

Estudio de la Estabilidad de una Formulación
de Diazepam Solución Inyectable, Frente a
Cambios Térmicos y de pH

359

T E S I S
QUE PARA OBTENER
EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
PRESENTA
MARIA DEL CARMEN PEREZ MARTINEZ



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

LAB. Org.
AÑO 1976
FECHA Oct. 5
PROC. 344



QUIMICA

JURADO ASIGNADO ORIGINALMENTE :

Presidente	RAMON ULACIA ESTEVÉ.
Vocal	ETELVINA MEDRANO DE JAIMES.
Secretario	ANDRES ZUÑIGA PADILLA.
1er. Suplente	MARIO MIRANDA CASTRO.
2o. Suplente	ALFREDO GARZON SERRA.

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA :

LABORATORIO SILANES, S. A.

Sustentante	MARIA DEL CARMEN PEREZ MARTINEZ.
Asesor	ANDRES ZUÑIGA PADILLA.

CON GRAN CARIÑO. A MIS PADRES

ALBERTO Y MA. ELENA.

A MIS HERMANOS :

ALBERTO, MA. ELENA, SUSANA,

LILIA, ERASMO.

A MIS SOBRINOS :

ERASMO, ALBERTO, EMILIO, LILIA.

CON AGRADECIMIENTO A:

Q.F.B. ANDRES ZUÑIGA PADILLA.
POR LA DIRECCION DE ESTE TRABAJO.

INDICE

	Pág.
I.- INTRODUCCION.	1
II.- GENERALIDADES.	2
III.- PLAN DE TRABAJO.	17
A) SELECCION DEL VEHICULO.	17
B) DETERMINACION DE LA ESTABILIDAD.	20
C) DETERMINACION DEL pH OPTIMO.	25
D) IRRITABILIDAD.	29
IV.- CONCLUSIONES.	36
V.- BIBLIOGRAFIA.	37

1.- INTRODUCCION.

Las soluciones líquidas homogéneas, representan el tipo perfecto de dilución y de distribución de un medicamento y en teoría el más adecuado para la absorción de los mismos.

El objetivo del trabajo es desarrollar una formulación de Diazepam en solución inyectable para lo cual, se hará uso de las técnicas de solubilización y se estudiará el efecto de la temperatura y del pH sobre la velocidad de reacción empleando para esto la ecuación de Arrhenius.

Un programa de estabilidad, involucra la colección de datos que demuestren la retención de las características físicas, químicas y microbiológicas del producto, desde la aprobación de manufactura hasta que sea administrado al paciente.

El propósito de los resultados de los datos de estabilidad es determinar :

1.- Si es necesario o no, dadas las características del producto y con el tiempo, determinar condiciones de almacenamiento.

2.- Si las características del producto están sujetas, con el tiempo a una degradación por factores tales como: el calor, la luz, el aire, el agua y prevenirlos para permitir su uso dentro de un razonable intervalo de seguridad.

II.- GENERALIDADES.

Es importante en la formulación de un fármaco, conocer las propiedades físicas y químicas de los componentes que intervendrán en la formulación y los usos a que se les destinará para darle la forma farmacéutica adecuada y desarrollar un procedimiento de manufactura apropiado, puesto que de esto depende la uniformidad, calidad y principalmente el efecto terapéutico esperado.

PROBLEMAS FISICOS Y QUIMICOS REFERENTES EN LA FORMULACION DE LAS FORMAS FARMACEUTICAS INYECTABLES.

El tipo de problemas que pueden encontrarse en las formulaciones farmacéuticas, frecuentemente se relacionan con las propiedades físicas de los ingredientes involucrados y especialmente del "principio activo"; puesto que las propiedades físicas influyen en el volumen final del producto, métodos de manejo durante la manufactura y condiciones de envase y almacenamiento.

La forma física es importante por considerar la estabilidad y actividad biológica, así como el tamaño de partícula, en lo que se refiere al valor de disolución para la absorción y efectividad terapéutica.

El principal problema al que se enfrenta el químico analista es el desarrollar un método analítico que determine cuantitativamente la molécula intacta en la

formulación.

Idealmente, el método debe ser lo suficientemente específico para distinguir la molécula del "principio activo", de los productos de degradación y excipientes.

De los parámetros fisicoquímicos que se deben estudiar para todo compuesto experimental están los siguientes :

- 1.- Solubilidad.
- 2.- Coeficiente de partición.
- 3.- Espectro de infrarrojo, ultravioleta y visible.
- 4.- Cromatografía en capa delgada.
- 5.- Estabilidad.

Los principales elementos que afectan o pueden afectar al "principio activo" son el calor, la luz, el aire, el agua, estos elementos involucran estudios hidrolíticos, fotocatalíticos, oxidativos y/o rutas térmicas de degradación.

Las formas sólidas, pueden ser más fácilmente protegidas contra la luz, el calor, el aire y el agua que las formas farmacéuticas líquidas, aunque estas con el uso de antioxidantes y/o un gas inerte pueden protegerse contra la oxidación. El uso de recipientes ambar u opacos los protege contra los efectos adversos de la luz y degradaciones fotocatalíticas, en tanto que el almacenaje en lugar fresco los protege del calor.

