



Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE CIENCIAS

ASPECTOS BIOFARMACEUTICOS DEL DIAZEPAM

T E S I S

Que para obtener el título de:

B I O L O G O

P r e s e n t a :

MARIA ELENA MORENO GOMEZ

México, D. F.

1982





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

INDICE

	Página
I. INTRODUCCION	1
OBJETIVO	4
II. PROPIEDADES FISICOQUIMICAS	5
III. DETERMINACION EN FLUIDOS BIOLÓGICOS	7
IV. FARMACOCINETICA	15
V. USOS TERAPEUTICOS	20
VI. EFECTOS FARMACOLOGICOS	22
6.1 Efectos Farmacológicos en Humanos	
6.2 Toxicidad Crónica en Humanos	
6.3 Alteraciones Genéticas	
6.4 Efectos Farmacológicos en Animales	
VII. DEPENDENCIA Y TOLERANCIA	32
7.1 Dependencia	
7.2 Tolerancia	
7.3 Síndrome de Abstinencia	
VIII. FACTORES QUE AFECTAN LA BIODISPONIBILIDAD	36
IX. DOSIFICACION Y CONCENTRACIONES SANGUINEAS	41
9.1 Dosis	
9.2 Concentraciones Sanguíneas	
X. ASPECTOS SOCIOECONOMICOS	45
XI. CONCLUSIONES	48
XII. BIBLIOGRAFIA	51

I. INTRODUCCION.

Las Benzodiazepinas son un grupo numeroso de sustancias sintéticas relacionadas estructuralmente, cuyos miembros tienen aplicación terapéutica (32).

En el Mercado Nacional existen varias clases de Benzodiazepinas para uso médico:

Clordiazepóxido (7 Cloro-2-metilamino-5-fenil-3H-1,4 benzodiazepina-4-óxido)

Diazepam (7 Cloro-1-metil-5-fenil-1,3 dihidro-2H-1,4 benzodiazepina-2-ona)

Oxazepam (7 Cloro-3-hidroxi-5-fenil-1,3 dihidro-2H-1,4 benzodiazepina-2-ona)

Nitrazepam (7 Nitro-5-fenil-1,3 dihidro-2H-1,4 benzodiazepina-2-ona)

Lorazepam (7 Cloro-3-hidroxi-5 o clorofenil-1,3 dihidro-2H-1,4 benzodiazepina-2-ona)

Medazepam (7 Cloro-1 metil-5-fenil-1H-1,4-benzodiazepina) (32).

Se encuentran bajo investigación el Clonazepam, Ciprazepam, Flunidazepam, Prazepam, Sulazepam, Triazolobenzodiazepina (32).

Todos son polvos cristalinos, incoloros, el Nitrazepam (NIT) es ligeramente amarillo; el Clordiazepóxido (CDZ) es fotosensible y muy inestable al sol. Todos son solubles en agua, excepto el Diazepam (DIA) y el NIT; el primero es más soluble en lípidos y el último en alcohol. El CDZ es el medicamento representativo de este grupo (32).

Entre la gran variedad de compuestos que pertenecen al grupo de Benzodiazepinas no se conoce que haya diferencias reales en el mecanismo de acción y efectos del tipo de fármaco (30). No obstante, la diferencia que existe en la farmacocinética radica en el número de halóge-

nos y en la presencia o ausencia del radical metil, u otros grupos, en posición 1 y/o de un grupo hidroxil en posición 3; las dosis empleadas — y la duración e intensidad de los efectos pueden variar substancialmente de una benzodiazepina a otra (30). Esto implica que la variedad de benzodiazepinas, aunque muy similares en sus efectos, no pueden ser consideradas como equivalentes desde un punto de vista práctico. La elección de uno u otro de estos fármacos, sería dispuesto por la situación clínica y por un conocimiento preciso de su acción farmacocinética (30). El metabolismo es muy similar entre ellos, con la excepción de la posición del grupo NO_2 , todos los compuestos tarde o temprano sufren una desalquilación en el nitrógeno en posición 1 e hidroxilación en posición 3. Estos 2 derivados son de hecho los principales metabolitos para una variedad de compuestos y son subsecuentemente conjugados a derivados glucuronidos, los cuales son rápidamente excretados por la orina. En base los datos disponibles, la formación de los derivados metabólicos en el hombre parahidroxifenil no parecen ser farmacológicamente importantes (30).

Todas las benzodiazepinas se distribuyen ampliamente en el cuerpo, alcanzan concentraciones considerables en el cerebro, hígado, riñones, músculo esquelético, tejido adiposo y atraviesan fácilmente la barrera placentaria, en especial el DIA (32).

Las benzodiazepinas actúan en 3 sitios principalmente: activa el sistema reticular, el sistema límbico y el centro espinal; las más importantes acciones farmacológicas se llevan a cabo sobre el Sistema Nervioso Central y se traducen en efectos tranquilizantes (ansiolíticos), relajantes musculares, anticonvulsivantes, sedantes, hipnóticos, psicotrópicos, antiepilépticos. El propilenglicol, como disolvente en soluciones inyectables, potencia los efectos de las benzodiazepinas (32). Las benzodiazepinas se aplican clínicamente a gran variedad de trastornos emocionales "primarios" y enfermedades neurológicas y mentales (32).

Las benzodiazepinas son superiores a los barbitúricos, propandiol, hidroxizina y el placebo en el tratamiento de individuos altamente ansiosos, con neurosis de ansiedad y depresiones neuróticas cuando la — ansiedad y la agitación son componentes sobresalientes del cuadro; y se usan como auxiliares en las sesiones de desensibilización en el tratamiento de fobias (32).

Las benzodiazepinas tienen relación farmacológica con el meprobamato, más que otros derivados pero tienen diferencias definidas — (12).

En 1960, el CDZ llegó a ser la primera 1,4 benzodiazepina que se introdujo en la práctica clínica, le siguió su análogo aún más potente, el DIA y en 1970 el Flunidazepam (40). El Oxazepam es un metabolito del DIA, que difiere de él por la sustitución de un hidroxilo por un — hidrógeno (12). En la práctica clínica, a los dos primeros se les conoce como ansiolíticos y se emplean comúnmente en los estados de depresión siendo similares a los barbitúricos (12). La acción del CDZ es más larga que la del DIA y del OXA siendo la de éste último la más corta (12).

El DIA fue sintetizado por primera vez en 1959 y se introdujo en la práctica clínica en 1960 como agente ansiolítico y relajante muscular (15). El DIA puede sintetizarse a partir de 2-metil-amino-5-cloro benzofenona y etil glicinato o por gran variedad de rutas (15). El DIA se ha conocido desde 1963 como Valium después de la aspirina ha llegado a ser el medicamento más ampliamente utilizado en el Mundo Occidental (15).

OBJETIVO.

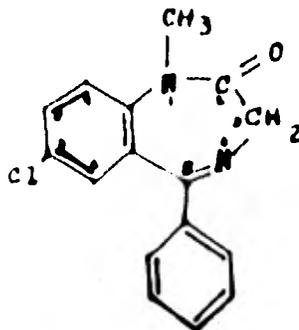
En esta revisión bibliográfica se destacan las características Biofarmacéuticas del Diazepam (DIA), uno de los fármacos comúnmente utilizados en el país y en el mundo occidental. Se dan las propiedades físicoquímicas y los métodos de determinación en fluidos biológicos, finalmente se menciona la necesidad de evaluar la biodisponibilidad de los medicamentos con diazepam en el mercado nacional.

II. PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS.

Nombre químico: 7-Cloro-1,3-dihidro-1-metil-5-fenil-2H
-1,4-benzodiazepina-2-ona

Fórmula condensada: $C_{16}H_{13}ClN_2O$

Fórmula estructural:



Propiedades Físicas.

Aspecto Físico: polvo inodoro y cristalino de color que
varía de blanco a amarillo

Punto de fusión: 125-126^oC

Rotación específica: ópticamente inactivo

pKa: 3.4

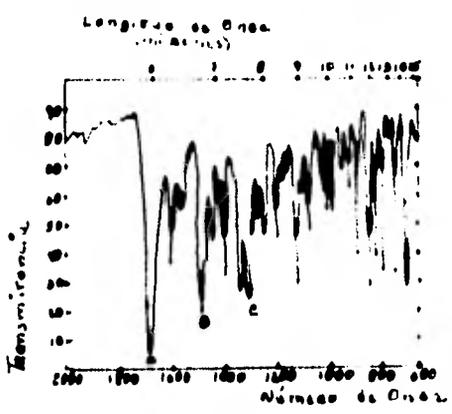
Solubilidad: a temperatura ambiente, 1 g de DIA se disuelve en
en 20 ml de agua, 56 ml de dietil éter, 20 ml de
metanol, 4.5 ml de benceno y menos de 2 ml de --
cloroformo (15)

PM: 284.74

Absorción UV: λ máx en 242, 285 y 368 nm (en HCl 2N) (15)

Pureza: el DIA contiene no menos de 98.5% y no más de-
101.0% de $C_{16}H_{13}ClN_2O$, calculado sobre base se-
ca (8).

Espectro de Luz Infrarroja (II):



III. DETERMINACION EN FLUIDOS BIOLÓGICOS.

Los métodos usados para determinar las benzodiazepinas en fluidos biológicos han sido: Fluorometría, Polarografía Diferencial, Radioinmunoensayo, Cromatografía en Capa Fina, Cromatografía de Gases, Cromatografía de Líquido a Alta Presión, Espectrofotometría Ultravioleta Cuantitativo.

Fluorometría.

El método de Fluorometría es capaz de detectar benzodiazepinas a concentraciones de 0.025 mcg/ml en la sangre y en la orina, pero no es específico, porque no distingue el DIA y sus metabolitos, las benzodiazepinas presentes son hidrolizadas a benzofenonas y son convertidas a 9-acridanonas fluorescentes por calentamiento con dióxido de plomo (15).

Espectrofotometría Ultravioleta Cuantitativo.

En 1966, se realizó un ensayo espectrofotométrico ultravioleta cuantitativo que es capaz de medir las concentraciones de DIA y de N-desmetildiazepam en fluidos biológicos a dosis mayores de 50 mg, la cuantificación se hace en función de los valores de absorbancia de 240 nm, el límite de sensibilidad es de 0.3 mcg/ml, este límite es suficiente para propósitos toxicológicos (15).

Cromatografía en Capa Delgada (TLC).

En estudios metabólicos del DIA en humanos se emplea el DIA marcado con C^{14} , las muestras de sangre, orina y bilis, se separan por cromatografía en capa delgada a partir de los extractos, la fase móvil usada ha sido cloroformo: acetona (9:1), la determinación se hace por centelleo contando las secciones asignadas del gel (15). Recientemente

se han desarrollado otros procedimientos en cromatografía en capa fina para usarlos en estudios relacionados de biodisponibilidad, como patrón interno se ha usado carbamazepina. Los residuos de extracción del n-hexano-isobutanol (9:1) secos se reconstituyen con cloroformo y se diseminan en cromatografía en capa fina; el eluyente es etilbenceno:acetona (35:15:0.15), después de secar las placas de cromatografía se revelan con vapores de HCl por 30 minutos y se irradian con luz ultravioleta a 254 nm. Por este procedimiento el DIA, el N-desmetildiazepam y el patrón interno se convierten en compuestos fluorescentes. La fluorescencia aumenta cuando las placas se exponen a una solución de parafina en cera al 10% sobre petróleo ligero (15). Basándose en las gráficas de calibración, (λ_{ex} 360 nm, λ_{em} 460 nm) se relacionan los picos del patrón y del fármaco en un intervalo de concentraciones de 0.050-0.500 mcg/ml (15).

