicina e neomicina (Figura 1A).

Um leve decréscimo foi observado nos fatores de retenção para o aumento da concentração de HFBA e um decréscimo acentuado seguido de um leve aumento pode ser observado para os três antibióticos com a utilização do ácido PFPA.

A coluna fenil apresentou-se mais retentiva para os três antibióticos avaliados nas concentrações mais baixas e com nenhuma resolução para a gentamicina para os três ácidos avaliados. Nenhuma diferença significativa foi observada com o aumento da concentração dos ácidos.

Conclusões

De acordo com esta avaliação, pode-se verificar que os mecanismos cromatográficos envolvidos na cromatografia de pareamento iônico para as colunas fenil e C_{18} são diferentes de acordo com os agentes perfluorinados avaliados. Na coluna fenil, o par iônico é formado na fase móvel e a retenção ocorre por hidrofobia; já na coluna C_{18} o mecanismo de formação do par iônico ocorre na fase estacionária com retenção por troca iônica.

O ácido TFA foi bastante seletivo para a gentamicina na coluna C_{18} e um maior tempo de retenção foi observado para a neomicina na coluna C_{18} com a utilização do HFBA como agente pareante. Nenhuma diferença significativa para a estreptomicina



foi observada para os ácidos e colunas avaliadas.

Agradecimentos

1 Isoherranen, N., Soback. S.: **Chromatographic Methods for Analysis of Aminoglycosides Antibiotics.** Journal of AOAC International, 82 (5): 1017-1045, 1999.