Sin embargo, como la mayoría de los inyectables están en solución acuosa, no pueden protegerse contra la hidrólisis.

Cuando esto es demasiado difícil, es posible hacer liofilizado, secarlo o presentar el material insoluble para una posterior suspensión. Pero como la mayoría de las soluciones inyectables se preparan en solución acuosa, esto lleva generalmente a una degradación inicial por una hidrólisis.

Cuando no es posible por razones físicas o químicas usar un sistema totalmente acuoso, los solventes no acuosos ayudan en la formulación a desarrollar sistemas estables, convenientes para las formas parenterales.

El sistema ideal no debe ser tóxico, ni irritante, debe tener una actividad terapéutica nula, así como también no debe tener efectos adversos con la acción del medicamento; no debe ser afectado por alcalis y ácidos y su viscosidad debe ser tal que permita una fácil inyección.

Para lograr la solubilización de compuestos escasamente solubles en agua, resulta de gran utilidad la aplicación de los agentes de solubilización o sean aquellos productos que permiten, en el seno del agua, la distribución homogénea de productos hidrosolubles; estos agentes se agrupan en tres familias :

- 1.- Sustancias hidrotropas.
- 2.- Sustancias que modifican la tensión superficial.
- 3.- Sustancias complejantes.

1.- Las sustancias hidrotropas, favorecen la solución acuosa de productos normalmente poco o no solubles en agua, por la modificación de las fases intermoleculares del agua. La hidrotropía se realiza con la asociación de dos solventes, el agua por una parte y por otra la solución acuosa de una sal en solución concentra

da de un solvente, tal como alcohol. Un exceso de agua provoca el desequilibrio del sistema y la mezcla se vuelve turbia.

2.- Sustancias tensoactivas o agentes de superficie, son aquellas, que permiten la formación de soluciones micelares. Estas soluciones tienen como propiedad ser fisicoquímica y termodinámicamente estables. Pueden ser diluidas con agua sin ruptura del sistema, sin turbiedad. Químicamente la formación de micelas protege a las sustancias solubilizadas contra la oxidación.

3.- Los agentes de solubilización por complejación; son aquellos que permiten la solución por complejación, es decir, por asociaciones moleculares, tales asociaciones se llevan a cabo por la formación de puentes de hidrógeno; favoreciendo de este modo la solubilización en agua de una sustancia poco o no hidrosoluble.

ASPECTOS TERMODINAMICOS Y CINETICOS.

Las alteraciones en los productos farmacéuticos son debidas principalmente a las reacciones químicas que tienen lugar entre las moléculas del "principio activo" y los elementos que lo rodean, tales como: otros principios activos, las moléculas de los solventes o los productos elaborados por los microorganismos e incluso las paredes de los envases.

Es fundamental, con el fin de asegurar la estabilidad y con ello la calidad de un producto farmacéutico, tener el conocimiento de los principios de la cinética

ca química, para poder prevenir las alteraciones que pueden producirse cuando un "principio activo" se combina con otros ingredientes y establecer las condiciones -- más adecuadas que eviten o retarden su degradación.

El orden de reacción, se define como la manera en la cual el valor de -- una reacción varía con la concentración de los reactivos y puede ser :

- 1.- Orden Cero.
- 2.- Primer Orden.
- 3.- Segundo Orden.
- 4.- Pseudo Primer Orden.

1.- LAS REACCIONES DE ORDEN CERO : son aquellas que dependen -- de algún otro agente que no sea la concentración de los reactivos. En este tipo de -- reacciones, los factores limitantes son la solubilidad o la absorción de la luz en -- tas reacciones fotoquímicas.

Matemáticamente se expresa de la manera siguiente :

$$C = C_0 - kt$$

C = Concentración después de un tiempo t.

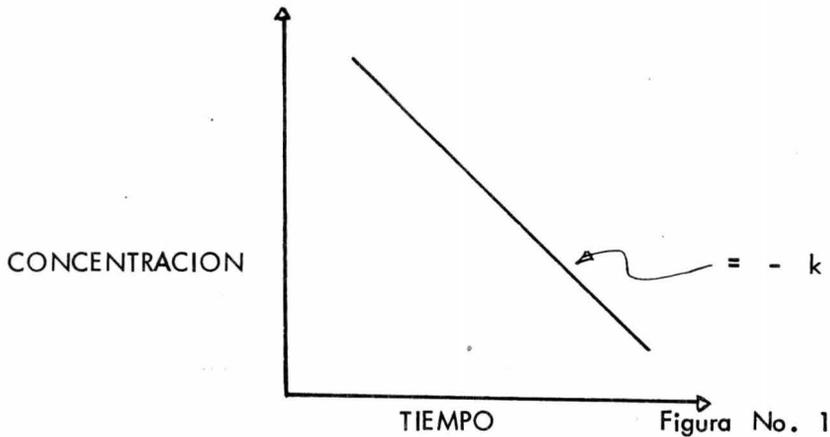
C₀ = Concentración Inicial.

k = Constante de orden cero.

t = Tiempo.