Polarografía Diferencial.

La determinación de DIA por Polarografía Diferencial se basa en la reducción del grupo 4,5-azometina, por lo cual la determinación del DIA no es específica, la sensibilidad en la sangre de 0.250 mcg/ml. Las concentraciones de los fármacos y metabolitos se calculan con base a los patrones, en particular la resolución de benzodiazepinas pueden llevarse a cabo por Cromatografía en capa fina, en algunos casos la sensibilidad aumenta a 0.050 mcg/ml. (15).

Cromatografía de Líquidos a Alta Presión (HPLC).

Actualmente, los métodos más usados para analizar las benzodiazepinas en fluidos biológicos son por Cromatografía de Líquidos a Alta Presión (HPLC=High Performance Liquid Chromatography), Inmunoensayos y Cromatografía de Gases con Detector de Captura de Electrones —

(GC-ECD=Gas Chromatography with Electron Capture Detection). El método de HPLC presenta la ventaja de poder usarse para analizar cualquier benzodiazepina y metabolitos más importantes. Los métodos de Inmunoensayos (RIA, EMIT) ofrecen mayor velocidad cuando el número de muestras es grande y son menos costosos que los métodos cromatográficos. Sin embargo, tienen un intervalo de concentraciones muy estrecho y son más adecuados cuando se realizan medidas cualitativas. El método de GC-ECD, ofrece una excelente sensibilidad y especificidad, si se usa una columna de alta calidad y el análisis es satisfactorio para separar algunas benzodiazepinas y sus metabolitos siempre que se tenga la precaución de la inestabilidad térmica (15).

Cromatografía de Líquido a Alta Presión (HPLC).

El método HPLC se ha usado de rutina para las determinaciones de DIA y de N-desmetildiazepam en la sangre humana. Este método se realiza con una columna de sílice porosa y como eluyente n-heptano: isopropanol: metanol (40:10:1) con detector de absorción de Luz Ultravioleta a 232 nm. La extracción del DIA de la sangre se hace con benceno cuando las concentraciones son mayores de 0.100 mcg/ml, es suficiente 1 ml de sangre para la técnica de HPLC, pero para mayor sensibilidad en concentraciones de 0.25-0.100 mcg/ml, es necesario 2 ml de sangre (15).

Cromatografía de Líquido a Alta Presión de Fase- Reversa.

Han sido determinados el DIA y los metabolitos: N-desmetildiazepam y Oxazepam (19), usando una columna para HPLC de fase-reversa. Se añade como patrón interno clordiazepóxido a 250 µcl de suero o plasma junto con solución de fosfato de sodio (pH 11) y se extrae la mezcla con cloroformo. La extracción se cromatografía en una columna μ -Bondapak (Waters Association, Milford, MA) usando como sistema un solvente de acetonitrilo y buffer de fosfato (1:2), la detección se realiza con U.V. a-

a 254 nm dando una respuesta lineal de 0.020-2.0 mcg/ml para el fármaco y su metabolito, por este método se obtiene una precisión día a día del 5 a 10% (15). Dos informes recientes describen también los procedimientos de HPLC de fase-reversa para DIA comparando su uso con los datos obtenidos por GC-ECD, en ambos métodos se emplea la detección de U.V. a 254 nm (15). Para el análisis del DIA, Nitrazepam y Clordiazepóxido por HPLC se emplea un detector electroquímico, con una columna de fase-reversa con fase móvil de metanol: agua (60:40) conteniendo 0.05 M de acetato de amonio (pH 7.25). La interferencia de la reducción de oxígeno es un problema muy grande cuando los detectores electroquímicos funcionan de modo reducido. Se intenta separar el oxígeno del disolvente pero falta el oxígeno de la muestra para eliminar esta interferencia por completo. Sin embargo, el DIA, puede medirse con un potencial de reducción de -0.03 v y puede detectarse en cantidades bajas como de 0.003 mcg (15).

Radioinmunoensayo (RIA).

El Radioinmunoensayo, es un procedimiento que puede usarse para cuantificar el DIA en la sangre, este método se basa en el desarrollo seguido de la producción de 2 anticuerpos diferentes, uno de ellos es específico para DIA y el otro para reconocer tanto al DIA como su metabolito N-desmetildiazepam (15). El RIA es capaz de detectar 0.001-mcg/ml del fármaco en extractos secos de éter y la respuesta es lineal-hasta 0.100 mcg (23). En un RIA es posible, separado, específicamente-para cuantificar al N-desmetildiazepam; sin embargo, la reacción se cruza con DIA y con la mayor parte de las benzodiazepinas, siendo menor del 1%; este método permite la detección del metabolito a una concentración de 0.003 mcg/ml en sólo 10 µl de plasma (15). Otro procedimiento de inmunoensayo es el EMIT, para benzodiazepinas (15), pero no es específico para DIA y solamente se usa para muestras de orina debido-

a que las enzimas del plasma interfieren (15).

Cromatografía de Gases (GC).

La Cromatografía de Gases se usa ampliamente en el análisis — de benzodiazepinas. Por la alta polaridad y poca volatilidad de las — benzodiazepinas se requiere de usar una fase líquida térmica estable en una columna bien desactivada, porque la cromatografía de estos compues— tos y en particular el N-desmetildiazepam, resultan difíciles; algunos — de los métodos de cromatografía de gases convierten a las benzodiazepi— nas en benzofenonas por una hidrólisis ácida antes de la extracción y — análisis posterior por GC (15). Sin embargo, es posible cromatografiar— a ambos al mejorar la técnica de la columna de GC el DIA y el N-desmetil— diazepam antes de las transformaciones químicas (15).

Cromatografía de Gases con Detector de Ionización de Flama (FID).

La cromatografía de Gases con Detector de Ionización de Flama— (FID= Flame Ionization Detection) no ofrece la sensibilidad suficiente — para llegar a determinar las concentraciones de DIA en la sangre después de una dosis terapéutica. Sin embargo, la presencia del cloro electro— negativo en el DIA y sus metabolitos es útil para detectarse por captura de electrones (ECD= Electron Capture Detection) y se han publicado mu— chos métodos usando este detector (15).

Cromatografía de Gases con Detector de Captura de Electrones (GC-ECD).

En general, el método de GC-ECD es capaz de medir con facili— dad concentraciones de DIA de aproximadamente 0.010 mcg/ml, aunque se — informa que es posible determinar concentraciones de 0.001 mcg/ml en fluj— do cerebro-espinal humano, cuando se usa un detector de Ni⁶³ usando como patrón interno griseofulvina (15). En el análisis de N-desmetildiazepam, el GC-ECD es igualmente sensible (0.001 mcg/ml), obteniéndose una recupe— ración de al menos un 70 %. Los residuos solos de éter se redisuelven —

en hexano:acetona (4:1) y se cromatografía sobre una columna que contenga 1% de Poly-ALD3 sobre el Gas Crom. Q con un detector Ni⁶³. Para llegar a este grado de sensibilidad se requiere de una cristalería escrupulosamente limpia, reactivos extremadamente puros y la extracción/purificación debe ser cuidadosa (15). El método de GC-ECD requieren de mucho tiempo de preparación, sin embargo, es conveniente analizar rápidamente un gran número de muestras en la clínica; por lo tanto, se desarrolla un procedimiento simplificado: 2 ml de solución saturada de Na₃PO₄ se añade a 1 ml de sangre total para precipitar las proteínas (pH final 12.8). Después, de mezclar la muestra se extrae con benceno:cloruro de metileno (9:1). El extracto se evapora a sequedad y se reconstituye con 100 µl de benceno:acetona:metanol (80:15:10) y se analiza por GC-ECD sin purificar de nuevo. La sensibilidad por este procedimiento es de 0.005 mcg/ml de sangre (15).

Otro método de GC-ECD que presenta ventaja es de cuantificar con rapidez (en menos de una hora) el DIA. En 1 ml de muestra de sangre humana, se añade como patrón interno metil clorazepam al suero o plasma antes de la extracción con tolueno a pH 9, posteriormente se hace una extracción con ácido y reextracción con tolueno. Se analizan el DIA y N-desmetildiazepam en una columna de OV-17 3% equipado con Ni⁶³-ECD (15). El análisis automatizado de GC-ECD obtiene sensibilidades de 0.005 mcg de DIA y 0.010 mcg/ml de plasma (15). Cuando se usa un método de extracción sencillo en combinación con GC alcanza un intervalo de 0.010-0.500 mcg de suero, en un día, el método de este tipo permite analizar más de 40 muestras clínicas (15).

Otro procedimiento rápido para la extracción y cuantificación simultáneas de 4 benzodiazepinas en sangre total y plasma, es como sigue: se añade 1 ml de buffer de borato saturado a 0.05-1.0 ml del fluido corporal y se extrae con 1 ml de la mezcla de los siguientes disolventes: tolueno:heptano:alcohol isoamílico (76:20:4). Después de la centrifugación

ción, se separa 1.5 ml de la fase orgánica y se inyecta directamente en GC-ECD, el método proporciona una sensibilidad adecuada para medir tanto los niveles terapéuticos de las benzodiazepinas como sus metabolitos (15).

Se han publicado varios métodos para mejorar las características cromatográficas de las benzodiazepinas y particularmente del N-desmetildiazepam, se encuentra una nueva fase líquida (SP 2250-08, supelco, Inc.) (15).

Aunque el FID no es tan sensible como el ECD se contamina con facilidad posee un intervalo más amplio de linealidad a menudo preferido en las técnicas de rutina para laboratorios de patología y toxicología. La incorporación del patrón posterior a la extracción permite que el DIA sea medido a concentraciones menores de 0.030 mcg/ml (15), sin embargo, muchos fármacos neutros básicos pueden contaminar el extracto final (15).

Espectrometría de Masas.

La espectrometría de Masas como detector, acoplada a Cromatografía de Gases (GC/MS), es útil para cuantificar fármacos en los fluidos biológicos, cuando éstos (fármacos) se presentan en el orden de nanogramos o picogramos por ml. Se ha usado GC/MS en dos estudios en la cuantificación del DIA en el plasma y en la leche materna empleando como patrón interno un derivado del DIA (DIA- O_2O_3)(15).

Extracción del diazepam.

El DIA y el N-desmetildiazepam se extraen fácilmente de medios biológicos por varios disolventes orgánicos. Las extracciones se hacen normalmente en un pH alcalino. Para llevar a cabo una purificación adicional de la muestra se extrae posteriormente en medio ácido. Sin embargo, algunas de las sales del DIA y sus metabolitos son difíciles de extraerse con disolventes tales como cloroformo y cloruro de metileno (15).

El dietil-éter es comúnmente usado en la extracción de DIA y - N-desmetildiazepam en la sangre, orina o bilis (15); con pH 7 se recupera hasta un 90%. Se han publicado otros de los solventes para la extracción del DIA como el benceno (> 90% de la sangre, orina hidrolizada u homogenado de tejidos) (15); benzoato de etilo (90%); cloroformo (90%); - benceno:cloruro de metileno (9:1, > 85% de sangre); hexano:alcohol isoamílico (98.3:1.7) de sangre o fluido gástrico; 1-clorobutano seguido de cloroformo después de una extracción posterior dentro de ácido (100% de sangre u homogenado de tejidos) y tolueno:heptano:alcohol isoamílico --- (78:20:2, con pH 9.5 90% de sangre, homogenados y orina); o tolueno **conteniendo** 1.5% de alcohol amílico para prevenir la adsorción del vidrio- (83% de sangre) (15).

El disolvente y el pH de extracción se escogen de acuerdo a --- los metabolitos que se van a medir. Por ejemplo, los metabolitos hidroxilados tienen diferentes propiedades de partición que el DIA y el oxazepam, y se extraen a un pH mayor de 10 (15), por lo que se recomienda --- que la extracción de estos compuestos de la orina se haga un pH alcalino de 8-9, ya que los metabolitos del DIA aparecen principalmente en forma de conjugados solubles en agua, en la orina. Los metabolitos adsorbidos en cromatografía en capa delgada (TLC) se extraen con acetato de etilo:metanol:ácido acético (90:10:10.1), el extracto se amortigua con solución reguladora e hidroliza con **β**-glucuronidasa/arsulfatasa, antes --- de la extracción con acetato de etilo. Por este procedimiento se obtiene una recuperación de 95% (15).

IV. FARMACOCINETICA.

ABSORCION.

El DIA se absorbe in vivo lenta o rápidamente según la forma farmacéutica y la vía de administración (oral, intravenosa, intramuscular o rectal) (30,35) así el tiempo que tarda en alcanzar el pico máximo en el plasma sanguíneo (15). In vitro el DIA presenta muy buena absorción (38).

Cuando se administra el DIA por vía oral en dosis de 10 mg se observan concentraciones de 0.100-0.200 mcg/ml y alcanza el pico máximo a la 1.5 hr (15); mientras que a dosis de 20 mg se alcanzan concentraciones máximas en la sangre de 0.490 mcg/ml a los 30 min (15). Otras investigaciones informan que al administrar una sola dosis de 10-20 mg de DIA se alcanzan concentraciones en el plasma de 0.100-0.500 mcg/ml y en 15 min pueden presentarse concentraciones de 0.070-0.100 mcg/ml (30). La absorción en adultos, es rápida, alcanzando las concentraciones máximas de 30-90 min (30); en alcohólicos, la absorción se reduce pero es constante (30).

Después de una inyección intravenosa de 20 mg de DIA, se alcanzan concentraciones máximas de 1.600 mcg/ml en 15 min (15).

Después de una inyección intramuscular de 20 mg de DIA, se obtienen concentraciones de 0.290 mcg/ml en 60 min (15); se absorbe eficientemente pero en forma lenta e inconstante (24) y alcanza un pico máximo entre 1 a 3 hr (30).

Después de la administración rectal del DIA, se alcanza el pico máximo entre 2 a 5 hr, se absorbe en forma reducida e inconstante, después de aplicada la dosis (2,35).

La mejor absorción se obtiene en particular para el DIA después de administrarse en forma oral o intravenosa (25).

DISTRIBUCION.

El DIA, se distribuye ampliamente por todos los tejidos del cuerpo, su volumen de distribución puede variar de 1.6 a 2.3 L/Kg (30), aunque se han determinado valores más bajos (30).

El DIA alcanza concentraciones considerables en hígado, músculo esquelético, riñones y es capaz de atravesar la membrana del líquido cefalorraquídeo (15), se acumula preferentemente en tejidos ricos en lípidos, como el tejido adiposo y cerebro (15), por ello es importante programar con cautela las dosis prescritas a pacientes obesos (15). Durante la gestación cuando la madre ha tomado DIA, su metabolito también se acumula en el producto principalmente en los tejidos del cerebro, hígado, corazón, pulmones y plasma (15) por su estructura química, el fármaco se une a las proteínas del plasma (90-95%) (2) liberándose una fracción de 3 a 10% (30). Es posible que el DIA unido a proteínas, llegue a liberarse en su distribución y con facilidad atravesar la barrera placentaria (15). Por su vida media larga el DIA se acumula en el plasma sanguíneo y cuando se administra 3 veces al día, las concentraciones pueden aumentar 3 veces más de la que se obtiene en una sola dosis (30). Después de 11 semanas de administrarse, el DIA y su metabolito principal (N-desmetildiazepam) se absorben a través de los eritrocitos (15). El estado estacionario del DIA y el N-desmetildiazepam se alcanza de 5-7 días (11,15).

ELIMINACION:

a) EXCRECION.

El DIA se excreta a través del riñón (40), las cantidades excretadas de DIA varían en la orina humana, según la dosis y vía de administración (oral o parenteral). Algunos investigadores informan que después de la administración oral del DIA se pueden encontrar en la orina -

del 60-75% de la dosis en forma metabolizada (15), \approx 0.5 de la dosis, -- sólo se halla en forma de DIA intacto (2,15,34). En un periodo de --- 73-120 hr después de la administración oral del DIA se excreta: el ---- 3.6-5.0% de la dosis en N-desmetildiazepam, el 6-8% en metiloxazepam y - el 8-17% en oxazepam (resultados no publicados) (30,34). El N-desmetil- diazepam, se encuentra en mayor proporción, cuando se aplica por vfa in- travenosa que por vfa oral (23).

El metabolito conjugado más abundante excretado por la orina - humana es el glucuronido-de oxazepam (15), también se encuentran los glu- curonidos de metiloxazepam, p-hidroxi-diazepam (15); estos glucuronidos- se excretan de 6-80% de la dosis (30) y existen formas no conjugadas de- compuestos no identificados excretados en un 20% en orina (30,34), en -- las heces fecales puede encontrarse un 10% de la dosis (30,34).

b) METABOLISMO.

Las enzimas microsomales hepáticas son las responsables del -- metabolismo del DIA (15), el DIA sufre una desmetilación (12,30) con la- formación de N-desmetildiazepam (15) y una hidroxilación con la forma--- ción de N-metiloxazepam (o temazepam) (30), el primero es hidroxilado - (5) y el segundo es subsecuentemente desmetilado (15) para convertirse - en oxazepam y glucuronidos (5,15) (Figura 1).

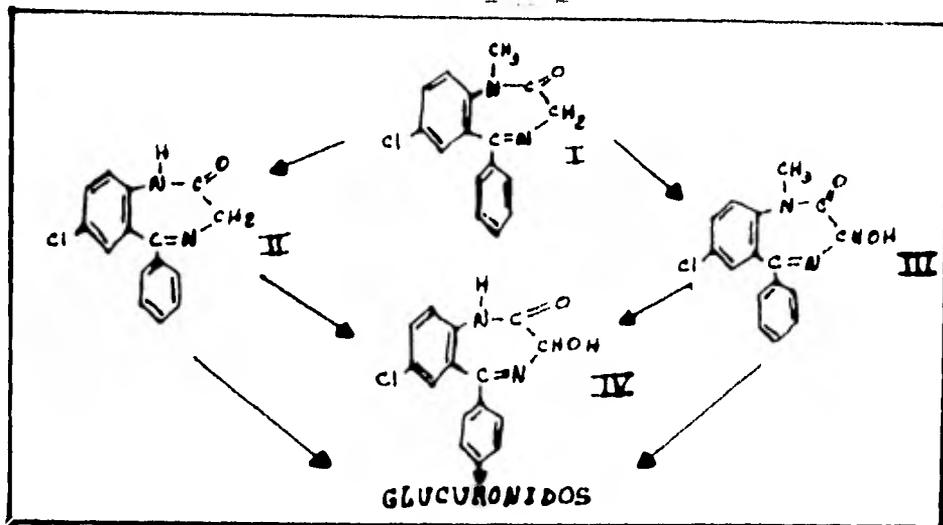


Figura No.1. Rutas metabólicas del DIA en el hombre.

I=Diazepam; II=N-desmetildiazepam; III=N-metiloxazepam;
IV=Oxazepam (15).

Se observa que los productos más degradados son: N-desmetiloxazepam, N-metiloxazepam y oxazepam, todos son conjugados con el ácido glucurónico y excretados posteriormente como glucuronidos principalmente en la orina (30).

El DIA se metaboliza con más rapidez en los bebés y en los niños que en los adultos o ancianos (30).

No es claro que el DIA sea capaz de inducir su propio metabolismo (15). Sin embargo, algunos autores sugieren que el DIA induce su propio metabolismo por un relativo aumento en las concentraciones de N-desmetildiazepam a partir del fármaco original (DIA) en dosis múltiples (40) asimismo el aumento en el catabolismo de DIA se acompaña de una tasa de desaparición rápida de metabolitos, con la formación y excreción de sus respectivos glucuronidos (30).

VIDA MEDIA.

Varios investigadores informan la vida media biológica del

DIA, después de la administración intravenosa:

_____	7	-	10	horas	(32)
_____	7	-	168	"	(2)
_____	9	-	24	"	(45)
_____	20	-	50	"	(30)
_____	24	-	42	"	(5)

Se observa que existe variedad en los datos obtenidos de va--- rios estudios (2), esto puede explicarse por la siguiente razón: la vida media del DIA depende de la edad y el estado de salud del individuo (15); en ancianos, la vida media del DIA es 5 veces más larga que en jóvenes y en adultos (15); la vida media del DIA se incrementa en pacientes que están enfermos del hígado a aproximadamente 100 ó más horas (5)- (TABLA I).

TABLA I. Vida media biológica del DIA en suero/plasma (2).

Preparación		Especie	Nc. Horas	T 1/2 Horas [±] S.D.
DIAZEPAM	I tabletas	10 mg Hombre	16 7-168	52.8 [±] 23.6
DIA	II "	10 mg "	16 7-168	44.4 [±] 17.5
DIA	I supositorios	10 mg "	16 7-168	56.6 [±] 13.5
DIA	II "	10 mg "	16 7-168	56.8 [±] 29.1

La relación entre la concentración sérica y el efecto farmacológico, se complica por muchos factores: la tolerancia, interacciones de fármacos, estados patológicos, unión a proteínas, metabolitos activos -- (17).

V. USOS TERAPEUTICOS.

Las principales acciones farmacológicas del DIA se llevan a --
cabo sobre el Sistema Nervioso Central (15). El DIA ha sido utilizado --
ampliamente con diferentes propósitos terapéuticos como tranquilizante --
(ansiolítico), sedante, hipnótico, antidepresivo (10), se aplica en tras--
tornos emocionales (33), como en la depresión del sistema límbico del --
cerebro, el cual controla las emociones (15), es eficaz contra insomnios
(12) y tensiones de individuos normales y neuróticos (17).