La representación gráfica de esta ecuación, corresponde a la figura No.-

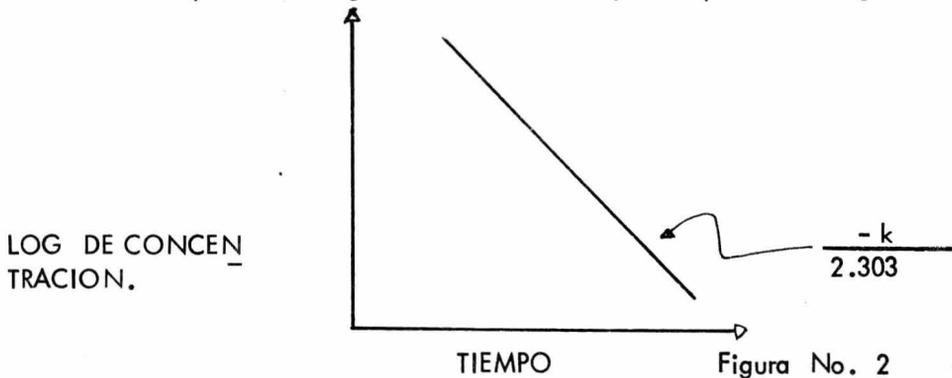
1.



2.- LAS REACCIONES DE PRIMER ORDEN, son aquellas en las que la velocidad de descomposición es directamente proporcional a la concentración de -- una de las sustancias reaccionantes y se expresa matemáticamente de la manera siguiente :

$$\log C = \frac{-k t}{2.303} + \log C_0$$

La representación gráfica de la ecuación, corresponde a la Fig. No. 2



La vida media de un medicamento, $t_{1/2}$, es el tiempo requerido para que

el 50% del "principio activo" se degrade.

En el campo farmacéutico, el tiempo requerido para que el 10% del "principio activo" se degrade, es un valor importante que se debe de tener en cuenta, pues representa un límite razonable de degradación del "principio activo".

3.- LAS REACCIONES DE SEGUNDO ORDEN, son aquellas en las que la velocidad de reacción depende de las concentraciones de dos sustancias reaccionantes; su expresión matemática es la siguiente :

$$1/C = k t + 1/C_0$$

La constante de velocidad, k , para una reacción de segundo orden se expresa en unidades de $\text{litro mol}^{-1} \text{seg}^{-1}$.

4.- LAS REACCIONES DE PSEUDO PRIMER ORDEN, son aquellas en las que la sustancia al estado sólido no se degrada y la descomposición del compuesto en solución sigue una cinética de primer orden.

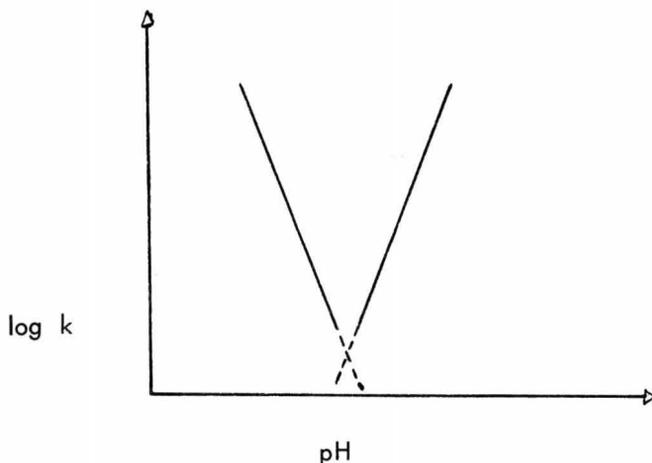
De los procesos destructivos en la formulación de formas farmacéuticas, probablemente el que se encuentra con mayor frecuencia es el proceso hidrolítico y oxidativo.

Los procedimientos hidrolíticos dependen del pH; Normalmente, existe un pH de mínima descomposición en el cual el efecto catalítico de los iones hidroxilo y iones oxidrilo es igual.

El uso de soluciones amortiguadoras de suficiente capacidad para mante--

ner el pH óptimo, ofrece una ayuda para mejorar la estabilidad del producto.

El pH de óptima estabilidad puede determinarse cuando se grafica el logaritmo de la constante de velocidad, contra el pH; el punto de inflexión de la curva, indica el pH de óptima estabilidad; así como se ve en la gráfica siguiente :



Las reacciones de oxidación dependen de varios factores, incluyendo temperatura, concentración de oxígeno en el líquido concentración de compuestos oxidables, la luz.

Las preparaciones sensitivas a la oxidación se estabilizan, reemplazando el oxígeno por la adición de sustancias que inhiben este proceso, como puede ser el burbujear nitrógeno en las soluciones, regulando las soluciones a un pH favorable - empleando disolventes excentos de metales, evitando la presencia de la luz, manteniendo el producto almacenado a baja temperatura.