El DIA es comúnmente empleado en Psiquiatría y es menos peli--
groso que los medicamentos psicotrópicos (32), se aplica a gran variedad
de enfermedades neurológicas y mentales; disminuye la aprehensión, el te--
mor presente en los pacientes con problemas de personalidad, de cáncer,--
cuadros de histeria y en víctimas de accidentes (32). Se utiliza en ---
trastornos psicofisiológicos en donde la ansiedad se traduce en manifes--
taciones somáticas (hiperquinesia, alteraciones gastrointestinales, der--
matopatías, etc.) y en las enfermedades orgánicas específicas (angina de
pecho, úlceras gástricas, asma, etc.) que se acompañan con un estado de
ansiedad y agitación (32).

El DIA es un relajante muscular esquelético y central (17), --
particularmente se incluye en el tratamiento de diversas formas de espas
mos musculares como los presentes en casos graves de parálisis cere--
bral, atetosis, esclerosis lateral amiotrófica, accidentes cerebrovascu--
lares, hemiplejía y paraplejía, parkinsonismo, fracturas no tratadas ---
(32).

Evita las convulsiones (sitio de acción no identificado) (15),
causadas por la estriquina o el pentilentetrazol (17), se usa en severa--
preclampsia (30) y eclampsia (27); es un producto de elección en el tra--
tamiento del estado epiléptico ("gran mal"), en estado de "mal epilépti--
co" (17) y "pequeño mal" (32); responde a los ataques psicomotores ---

(epilepsia del lóbulo temporal); se usa en terapia electroconvulsiva --- (32).

El DIA se administra cada vez más como preanestésico (12,17),- en anestesia regional, antes de tonsilectomias en niños, en cirugía ma-- yor (cardíaca) y dental (32). Su empleo después de cirugía mayor reduce la frecuencia de secuelas psiquiátricas (32). Durante el embarazo y el parto (30) disminuye la ansiedad, aumenta la eficacia de un anestésico - incompleto (óxido nítrico), disminuye la cantidad de anestésico necesaa-- rio para antagonizar (17).

El DIA se ha aplicado satisfactoriamente en la preparación -- de candidatos a cateterización cardíaca, angiografía, broncoscopia, --- pneumoencefalografía (32), citoscopia durante la desbridación de pacien-- tes parapléjicos (12).

El DIA impide la propagación de descargas inducidas por la a-- plicación local de penicilina, aluminio o cobalto (33).

El DIA reduce la ansiedad y la hostilidad de delincuentes ju-- veniles (32); se ha usado con éxito en el programa supresivo de farmaco-- dependientes a opiáceos (32).

El DIA se emplea en el tratamiento del tétanos, en el síndrome del "hombre tieso" (12), puede sustituir al alcohol etílico, alivia los-- síntomas de "delirium tremens" desencadenados por la abstinencia del al-- cohol (12).

VI. EFFECTOS FARMACOLOGICOS.

6.1 Efectos Farmacológicos en Humanos.

Los efectos colaterales debidos a la depresión del Sistema Nervioso Central son: confusión, apatía, debilidad muscular, incoordinación motora, disartria, visión borrosa (30), letargia, agranulosis, irregularidades menstruales ovulatorias, erupción cutánea, aumento de la sensibilidad al alcohol, inconsciencia (12), síncope, excitación paradójica, exantemas (17), náuseas, ataxia, alteración de la libido (12,17), hiporreflexia, aumento del apetito, somnolencia diurna (22), pereza, desorientación, vértigo (15), deterioro en la memoria, debilidad, la manera de hablar es balbuceante y de prisa (30), existe escasa depresión de la respiración o circulación (12). Disminuye la duración de la etapa IV de sueño (durante ella parecen presentarse la enuresis, terrores nocturnos y sonambulismo) y aparentemente reducen la duración del sueño con movimientos oculares rápidos (30). En dosis única o repetida no afecta la presión arterial, las respuestas a la adrenalina o la respiración (12).

El DIA puede originar una respuesta paradójica, con irritabilidad y aumento de la ansiedad (22). A nivel bioquímico, se ha propuesto que el DIA antagoniza con la norepinefrina y la serotonina, inhibe la incorporación del oxígeno en el cerebro y en el hígado y por poco tiempo aumenta las concentraciones de glucosa y glicógeno cerebral (17).

Una sola dosis de 10 mg de DIA por vía intravenosa provoca sueño ligero, sin hipertensión, taquicardia, apnea o estimulación vagal, -- por lo que es necesario agregar un analgésico y relajante muscular en la mayoría de los casos (12). La inyección intravenosa puede producir una secuela de dolor y flebitis local (30), cuando se administra en forma rápida a grandes dosis puede producir alteraciones respiratorias (12).

6.2 Toxicidad Crónica en Humanos.

Algunos autores señalan que la ingestión crónica de DIA como tóxico puede dar lugar al desarrollo de ideas e intentos suicidas (12,32), cuando se administra en forma crónica a grandes dosis produce una lentificación en las frecuencias electroencefalográficas espontáneas (12); parece provocar amnesia retrógrada (32), deprime ligeramente la reacción provocada por la estimulación eléctrica de la función reticular mesencefálica y de la corteza (32), disminuye la reacción del despertar provocada por la estimulación eléctrica del hipocampo y de la amígdala (32). Es rara la toxicidad sobre el hígado y el tejido sanguíneo a dosis comúnmente usadas tanto en forma aguda como crónica (32). El DIA, ha sido suministrado durante 42 semanas en dosis normales sin aparentes efectos tóxicos (12).

Los concentraciones de 0.300-0.400 mcg/ml en plasma conducen a efectos no deseables (30). Los caracteres de intoxicación pueden ser: depresión progresiva del sensorio, dimensiones y reacciones pupilares normales, depresión respiratoria con dosis excesivas mayores de 30 mg/dfa. El enmascaramiento de síntomas de enfermedades o lesión durante la intoxicación: sólo en presencia de sensorio deprimido o después de iniciado el síndrome cerebral agudo (17).

Recientes estudios clínicos, indican que los efectos colaterales del DIA sobre el S.N.C. aumentan con la edad (15), los ancianos tienden a la depresión aún en dosis pequeñas (12); debe de administrarse con precaución en niños (32).

6.3 Alteraciones Genéticas.

Serfa prudente que pacientes en edad fértil, se limite el uso de medicamentos que causen daños cromosómicos sobre las células germinales en etapa de meiosis, tales como rearrreglos y rompimientos que conducen a anomalías cromosómicas en las futuras generaciones (41).

Para investigar las alteraciones genéticas producidas por fármacos en el hombre, los linfocitos de sangre periférica son un sistema útil en estudios hechos in vitro ya que pueden exponerse en forma prolongada a cualquier contaminante (14). Sin embargo, se observan variaciones en los experimentos efectuados in vivo e in vitro, tal parece que el cuerpo humano presenta un mecanismo de defensa, de selección natural y diferencias en el ciclo celular entre los linfocitos in vitro e in vivo (42).

Los efectos que origina el DIA sobre los cromosomas humanos in vitro e in vivo, dan resultados contradictorios (46). Se llega a concluir que como sustancia usada en terapia, no produce daños genéticos (46), si se encuentran es raro (32). No obstante, otros estudios demuestran lo contrario (41,42).

Los estudios realizados en leucocitos humanos in vitro sugieren que el DIA es capaz de inducir daños cromosómicos (9) tales como: -- rompimientos en cromátidas e isocromátidas, cromosomas dicéntricos, cromosomas en anillos, aneuploidias, etc. (Figura No. 2) (TABLAS: II, III, IV) (41,42). Generalmente, el incremento de rompimientos aumenta de acuerdo a la dosis (41); en particular es posible que la región telomérica de los cromosomas del grupo C sea sensible al DIA (41).

A continuación se resumen algunos datos obtenidos de investigaciones realizadas por Stenchever y col. (41), sobre aberraciones cromosómicas encontradas en las células por DIA (41):

- Se observaron aberraciones cromosómicas al analizar el cariotipo en un cultivo de una mujer de 24 años de edad expuesto a concentraciones de 10 mcg/ml ó 20 mcg/ml de DIA, durante 72 horas (41).

- Se observaron aberraciones cromosómicas después de 6 meses en 23 pacientes expuestos a dosis repetidas de DIA de 30 mg/día durante 18 meses, el fármaco se retiró (41).

- Dosis masivas de DIA de 150 a 200 mg/día por largo tiempo, indujo un incremento en la tasa de aberraciones en los niveles de sangre, ya sea el DIA o su metabolito (41).

- En un experimento se observa un incremento del crecimiento de los fibroblastos expuestos en DIA (Figura No. 3) (41).

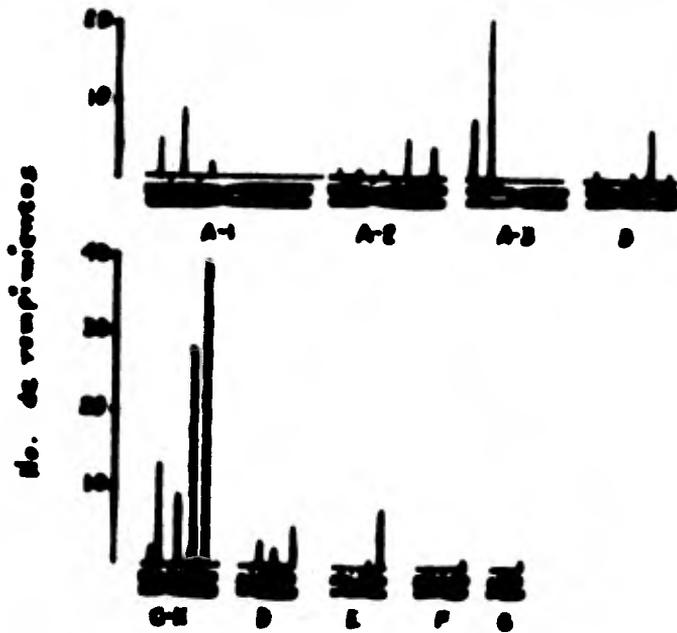


Figura No. 2 Se muestra la frecuencia de rompimientos de las áreas específicas de los cromosomas humanos; en suma de 127 rompimientos de cromátidas e isocromátidas en células expuestas a DIA (41) .