Influencia de la fuerza iónica sobre la degradación. La fuerza iónica, $(u = 1/ \sum e_{ci}^2 z_i^2)$ se define como la suma de los términos que se obtienen multi-

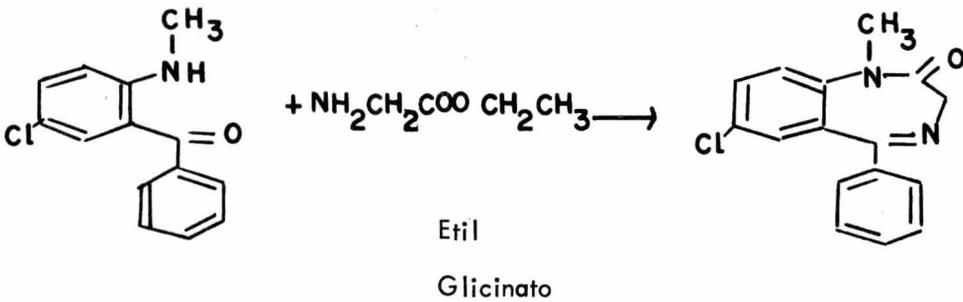
plicando la concentración de cada especie iónica presente en la disolución por el cuadrado de su valencia.

La concentración de una sal empleada en un líquido de una preparación farmacéutica, puede incrementar o disminuir el valor de degradación de un medicamento en solución o no tener efecto alguno.

DIAZEPAM.

Sintetizado por Sternbach and Reeder (1961), es el 7-Cloro-1,3-dihidro-1-metil-5-fenil-2H-1,4-Benzodiazepin-2-ona.

Puede ser sintetizado por la reacción de 2-metilamino-5-clorobenzofenona y etil glicinato.



2-Metilamino-5-cloro
Benzofenona.

Diazepam P.M. 284.75
C₁₆H₁₃ClN₂O

Es un polvo blanco cristalino o blanco amarillento, practicamente inodoro, tiene un punto de fusión de 131-135°C, es insoluble en agua, escasamente soluble en alcohol, soluble en propilenglicol y muy soluble en cloroformo.

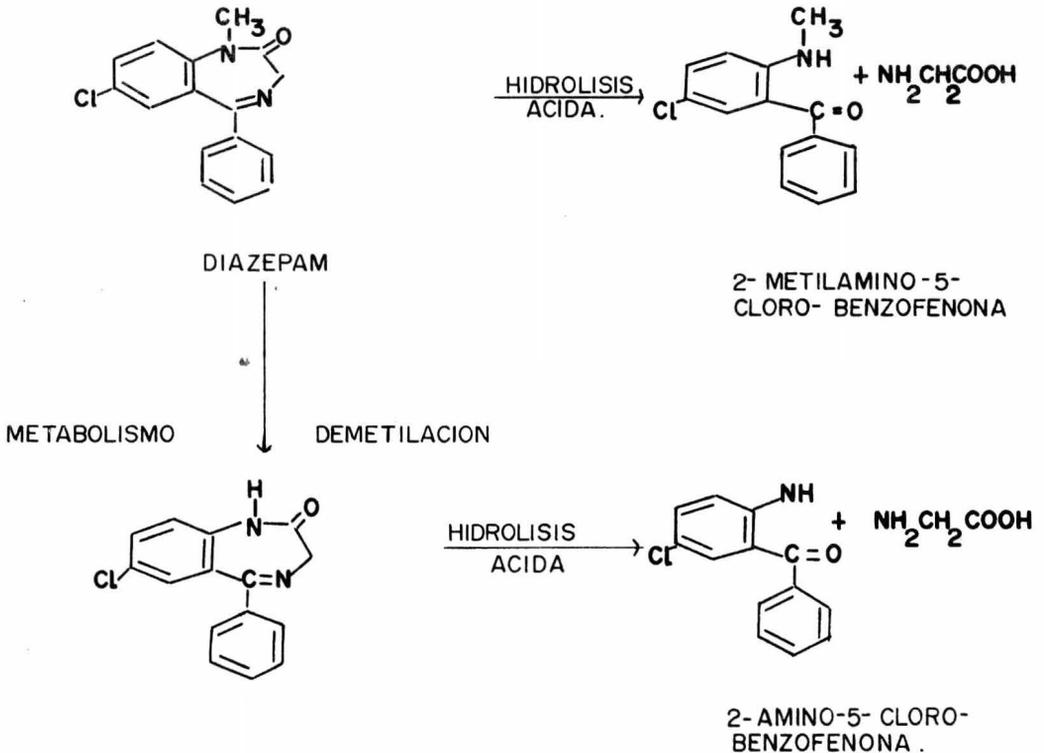
El espectro de infrarrojo de una muestra patrón en KBr , presenta las-

siguientes bandas características; a 3390 para el grupo NH, a 1680 para el C = O - y a 1560, 1480 para los grupos aromáticos. Ver Figura A.

El espectro de ultravioleta para el Diazepam, exhibe 3 máximos que se localizan a $242 \text{ mM} \pm 2 \text{ mM}$, $285 \text{ mM} \pm 2 \text{ mM}$ y $368 \text{ mM} \pm 2 \text{ mM}$ en metanol ácido sulfúrico 0.1N. Ver Fig. B.

PRODUCTOS DE DEGRADACION.

El único camino de degradación observado para el Diazepam y sus metabolitos, es una hidrólisis ácida dando lugar a un derivado de benzofenona y glicina.