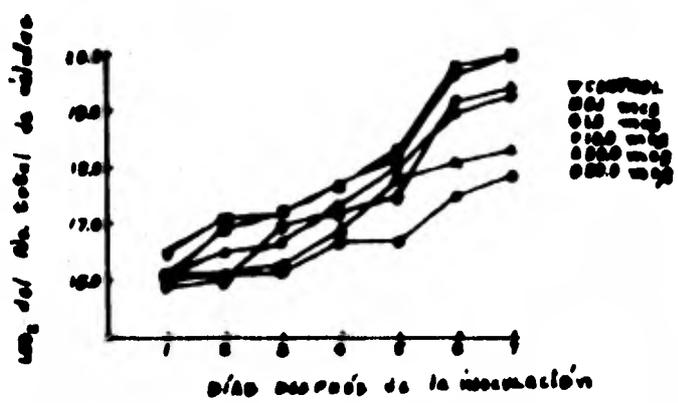


Figura No. 3 Se muestran las curvas de un experimento típico de las tasas de crecimiento de fibroblastos humanos expuestos a varias -- concentraciones de DIA (41).

TABLA II. Casos de rompimientos cromosómicos en leucocitos
in vitro expuestos en DIA (41).

No. de Exps siones	Conc. de DIA (mcg/c.c.)	No. de láminas observadas	No. de láminas con rompimientos	Incidencia de romps. (%)
1	0.0 (control)	500	24	4.8
	10.0	500	82	16.4
	20.0	500	111	22.2
2	0.0 (control)	200	3	1.5
	0.1	200	6	3.0
	1.0	200	15	7.5

TABLA III. Incidencia de rompimientos cromosómicos de acuerdo
al grupo de cromosoma (41).

Cromosoma o grupo	Total de romps. observados	Isocromátidas rotas	Cromátidas rotas	Total de romps.	Diferencia significativa (χ^2)
A 1	16	4	12	15.930	0.0003
A 2	11	2	9	14.514	0.4364
A	29	2	27	12.390	22.2673
B	10	2	8	21.694	6.2295
C X	90	19	71	66.729	8.8279
D	10	0	10	15.992	2.8771
E	9	2	7	15.045	4.3018
F	1	0	1	7.611	5.7423
G	1	1	0	6.195	4.3564
Total	177	32	145	177.000	55.0380 *

*P < 0.001

TABLA IV. Casos de aneuploidias en el Experimento No. 1 utilizando 10.0 y 20.0 mcg de DIA/cm³ (41).

Concentraciones de DIA (mcg/c.c.)	No. de Cromosoma					
	44 ó menos	45	46	47	48 ó menos	
Control	0	2	95	3	0	
10.0	0	3	97	0	0	
20.0	1	3	94	2	0	

- Al analizar el cariotipo de una mujer de 24 años de edad -- se observa que más de 20 mcg/ml, inhibe el crecimiento de fibroblastos - (41).

Los estudios que se han hecho sobre fármacos y productos químicos aplicados durante el período prenatal se observa como consecuencias: malformaciones en la organogénesis, alteraciones fisiológicas -- (24), anomalías congénitas que pueden conducir a un próximo aborto o posibles daños al embrión que no sean reconocibles con facilidad, incluyendo en su vida del producto más tarde como sería la dificultad en el aprendizaje (41).

El DIA, se caracteriza por atravesar fácilmente la barrera placentaria así como sus metabolitos (12,30,41). Se observa, que la inyección del DIA, en mujeres con 3 meses de embarazo, causa malformaciones -- tales como el hendimiento del labio con o sin paladar hendido (15,33), -- por lo tanto, se considera que el DIA forma parte del segundo eslabón de los factores que causan esta malformación (33).

Cuando el DIA, se suministra durante el parto se observa que a mayores dosis de las normales, se producen efectos no deseables al recién nacido, tales como: hipotermia, hipotonía, baja la valoración de --

Apgar, perjudica la respuesta al frío "stress" y respiración (1,30,37),- depresión neurológica (1,4); al ser excretado el DIA en la leche materna puede ser administrado al recién nacido a través del pecho materno ---- (30,37).

6.4 Efectos Farmacológicos en Animales.

Los efectos son los mismos en humanos y en animales de experimentación (ratones, ratas, gatos, monos, perros, cerdos, conejos, palomas) (12). El DIA produce: amansamiento en monos, estimula el apetito - en ratas y perros, relaja los músculos en gatos descerebrados (12). Evita las convulsiones en ratas (12), esto puede atribuirse en que algunas especies de animales al metabolito principal el N-desmetildiazepam (17). Permite la domesticación en monos y otros animales en dosis que no los incapacitan (17), lo cual parece alterar la conducta de los animales -- (43). El DIA es eficaz en la reducción del comportamiento bélico en ratas con lesión de septum y en las agresivas por electrodescarga (12).

En ratón, se observa, que dosis de 20 mg/Kg de peso, aumentan la liberación de acetilcolina en el cerebro, lo que provoca el bloqueo - de la liberación de acetilcolina de las terminaciones nerviosas colinérgicas dando como resultado una disminución en la concentración de acetilcolina funcional en la sinapsis (44).

En ratas, la administración de fármacos durante la preñez se - observa ansiedad y tensión que repercuten en la descendencia, así como - ataraxia materna. Parece que el DIA llega a activar algunos metabolitos del tejido cerebral o bien persisten en la etapa prenatal (24).

La administración del DIA en la tercera semana de gestación en ratas, se observa: cambios en el desarrollo celular, alteraciones en la diferenciación del tejido nervioso. Este período, es especialmente sensitivo a fármacos que actúan sobre el S.N.C. dando como consecuencias --

excitación o depresión, además efectos teratogénicos (24).

Las ratas expuestas a dosis mayores de las normales durante — la tercera semana postnatal, se observa: ausencia de la actividad potencial locomotora y una reducción en los reflejos ante el ruido (24).

VII. DEPENDENCIA Y TOLERANCIA.

7.1 Dependencia.

Algunas investigaciones, muestran que el DIA no tiene propiedades adictas (10), otras que la ingestión crónica de dosis terapéuticas empleadas en la práctica clínica, no originan dependencia física (12). - No obstante, hay evidencias que demuestran que el DIA, siendo uno de los "tranquilizantes menores" tiene la propiedad de causar adicción (13,28).

La dependencia medicamentosa se ha considerado tradicionalmente en una rígida dualidad en dependencia física y psicológica (25). Bajo condiciones de administración crónica, los efectos del DIA se ven incrementados por una sensación de bienestar "artificial", difícil de abandonar (7). A continuación se describen algunos casos de dependencia:

- A dosis elevadas del DIA (80-100 mg), suministrados diariamente, durante varios meses, se origina dependencia física en pacientes psiquiátricos (12).

- Los pacientes que no tienen la voluntad de suprimir o de disminuir la dosis tienden a aumentar las cantidades de DIA así el individuo queda expuesto a ser un adicto al fármaco por exceder la dosis usual (26,37) o el abusar de bebidas alcohólicas (28).

- De un total de 24 pacientes expuestos al fármaco, 22 de ellos resultaron incapaces de renunciar al DIA (28).

- Crea dependencia la ingestión periódica de una dosis de 30-80 mg de DIA, sólo o junto con otros narcóticos (47).

- Con respecto a la acción ansiolítica del DIA, se puede presentar el grave problema de adicción, debido en primer lugar, a la necesidad de una administración crónica para llevar a controlar los estados de ansiedad (28).

Los médicos sugieren la necesidad de considerar en la prescripción al DIA como otro de los posibles fármacos de abuso (28), ya que la mayor parte de medicamentos, objeto de abuso tienen acción primaria sobre el S.N.C. (17). La adicción se funda principalmente por un mal empleo del DIA, por una equivocación del personal médico y paramédico ya que no dan la atención debida en las prescripciones médicas así como al transporte y almacenamiento adecuado del fármaco (42).

7.2 Tolerancia.

En general, parece que el desarrollo de tolerancia a los fármacos depresantes es comparable en grado, a la observada para el alcohol (6).

La tolerancia a un fármaco es un estudio de respuesta disminuida, por parte del organismo, al fármaco, como resultado de una exposición previa al mismo, aunque la dosis sea la misma o, en algunos casos, como al incremento requerido de la dosis para producir una respuesta igual en magnitud a la respuesta inicial a una dosis menor. Decir tolerancia no implica decir necesariamente, dependencia, pues no hay una relación cuantitativa cualitativamente consistente (36).

Se ha observado la aparición de tolerancia aguda al DIA (3,6) la cual se desarrolla muy rápidamente después de una dosis única o pocas dosis, en un tiempo breve (minutos u horas); también se le denomina Taquifilaxia, aparece sobre todo en el reflejo linguomandibular del gato y se ha atribuido al metabolismo del DIA al N-desmetildiazepam que antagoniza la acción depresante del DIA (3), parece desarrollarse también por la inducción de enzimas microsomales hepáticas en humanos responsables del metabolismo del DIA. En un sujeto alcohólico crónico tolerante a dosis diarias de DIA (hasta 200 mg sin efectos secundarios), las concentraciones sanguíneas del DIA y su metabolito fueron proporcionalmente

mayores en este sujeto que en personas no alcohólicas que recibían dosis menores, exhibiendo signos de intoxicación (3).

Por tal razón, es importante poder plantear otra forma de explicar la tolerancia utilizando una interpretación apropiada de datos farmacológicos que puedan ser de utilidad para dar a la luz este problema de interés social.

7.3 Síndrome de Abstinencia.

El Síndrome de Abstinencia, se origina al interrumpir el DIA - después de dosis elevadas o por administrarse durante largo tiempo (17). En términos fisiológicos y/o psicológicos se manifiestan los siguientes efectos: diaforesis, pesadillas, dolor, ansiedad, temblor, agitación, - insomnio (28), depresión (12,28), pérdida del apetito (12,32), agravación de psicosis (12), recrudecimiento de la alteración mental (32), crisis convulsivas de "gran mal" (12), crisis convulsivas mayores (28), náuseas (12), trastornos gastrointestinales, hiperpirexia, blefaroclono, - síndrome cerebral agudo (17).

La suspensión, ocasiona el volver a las condiciones previas - del tratamiento o aún peor, los estados de ansiedad son mayores a los padecidos antes de la administración, esto puede entenderse como un efecto de rebote incrementado.

En el caso de pacientes psicóticos, se ha observado, que durante la abstinencia se tienen ataques epilépticos y posteriormente se desarrolla epilepsia de "gran mal". Entonces, la dependencia psíquica se ve reforzada por una dependencia física, como resultado de una necesidad del paciente para impedir sufrimientos de abstinencia. Los Principales síntomas de abstinencia por DIA, de un estudio realizado en 24 personas por Maletzky y Kloter (28), después de dosis elevadas o por haberse administrado durante largo tiempo, se muestran en la TABLA V (28).

TALBA V. Síntomas de abstinencia en humanos (24 personas) causados por —
DIA (20).

Síntomas	No. de Síntomas	Porcentaje
Ansiedad	23	95
Agitación	18	75
Insomnio	14	58
Temblores	10	42
Diaforesis	7	29
Dolor	6	25
Depresión	4	17
Pesadillas	4	17

VIII.-FACTORES QUE AFECTAN LA BIODISPONIBILIDAD.

Los factores que afectan la biodisponibilidad del DIA principalmente son: la formulación (excipientes), la vía de administración, la marca de productos, la edad, el sexo, estados patológicos.