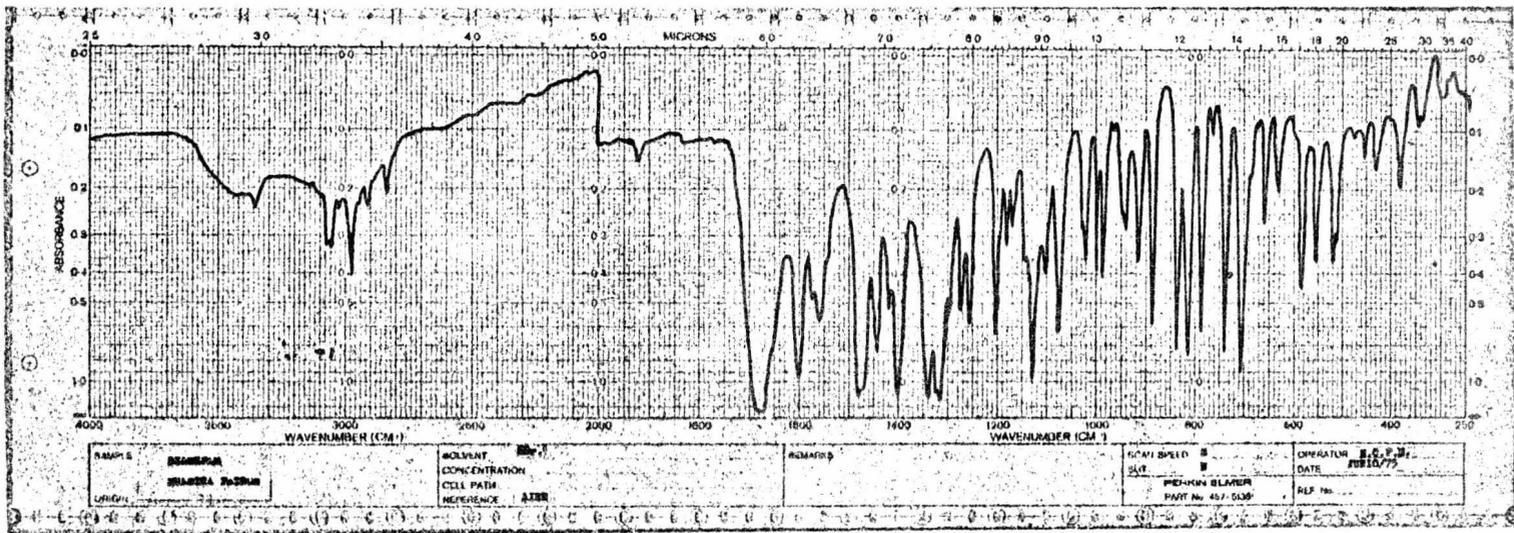


FIGURA A

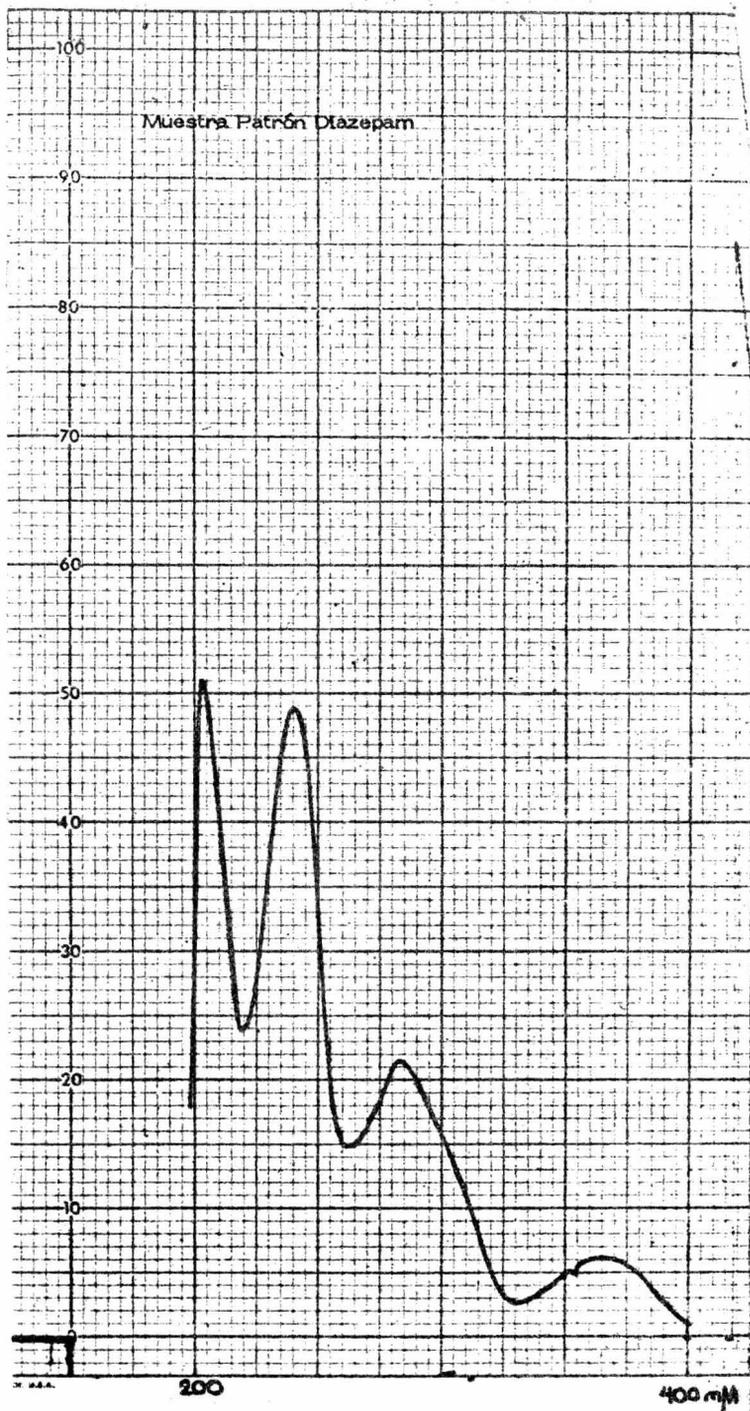


FIGURA B

METODOS DE ANALISIS.