La intensidad y la duración de la respuesta terapéutica, producida en la mayoría de los fármacos, sufre grandes variaciones, que dependen de factores inherentes tanto del sistema biológico como de la forma farmacéutica. Se ha podido comprobar que las preparaciones farmacéuticas que contienen la misma cantidad de sustancia activa y que son genéricamente equivalentes, no producen la misma respuesta terapéutica, aún en el mismo individuo. Se ha demostrado, que la actividad terapéutica de un fármaco puede verse afectada por los materiales y los métodos implicados en su elaboración como formas farmacéuticas (tabletas, cápsulas, soluciones inyectables, suspensiones). La preparación de estas implica el uso de excipientes, ya que son necesarios en su fabricación y llegar a lograr una forma de dosificación de entrega del principio activo que sea cómoda, reproducible y segura. En vista de que los excipientes constituyen una fracción considerable de la forma dosificada, se ha estudiado su influencia en el comportamiento clínico del producto. Cuando los excipientes son incorporados a las formas farmacéuticas, pueden llegar a ocasionar cambios en las características de la intensidad en la respuesta biológica del fármaco al afectar su biodisponibilidad; o bien, cambios en la estabilidad de los ingredientes activos y que originan productos tóxicos que den posteriormente como resultado manifestaciones indeseables.

Se pueden alcanzar diferentes niveles de DIA, dependiendo de la forma farmacéutica y la vía de administración, como se presentó en la pág. 15 de este trabajo. La variación en la biodisponibilidad de los productos farmacéuticos, independientemente de su causa puede dar lugar-

a graves problemas en la quimioterapia por una ineficacia terapéutica -- debido a una subdosificación; o bien, a una acumulación del fármaco en el organismo que de lugar posteriormente a una posible toxicidad. En la literatura, aparecen diferencias en la biodisponibilidad de las distintas formas farmacéuticas que contienen DIA; por otro lado, la baja solubilidad de este principio activo, en agua y la alta proporción de excipientes en la formulación entre otras cosas, plantean la urgente necesidad de evaluar la biodisponibilidad de los medicamentos del Comercio Nacional que contienen DIA, además es capaz de interaccionar con varios -- fármacos, con ciertos alimentos, las características genéticas y las variaciones del individuo; afectando de esta forma la farmacocinética del fármaco, sobre todo cuando se aplica por vía parenteral (intravenosa o intramuscular) (2). Cuando el DIA se aplica por esta vía debe utilizarse con precaución en pacientes que simultáneamente consuman otros medicamentos como los barbitúricos, fármacos antihipertensivos, anticonvulsivantes, opiáceos u otros que deprimen el S.N.C. (17), ya que pueden ocasionar manifestaciones muy graves (32); la ingestión crónica de alcohol, puede afectar la farmacocinética de la administración intravenosa del DIA (15); en dosis bajas sólo o con alcohol, no parece deteriorar la habilidad para conducir automóvil, pero en dosis altas provoca un decremento en esta prueba (32). Es importante mencionar que el DIA impide -- la propagación de las descargas inducidas por la aplicación local de penicilina, aluminio o cobalto. El propilenglicol, como disolvente, potencia los efectos del DIA posiblemente debido a un aumento en la biodisponibilidad (33).

Se ha comparado la biodisponibilidad del DIA en preparaciones de tabletas con las cápsulas de DIA, los resultados que se han obtenido mostraron que existe una correlación entre las tasas de disolución, el tiempo de desintegración y la biodisponibilidad (40). Se realizó un estudio sobre la biodisponibilidad de 3 tabletas y una cápsula de gela---

tina blanda, en 8 hombres normales de 22-31 años de edad, de 62-88 Kg -- de peso. Se les aplicó una sola dosis de 10 mg de DIA a cada uno de los voluntarios en un intervalo de 14 días durante 3 meses. Se determinan -- los niveles de plasma del DIA por un procedimiento GC/MS, se demuestra -- que todos los productos son esencialmente bioequivalentes (39). Se realiza una comparación de la biodisponibilidad del DIA después de una sola administración rectal y oral; al relacionar las constantes de absorción -- aparece que la absorción de una dosis de un supositorio es lenta, la -- absorción rectal de una solución de DIA procedió a $P < 0.05$ más rápida -- mente que la absorción rápida rectal del DIA en estado de soluto (29). -- Se prefiere que el DIA se administre en forma oral o intravenosa (2); -- algunos autores indican que las tabletas tienen una biodisponibilidad -- del 75% (15,26).

Recientemente, la F.D.A. (Food Drugs Administration), publicó -- una lista de fármacos, en los que pueden presentar fallas en la biodis -- ponibilidad y estableció los requerimientos de "bioequivalencia" para -- los productos ya existentes o algunos nuevos que contengan estos fárma -- cos. En México, a pesar de que existe en la mayoría de los medicamentos un gran número de marcas comerciales, no se ha establecido aún ningún -- control de bioequivalencia que confirme la efectividad terapéutica y se -- guridad de los mismos. En muchos casos el médico se encuentra con fallas terapéuticas y efectos tóxicos inesperados sin conocer el origen o la -- causa. No obstante, puede atribuirse a variaciones en la biodisponibili -- dad de los productos existentes en el mercado. Por tanto, es esencial, -- que aquellos medicamentos que se encuentren con problemas reales o po -- tenciales de biodisponibilidad se documente la bioequivalencia, con el -- propósito de confirmar la seguridad y la eficacia de los mismos.

Omray y Col. (31), estudiaron los efectos de 6 diluentes (lac -- tosa, almidón, manitol, carbonato de calcio, celulosa microcristalina y-

una combinación de lactosa y celulosa microcristalina) sobre la eficacia y biodisponibilidad de las tabletas de DIA. Se probaron las preparaciones comerciales para determinar también las relaciones entre desintegración y disolución, cada tableta formulada contenía 5 mg de DIA más los diluentes, para tener un peso promedio de 200 mg. Al hacer una comparación se observa lo siguiente:

El diluyente de carbonato de calcio, es barato y razonablemente bueno; la celulosa microcristalina, se encontró ser inefectiva por el volumen, dureza, disolución incompleta y desintegración lenta; cuando la lactosa se combina con la celulosa microcristalina la disolución mejoraba un poco; la lactosa y el almidón liberan la más grande cantidad de -- DIA en más corto tiempo (2 minutos) (31)

En todas las muestras excepto dos de ellas, no hubo una correlación entre dureza, tiempo de desintegración y tasa de disolución. Por la amplia variación en las características en las formas de dosificar, - se sugiere que se valore el tiempo de disolución y se especifica que se libere el 60% del fármaco para marcas comerciales (31).

Greenblatt (1980), realizó una relación entre la edad y el sexo (19), obteniendo lo siguiente: se probó la cinética del DIA en 4 grupos iguales (n=11) de hombres y mujeres de 21-37 años de edad y hombres y mujeres sanos de 61-84 años de edad. Las concentraciones de DIA en el plasma sanguíneo se determinó por la captura de electrones GLC en múltiples muestras durante 9 días después de la administración muestra de -- 5-10 mg de DIA. Los resultados se basan en la concentración total del - DIA; el volumen de distribución (Vd) resultó ser mayor en los dos casos al incrementarse la edad y en el sexo femenino. La depuración total del DIA en jóvenes (sexo femenino) y ancianas es casi idéntica (0.51 y 0.48-ml/min/Kg), pero es más alto en jóvenes (sexo masculino) que en ancianos

(0.39 y 0.24 ml/min/Kg, $P < 0.01$). La fracción unida a proteínas de ---
DIA en el plasma no depende del sexo, pero resulta ser mayor en ancianos
que en jóvenes. En ancianos, se relaciona a concentraciones más bajas -
de albúmina. Después de una corrección de datos cinéticos por diferen--
tes individuos en la fracción depurada, el volumen de distribución es ma
yor en el sexo femenino que en el masculino, pero el efecto por la edad--
no es significativo (19). La depuración del DIA es mayor en el sexo fe--
menino que en el masculino en ambos grupos de edad y es más alto en los--
jóvenes que en los ancianos de ambos sexos (masculino: 29.9 y 14.9 - - -
ml/min/Kg, $P < 0.005$; femenino: 43.6 y 28.0 ml/min/Kg, $P < 0.05$) (19).

El hábito de fumar se asocia a los valores más elevados de de--
puración en particular es mayor entre sujetos jóvenes (19).

Desde el punto de vista patológico, se observa una diferencia--
significativa en la vida media del DIA entre pacientes que son alcohóli--
cos cirróticos ($t_{1/2} = 105.6 \pm 15.2$ hr) y el grupo control de la misma
edad ($t_{1/2} = 46.6 \pm 14.2$ hrs, $P < 0.001$), y entre pacientes con hepa--
titis viral aguda ($t_{1/2} = 74.5 \pm 27.5$ hrs) y pacientes con hepatitis--
activa crónica ($t_{1/2} = 59.7 \pm 23.0$ hr) comparados con el grupo con--
trol de la misma edad ($t_{1/2} = 32.7 \pm 8.9$ hr). En particular, se ob--
serva una diferencia más significativa entre pacientes con hepatitis vi--
ral aguda y grupos control que entre pacientes con hepatitis activa cró--
nica y el grupo control (26).

IX. DOSIFICACION Y CONCENTRACIONES SANGUINEAS.

9.1 Dosis.

Las presentaciones del DIA son las siguientes:

Cápsula, Tabletas y Comprimidos: 2, 2.5, 5, 10 y 25 mg

Jarabe: 2 mg

Ampolletas: 10 mg (32).

Las dosis deben ajustarse al cuadro clínico y a la respuesta - del paciente. El DIA, se administra por vfa oral o parenteral (intramuscular o intravenosa) (15).

La dosis única máxima de DIA que se conoce es de 300 y 400 mg, ésta dosis resulta ser masiva si se le compara con la dosis media terapéutica; pasada esta dosis, el paciente se hace atáxico y somnoliento. - Los síntomas desaparecen pasadas 8 horas y el paciente se recupera (12). Cuando tiende a emplearse por largo tiempo el DIA se suministra en dosis altas (28).

Las dosis diarias en miligramos (mg), son variables cuando se prescribe por vfa oral de 2 a 4 mg y de 20 a 40 mg (32). En niños mayores de 6 años se recomiendan diariamente de 0.2 a 0.4 mg/Kg de DIA (32).

Según el cuadro clínico y su uso, se recomiendan las dosis siguientes:

EN PREANESTESIA:

Sol. inyectable (ampolleta de 10 mg de DIA con 2 ml)

Dosis y Vfa de Admón.: en niños y adultos: 0.200-0.300 mg/kg

Intramuscular o Intravenosa

Indicaciones: preanestesia, inducción anestésico, sedación.

Efectos Secundarios: erupción y depresión del S.N.C. (22). La recuperación de la anestesia general parece retardarse -- (32).

EN EPILEPSIA:

Sol. inyectable (ampolleta de 10 mg de DIA con 2 ml)

Dosis y Vía de Admón.: a juicio del médico

Indicaciones: estado epiléptico (gran mal)

Efectos Secundarios: insuficiencia respiratoria y depresión del estado de consciencia (22).