CROMATOGRAFIA EN PLACA FINA. Se usa como una prueba de identidad y evaluación, se emplean placas de sílica gel G y una mezcla de sistema de solventes; n-heptano: acetato de etilo (1:IV/V) la muestra disuelta en acetona. Otro sistema es metanol: amoníaco (100:1.5 V/V) cloroformo como solvente, se revela con la luz ultravioleta o reactivo de Dragendoff.

ANALISIS ESPECTROFOTOMETRICO DIRECTO. Se puede hacer el análisis espectrofotométrico de Diazepam en lugar del producto de descomposición, usando el máximo a 365 mμ en metanol sulfúrico 0.1 N y tomando un valor de absorción de 14.5 (13, 14).

METODO POLAROGRAFICO. Una sola reducción tiene el Diazepam y ha sido observada por varios investigadores en sistemas acuosos, la reducción se ha atribuido al grupo $-C=N-$ y la corriente de difusión es proporcional a la concentración en el rango de 2×10^{-4} a 2×10^{-7} M el método se comparó con el espectrofotométrico y resultó ser éste último, superior en precisión y conveniencia. (13, 14).

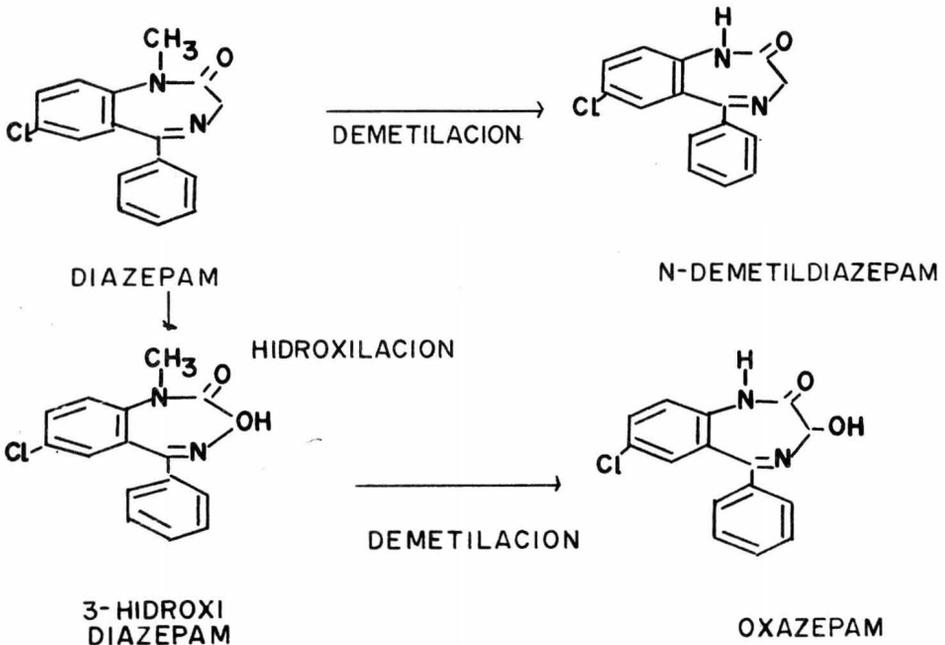
TITULACION NO ACUOSA. Puede titularse el Diazepam en anhídrido acético usando ácido perclórico en ácido acético y clorhídrico de azul nilo como indicador. Cada mililitro de ácido perclórico 0.1 N equivale a 28.48 mg. de Diazepam.

ACCION Y USOS.

Estructuralmente el Diazepam es un agente psicoterapéutico y farmacológicamente está relacionado con el clordiazepoxido y oxazepam. El Diazepam ac-

túa en sitios del sistema límbico, el talamus e hipotálamus, produciendo calma, es-relajante del músculo esquelético y tiene efectos anticonvulsionantes. No tiene ac-ción de bloqueo sobre el sistema periférico autónomo.

Siguiendo la administración oral, el medicamento parece ser bien absorbi-do desde el tracto gastrointestinal y ejerce sus efectos dentro de media a una hora.- Con la administración intramuscular, los efectos del principio activo aparecen de 15 a 30 minutos. El ataque de la acción es mucho más rápida después de la cuarta ad-ministración y el efecto puede persistir por un período de 3 horas. El principio acti-vo es detoxificado en el hígado a un metabolito, el cual puede ser además metaboli-zado a un derivado aminoácido. El mayor metabolito de Diazepam en humano con-siste en la demetilación del nitrógeno en la posición 1, la adición de un grupo hidró-xilo al carbono 3 y la conjugación del derivado respectivo. El primer metabolito - en sangre es el N-dimetildiazepam y en orina el Oxazepam Glucoronido.



Diazepam, se indica en general en todos los casos de ansiedad y tensión graves, de excitación ansiosa, en la irritabilidad exagerada y los rasgos hipocondríacos y depresivos. Por su acción antitensional, induce al sueño pero no lo fuerza como un barbitúrico.

La dosis diaria de Diazepam, es de 4 a 40 mg. dependiendo de los requerimientos individuales del paciente; la dosis para niño es de 0.5 mg. por kilogramo de peso.

III.- PLAN DE TRABAJO.

A) SELECCION DEL VEHICULO.

Puesto que el Diazepam es insoluble en agua y el propósito del trabajo - es hacer una solución inyectable, la principal consideración que se hizo fue :

1.- Como incrementar la solubilidad del compuesto en agua.

2.- Como obtener un sistema de estabilidad física y química, para seleccionar el vehículo.

Obviamente, un principio activo que no es soluble en agua, como lo es - el Diazepam, requiere de la selección de un solvente no acuoso.

En el presente trabajo, se emplearon: polietilenglicol 400, polietilenglicol 600, alcohol etílico, alcohol bencílico, tween 80, agua, en diferentes proporciones con los que se prepararon diferentes soluciones, las cuales fueron sometidas a la prueba de ciclaje, o sea mantenerlas a temperatura ambiente y de 4°C alternativamente; Con objeto de determinar que soluciones cristalizarán. Seleccionando - las siguientes formulaciones :

Fórmula para 100 ml.

	I-A	II-A	
Diazepam	500.0 mg	500.0 mg.	
Propilenglicol	25.0 ml	30.0 ml.	
Polietilenglicol 400	25.0 ml	20.0 ml	
Alcohol etílico	5.0 ml.	10.0 ml	
Agua c.b.p.	100.0 ml.	100.0 ml.	
	I-B	II-B	
Diazepam	500.0 mg.	500.0 mg.	
Propilenglicol	40.0 ml.	50.0 ml.	
Alcohol etílico	10.0 ml.	10.0 ml.	
Agua c.b.p.	100.0 ml.	100.0 ml.	
	I-C	II-C	
Diazepam	500.0 mg.	500.0 mg.	
Propilenglicol	60.0 ml.	70.0 ml.	
Alcohol etílico	10.0 ml.	10.0 ml.	
Agua c.b.p.	100.0 ml.	100.0 ml.	
	I-D	II-D	III-D
Diazepam	500.0 mg.	500.0 mg.	500.0 mg.
Alcohol bencílico	1.5 ml.	2.0 ml.	1.5 ml.
Alcohol etílico	5.0 ml.	10.0 ml.	10.0 ml.
Propilenglicol	30.0 ml.	50.0 ml.	60.0 ml.
Agua c.b.p.	100.0 ml.	100.0 ml.	100.0 ml.

De estas soluciones se seleccionaron por su apariencia física y mejor vis—

cosidad, las fórmulas II-C y III-D, con las cuales se probaron dos soluciones amortiguadoras, una de fosfatos y otra de benzoatos a pH 6.5, de las cuales resultó ser la mejor la solución amortiguadora de benzoatos, puesto que la otra solución tiende a recristalizarse.

Fórmula para 100.0 ml.

Diazepam	500.0 mg.
Alcohol bencílico	1.5 ml.
Alcohol etílico	10.0 ml.
Propilenglicol	55.0 ml.
Benzoato de Sodio	472.6 mg.
Acido benzóico	83.0 mg.
Agua c.b.p.	100.0 ml.

B) DETERMINACION DE LA ESTABILIDAD.

Se fabricaron nuevos lotes con esta última formulación y se llenaron ampollitas transparentes y ampollitas ambar con atmósfera de nitrógeno y sin ella y se procedió a la prueba de estabilidad acelerada sometiéndolas a temperaturas de 60, 70 y 90°C obteniéndose los datos siguientes :

La solución contenida en las ampollitas transparentes, cambió de coloración; de un color inicial amarillo verdoso muy ligero, cambió a amarillo fuerte -- cuando fué expuesta a la luz directa, no así la solución de las ampollitas ambar, esta cambió de tonalidad con la temperatura, siendo más intensa con el incremento de temperatura.

No hubo variación en los resultados obtenidos entre las ampollitas con -- atmósfera de nitrógeno que sin ella. Por lo que la prueba de estabilidad acelerada se llevó a cabo en las ampollitas de vidrio transparente y sin atmósfera de nitrógeno.