Nota:

Se emplean dosis altas en el tratamiento de status epilepticus (30 a 60 mg por vía intravenosa) (32).

La dosis bucal en el adulto varía de: 4 a 40 mg al día, en el niño con una dosis inicial de 2 a 4 mg diariamente.

La dosis intravenosa en adulto es de 5 - 10 mg. en el niño de 2 - 5 mg, ajustándose al volumen corporal (17).

EN ANSIEDAD:

Dosis en Adultos: 25 a 40 mg en 24 hr, en 2 ó 3 tomas

Vía de Admón.: oral

Indicaciones: tranquilizante menor, relajante muscular y anticonvulsivo.

Efectos Secundarios: hiporreflexia, ataxia, somnolencia, miastenia.

Contraindicaciones: admón. simultánea de barbitúricos, ingestión alcohólica, dependencia (22).

Dosis en Niños: 2 a 6 mg en 24 hr, en 2 ó 3 tomas
Vía de Admón.: oral
Indicaciones:
Efectos Secundarios: Los mismos que las tabletas de 5 y 10 mg de DIA
Contraindicaciones:

9.2 CONCENTRACIONES SANGUÍNEAS: TERAPÉUTICA, TÓXICA, MORTAL DEL DIAZEPAM.

Concentración Sanguínea Terapéutica: 0.5 - 2.5 mcg/ml. Es la concentración de DIA en sangre, suero o plasma después de una dosificación terapéutica eficaz en humanos (18).

Concentración Sanguínea Tóxica: 5 - 20 mcg/ml. Es la concentración de DIA en sangre, suero o plasma asociada a la aparición de síntomas tóxicos graves en humanos (18).

Concentración Sanguínea Mortal: > 50 mcg/ml. Es la concentración de DIA en sangre, suero o plasma que ha sido descrita como causa de muerte o que es tan superior a las concentraciones referidas como terapéuticas o tóxicas que podría causar la muerte en humanos (18). Aunque es raro que una sobredosis por DIA llegue a ocasionar la muerte(15).

Nota.

Los valores descritos son en general obtenidos después de la administración oral del fármaco (18).

EN NEUROSIS. Algunos datos preliminares indican que las concentraciones mínimas efectivas en el tratamiento de pacientes neuróticos bajo régimen de dosificación normal permanente están alrededor de 0.400 - 0.500 mcg/ml (20,30). Efectos Secundarios: somnolencia, pereza, vértigo, ataxia, deterioro de ejecución y de la memoria, está usualmente asociada

con las concentraciones presentes en el plasma de 0.900 - 1.0 mcg/ml ---
(30).

EN ANSIEDAD. Una mínima concentración en el plasma bajo régimen de dosificación permanente se necesita 0.400 mcg/ml de DIA para aliviar la ansiedad aguda (15).

X. ASPECTOS SOCIOECONOMICOS.

Desde un punto de vista general, el resultado del incremento demográfico y el desarrollo industrial en la actualidad han causado un creciente proceso de "quimificación", en el cual las sustancias químicas difundidas ampliamente en el ambiente así como la producción constante de nuevos compuestos, adquieren cada vez mayor preponderancia afectando las manifestaciones vitales de los organismos tales como: el aporte energético, la base estructural, la regulación de las actividades funcionales, etc. (7,17). Los fármacos deben suministrarse después de conocer, de la manera más ampliamente posible, sus efectos en los seres vivos; puesto que si se desconoce su origen, composición, propiedades físicas y químicas, efectos farmacológicos, metabolismo, absorción, destino, eliminación, etc. (17) representan un gran riesgo para la salud de los individuos expuestos a ellos ya sea en forma aguda o crónica. En individuos en edad reproductora el uso de fármacos puede afectar a las futuras generaciones (48).

El consumo de fármacos, ha llegado a convertirse en un hábito del sistema social habiéndose iniciado, por necesidades terapéuticas (7). No obstante, la falta de control del tipo de fármaco y las dosis pueden provocar en el usuario el abuso, originando una dependencia psicológica (7). Las condiciones sociales de presión tales como la pobreza, industrialización, urbanización y desempleo, inducen al empleo de fármacos (7), produciendo perturbaciones que desequilibran al individuo en sus funciones básicas: biológicas, psicológicas y sociales, convirtiéndose en un ser improductivo y desadaptado, necesitado del auxilio médico y rehabilitatorio, considerándose un enfermo, debido a la dependencia del organismo a los efectos de una sustancia química (7). Se ha demostrado que el consumo de fármacos, es un grave problema individual y social, lo cual motiva a reducir la aceptación social de nuevos fármacos -

es un grave problema individual y social, lo cual motiva a reducir la -- aceptación social de nuevos fármacos, aunque ésto no implica que se lle-- gue a suprimir en su totalidad la disponibilidad de ellos, ya que al de-- saparecer su consumo, serían sustituidos por otro tipo (?).

Particularmente, en Estados Unidos (1977) se registraron 54 - millones de recetas prescritas de DIA y 13 millones de recetas para el - Clorodiazepóxido (43), se estima que 8 000 toneladas de benzodiazepinas- fueron consumidas y en el mismo año se contaron 53% de las recetas de -- hipnóticos (13.6 millones de recetas) (43).

Los esfuerzos comerciales del productor se dirigen al "consu-- midor instrumental", el médico que receta el producto pero no lo paga. - Para promover el Valium, "Hoffman-La Roche", gastó 200 millones de dóla-- res en 10 años y comisionó a unos 200 médicos por años para que escri-- bieran artículos científicos acerca de sus propiedades (21); una quinta- parte de los artículos publicados a las compañías farmacéuticas aporta-- ron datos falsos (21).

El DIA se utiliza en México, como muchos otros medicamentos - administrándose a los pacientes de manera indiscriminada, en dosis y re-- gímenes no documentados; y aún más, sin tener el médico un método adecua-- do para la evaluación del efecto terapéutico deseado. Además, de esto, - existen en el mercado nacional alrededor de 35 productos comerciales de-- venta al público, elaborados por distintos laboratorios, cuyas ventas -- anuales a instituciones de Salud Pública (IMSS e ISSSTE) representan su-- mas considerables. En las compras anuales de productos que contienen -- DIA, por ejemplo: de Enero a Diciembre de 1978, el ISSSTE invirtió al-- rededor de \$900 000.00 y el IMSS alrededor de \$ 8 000 000.00 siendo el - costo por unidad desde \$2.75 (frasco con 20 pastillas) hasta de \$ 20.00 (solución inyectable), lo cual da una idea de la necesidad que existe --

de establecer un uso y una distribución más racionales de estos productos.

Cabe hacer una clasificación, de usuarios, en general, en 4 -- de los diferentes grupos:

Los Experimentadores, los cuales consumen fármacos en forma -- esporádica con la finalidad de satisfacer su curiosidad; los Ocasionales, los que lo hacen como parte de un proceso social, similar en todo al -- consumo de alcohol, en reuniones; los Farmacodependientes, los que a su vez se dividen en Funcionales y Disfuncionales, los primeros resultan -- ser los usuarios que necesitan administrarse uno o varios fármacos para poder funcionar en sociedad, creando una dependencia tal al fármaco que no pueden realizar sus actividades normales si no lo consumen; los se-- gundos involucra a personas que han dejado de funcionar adecuadamente -- en sociedad y su vida entera queda por lo tanto reducida a conseguir y -- consumir el fármaco (7). No se conoce con precisión el número de personas farmacodependientes, al DIA.

XI. CONCLUSIONES.

El DIA pertenece al grupo de las benzodiazepinas, se sintetizó por primera vez en 1959 y se introdujo en la práctica clínica en 1960 -- como agente ansiolítico y relajante. El DIA ha llegado a ser después -- de la aspirina el medicamento más ampliamente utilizado en el Mundo Oc-- cidental.

En la determinación de fluidos biológicos el DIA y su princi-- pal metabolito comúnmente se extraen con dietil-éter de la sangre, ori-- na o bilis, con pH 7, se recupera hasta 90%. El DIA y su metabolito son fácilmente extraídos en los medios biológicos por varios disolventes or-- gánicos. Las extracciones se hacen normalmente a pH alcalino; la extrac-- ción posterior es en un medio ácido para obtener una purificación adi-- cional de la muestra. El método de rutina para determinar el DIA y el - N-desmetildiazepam en la sangre humana es el de Cromatografía de Líqui-- dos (HPLC) sobre sílice porosa, se usa n-heptano:isopropanol:metanol -- (40:10:1), con absorción de Luz Ultravioleta a 232 nm. El Radioinmunoen-- sayo (RIA), es un procedimiento usado para cuantificar el DIA en la san-- gre, éste se desarrolla con 2 anticuerpos diferentes, uno de ellos es es-- pecífico para DIA y el otro para reconocer a su principal metabolito. Por la alta polaridad y poca volatilidad de las benzodiazepinas se requiere-- de usar una fase líquida térmica estable y una columna bien desactivada. Mejorando la técnica de Cromatografía de Gases es posible cromatografiar a ambos DIA y N-desmetildiazepam antes de las transformaciones químicas. La técnica de Cromatografía de Gases con Detección de Captura de Elec-- trones (GC-ECD), presenta la ventaja de cuantificar con rapidéz (en me-- nos de una hora) el DIA, en una muestra de 1 ml de sangre humana.

El DIA, se metaboliza en el hígado a través de las enzimas mi-- crosomales, en bebés y en niños se metaboliza con más rapidéz que en --

adultos y ancianos. La vida media del DIA depende de la edad: en ancianos es más larga que en jóvenes y adultos; en su eliminación el DIA se excreta a través del riñón; se distribuye a los diferentes tejidos, es capaz de atravesar la membrana del líquido cefalorraquídeo y penetra al cerebro, atraviesa la placenta aunque se une a proteínas y se acumula en grasa; el DIA se absorbe lenta o rápidamente de acuerdo al tipo de administración (intravenosa, intramuscular, rectal u oral).

El DIA actúa sobre el Sistema Nervioso Central, tiene la propiedad de ser un tranquilizante (ansiolítico), sedante, hipnótico, anti-depresivo, preanestésico; es un relajante muscular; es utilizado especialmente como psicofármaco; es un producto de elección en el tratamiento de epilepsia, en enfermedades emocionales y neurológicas.

El DIA, al igual que todo fármaco tiene contraindicaciones: su empleo no es recomendable en pacientes que consumen simultáneamente barbitúricos, anticonvulsivos, antihipertensivos, opiáceos, alcohol, etc. ya que éstas pueden ocasionar interacciones graves. No debe administrarse en presencia de glaucoma, sin razones sólidas. Debe administrarse con precaución en niños y en personas que desempeñen trabajos manuales de precisión.

La administración repetida de dosis elevadas, puede inducir al desarrollo de una dependencia psíquica y física; por lo tanto, los médicos sugieren la necesidad de prescribir al DIA como otro de los posibles fármacos de abuso. Su uso continuo, induce la necesidad de tomar cantidades crecientes de DIA para obtener igual efecto terapéutico (Tolerancia). Se producen síntomas de abstinencia, después de interrumpir el fármaco de dosis moderadas a altas, tales como: dolor, ansiedad, temblor, agitación, insomnio, pérdida del apetito, náuseas, etc.

Los efectos colaterales humanos producidos por DIA son: confu-

si6n, visi6n borrosa, somnolencia, ataxia, aumento en el apetito, pereza, v6rtigo, hipotonia muscular, erupci6n cut6nea, aumento a la sensibilidad al alcohol, letargia, alteraci6n de la libido, apatfa, inconsciencia, -- etc.

En vista de los m6ltiples usos que puede tener el DIA resulta de particular inter6s reconocer la importancia del proceso de informaci6n sobre las cualidades y desventajas de este f6rmaco, para permitir -- principalmente un criterio amplio entre los profesionales del 6rea de la salud. No obstante, se espera en el futuro se desarrollen f6rmacos m6s-especficos u otros sustitutos m6s efectivos, de los cuales el DIA pueda ser el punto de referencia.

REFERENCIAS.

1. André, M., Petry, J.-M. y Vert, P. (1973). Depression respiratoire, - et neurologique chez le prématuré nouveau-né de mère traitée - par Diazepam. *Journal of Gynecologie, Obstetric et Biologie - de la Reproduction* 2, 366-375.
2. Arnold, E. (1975). A simple method for determining diazepam and its - major metabolites in biological fluids: Application in bioavai - lability studies. *Acta Pharmacol. et Toxicol.* 36, 335-352.
3. Barnett, A. y Fiore, J. (1971). Acute tolerance to diazepam in cats - and its possible relationship to diazepam metabolism. *Europ. - J. Pharmacol.*, 14, 301.
4. Benson, R.C. (1973). *Manual de Ginecología y Obstetricia. El Manual - Moderno*, S.A., México.
5. Berlin, A., Siwers, B., Agurell, S., Hiort, A., Sjoqvist, F. y Ström, - S. (1972). Determination of bioavailability of diazepam in -- various formulations from steady state plasma concentration -- data. *Clinical Pharmacology and Therapeutics* 13, 733 - 744.
6. Bertolotti, P.G. (1977). Evaluation of the effectiveness of and tole - rance to a new psychopharmacological agent in the anxiety de - pression syndrome. *Clin. Med.* 58 (9-10), 393-400.
7. C.E.M.E.F. (1976). *Fármacos de Abuso. Prevención Información Farmaco - lógica y Manejo de Intoxicaciones*, México. pp 239
8. Clarke, E.G.C. (1974). *Isolation and Identification of Drugs. The - Pharmaceutical* (Press London) p. 738.
9. Cohen, M.M., Hirschhorn, K., Frosch, W.A. (1969). Cytogenetic effects of tranquilizing drugs in vivo and in vitro. *J.A.M.A.* 207 (13), 2,425-2426.

10. Constant, G.A. y Grover, F.A. (1963). Preliminary evaluation of diazepam in psychiatric disorders. *Psychosomatics*, 80-84.
11. De Silva, J.A.F., Koechlin, B.A., Ender, G. (1966). Blood level distribution patterns of diazepam and its major metabolite in man. *J. Pharm. Sci.* 55, 692-702.
12. Di Palma J.R. (1978). *Drill Farmacología Médica*. La Prensa Médica Mexicana, México. pp. 1882.
13. Domino, E.F. (1962). Human pharmacology of tranquilizing drugs. -- *Clin. Pharmacol. Ther.* 3, 599-664.
14. Evans, H.J. y O'Riordan, M. (1975). Human peripheral blood lymphocytes for the analysis of chromosome aberrations in mutagen test. *Mutat. Res.* 31, 135-148.
15. Foltz, R.L., Fentiman, A.F. y Foltz, R.B. (1980). *GC/MS Assays for Abused Drugs in Body Fluids*. NIDA Research Monograph 32, -- Washington, D.C. pp. 128-149.
16. Garattini, S., Marcucci, F., Morselli, P.L. y Mussini, E. (1973). The significance of measuring blood levels of benzodiazepines. In: *Biological Effects of Drugs in Relation to their Plasma Concentrations*, Edited by Davies, D.S. y Prichard, Macmillan, London. pp. 211-225.
17. Goth, A. (1977). *Farmacología Médica*. Interamericana, México. pp. - 632.
18. Goth, A. (1979). *Farmacología Médica*. The C.V. Mosby Company, España pp. 701.
19. Greenblatt, D.J., Allen, M.D., Hartmatz, J.S. y Shader, R.I. (1980). Diazepam disposition determinants. *Clin. Pharmacol. Ther.* 27 (3), 301-312.

20. Hillestad, L., Hansen, T. y Nolsom, H. (1974). Diazepam metabolism - normal ma. II. Serum concentration and clinical effect after - oral administration and cumulation. *Clinical Pharm. Ther.* 16, - 485-489.
21. Illich, I. (1978). *Nemesis Médica. La exposición de la Salud.* Joaquín Mortiz, México, pp. 98-99.
22. I.M.S.S. (1978). Cuadro básico de medicamentos. Interacción de medicamentos cifras normales de laboratorio, 5a. Edición, México, - D.F. pp. 575.
23. Kaplan, S.A., Jack, M.L., Alexander, K. y Weinfeld, R.E. (1973). - Pharmacokinetic profile of diazepam in man following single in - travenous and oral and chronic oral administration. *Journal - of Pharmaceutical Sciences* 62, 1789-1796.
24. Kellog, C. (1980). Prenatal exposure to diazepam alters. *Behavioral Development in Rats. Science* 207, 205-207.
25. Klotz, U., Antonin, K.H., Müller, W.A. y Bieck, P. (1975), Influen- ce of dosing and liver disease on the pharmacokinetics of dia- zepam in man. Sixth. Int. Congress of Pharmacology, Helsinki, - July 20-25, Abs. 120.
26. Klotz, U., Avant, G.R., Hoyumpa, A., Schenker, S. y Wilkinson, G.R. (1975). The effect of age and liver disease on the disposition and elimination of diazepam in adult man. *Journal of Clinical Investigation* 55, 347-359.
27. Lean, T.H., Ratnam, S.S. y Sivasambo, R. (1968). Use benzodiazepi- nes in the management of eclamsia. *Journal of Obstetrics and Gynecology of the British Commonwealth* 75, 856-862.
28. Maletzky, B.M. y Klotter, J. (1976). Addiction to diazepam. *The In- - ternational Journal of the Addictions* 11 (1), 95-115.

29. Moolenaar, F.S., Visser, B.J. y Huizinga, T. (1980). Biopharmaceutics of rectal administration of drugs in man; 9. Comparative biopharmaceutics of diazepam after single rectal, oral, administration in man. *Int. J. Pharm. (AMST)* 5 (2), 127-137.
30. Morselli, P.L. (1977). Drug disposition during development. Spectrum-Publications. New York 2, 449-474.
31. Omray, A.K., Sharma, A.K., Chauhan, P.S. (1978). The influence of diluents in the property tablets of diazepam and evaluation from commercial tablets in vitro. *Indian J. Pharm.* 40 (1), 8-10.
32. Rojas, J.A. (1976). Benzodiazepinas Farmacología y Terapéutica. *Rev. Fac. Med., México. U.N.A.M.* 32-35.
33. Safra, M. y Oakley, G.P. (1975). Association between cleft lip with or without cleft palate and prenatal exposure to diazepam. *Lancet* 2, 478-480.
34. Schwartz, M.A., Koechlin, B.A., Postma, E., Palmer, S. y Krol, G. (1965). Metabolism of diazepam in rat, dog and man. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 149, 423-435.
35. Schwartz, D.E., Vecchi, M., Ronco, A. y Kaiser, K. (1966). Blood levels after administration of 7-chloro-1,3-dihydro-1-methyl-5-phenyl-2H-1,4-benzodiazepine-2-one (diazepam) in various forms. *Arzneimittel-Forschung* 16, 1109-1110.
36. Seevers, M. y Deneau, G. (1963). Physiological aspects of tolerance and physical dependence. *Physiological Pharmacology*, Vol. I, Root, W. y Hoffman, F. Eds., Academic Press, N.Y.
37. Shannon, R.W., Fraser, G.P., Aitken, R.G. y Harper, J.R. (1972). Diazepam in preclamptic toxemia with special reference to its

- effect on the newborn infant. *British Journal of Clinical Practice* 26, 271-275.
38. Stanley, A.K. y Stanley, C. (1972). Use of cannuled Everted Intestinal Sac for Serial Sampling as a Drug Absorbability (Permeability) Screen. *V. Pharm. Sci.* 61 (9), 1361-1365.
39. Steinbach, D., Weber, E., Stuber, W., Moller, H. y Piper, C. (1980). - Investigation of pharmaceutical and biological availability -- of market preparations of diazepam. Part. 2. Comparative evaluation of pharmaceutical and biological availability. *Zentrallaboratorium Deutscher Apotheker, Ginnheimer St. 20, 6236 -- Eschborn, Germany Pharm. Ztg.* 125, 1343-1347.
40. Steinbach, D., Weber, E., Stuber, W., Moller, H. y Piper, C. (1980). - Investigation of the pharmaceutical and biological availability of market preparations of diazepam. Part. 3. Comparative -- evaluation of pharmaceutical and biological availability, *Zentrallaboratorium Deutscher Apotheker, Ginnheimer St. 20, 6236- Eschborn, Germany Pharm. Ztg.* 125, 1385-1388.
41. Stenchever, M.A. y Frankel, R.S. (1969). Some effects of diazepam -- in human cells in vitro. *Am. J. Obstet Gynecol.* 103, 836-842.-
42. Stenchever, M.A., Frankel, R.S. y Jarvis, J.A. (1970). Effects of -- diazepam on chromosomes of human leukocytes in vivo. *Am. J. - Obstet Gynecol.* 107 (3), 456-460.
43. Tallman, J.F., Paul, S.M., Skolnick, P. y Gallagher, D.W. (1980). -- Receptors for the age of anxiety. *Pharmacology of benzodiazepines, Science* 207, 274-281.
44. Tonkopi, V.D., Spfonov, G.A., Aleksandriiskaya, I.E. y Brestkina, - L.M. (1978). Study on the mechanism of diazepam on the acetylcholine level in the mouse brain. *Byull, Eksp. Biol. Med.* 86, - 38-40.

45. Van der Kleijn, E. (1969). Kinetics of distribution and metabolism - of diazepam in animals and human. Arch. Int. Pharmacodyn 182, 433-436.
46. White, B.L., Driscoll, E.J., Tjio, J.H. y Smalck, Z.H. (1974). --- Chromosomal aberration rates and intravenously given diazepam. A negative study. J.A.M.A. 230 (3), 414-417.
47. Woody, G.E. (1975). Misuse and abuse of diazepam: an increasingly - common medical problem. Int. J. Addict. 10, 843-848.
48. Zavala, C. y Armendares, (1978). Genética Humana. Inst. Syntex, -- México. pp. 135.