Resultados obtenidos :

Temperatura 60°C

Tiempo (días)	Concentración mg.	Concentración (%)	Log de Concentración
0	5.0525	100.0	2.0000
7	5.0385	99.72	1.9988
14	5.0525	100.00	2.0000
21	5.0035	99.03	1.9957
28	4.9825	98.62	1.9940

Tiempo (Días)	Concentracui ón mg.	Concentración (%)	Log. de Concen tración.
35	4.9125	97.23	1.9878
42	4.9050	97.08	1.9872

Temperatura 70°C

0	5.0525	100.0	2.0000
7	4.9750	98.45	1.9932
14	4.9400	97.77	1.9902
21	4.8400	95.79	1.9813
28	4.7500	94.10	1.9731
35	4.7030	93.10	1.9689
42	4.6600	92.23	1.9639

Temperatura 90°C

Tiempo (días)	Concentración mg.	Concentración (%)	Log de Concen tración.
0	5.0525	100.00	2.0000
1.125	4.9850	99.70	1.9996
4.125	4.8200	98.40	1.9943
8.150	4.8950	97.90	1.9908
11.200	4.8800	97.60	1.9894
16.240	4.8100	96.20	1.9832
21.250	4.7150	94.30	1.9745
25.350	4.6420	92.85	1.9677
29.250	4.5620	91.25	1.9620
38.300	4.5330	90.67	1.9574
49.000	4.3150	86.30	1.9360
64.250	4.0650	81.30	1.9101
78.000	3.8950	77.90	1.8915

La representación gráfica de estos datos es la siguiente :

Los coeficientes de correlación lineal son los siguientes :

Temperatura	r	Orden de Reacción.
60°C	0.9403	0
60°C	0.9114	1er.
70°C	0.9926	0
70°C	0.9983	1er.
90°C	0.9980	0
90°C	1.0336	1er.

Como 1er. Orden de Reacción.

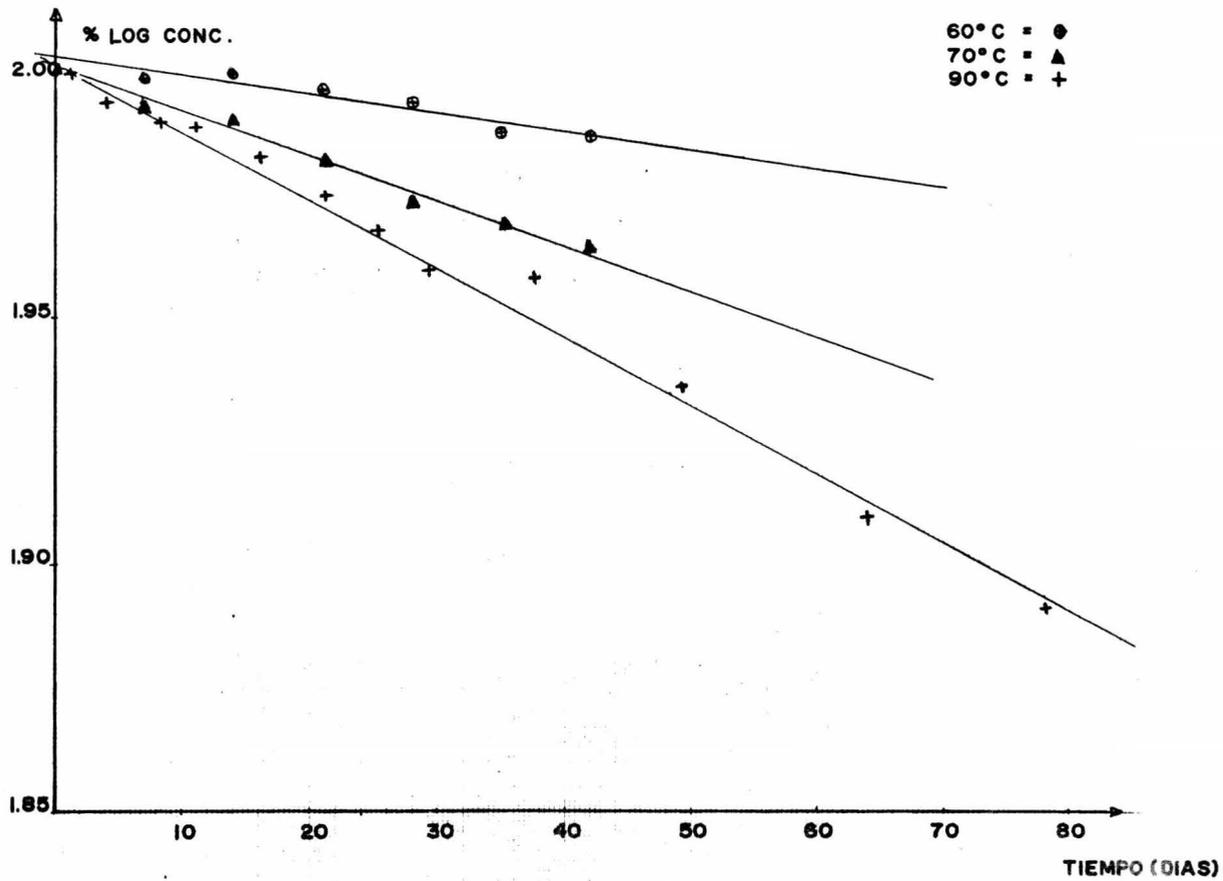
Para 60°C	$m = 3 \times 10^{-4}$ $k = 7 \times 10^{-4}$	$\frac{1}{T}$ 3.003×10^{-3}
Para 70°C	$m = 8.877 \times 10^{-4}$ $k = 20.44 \times 10^{-4}$	2.915×10^{-3}
Para 90°C	$m = 14 \times 10^{-4}$ $k = 32.0 \times 10^{-4}$	2.755×10^{-3}

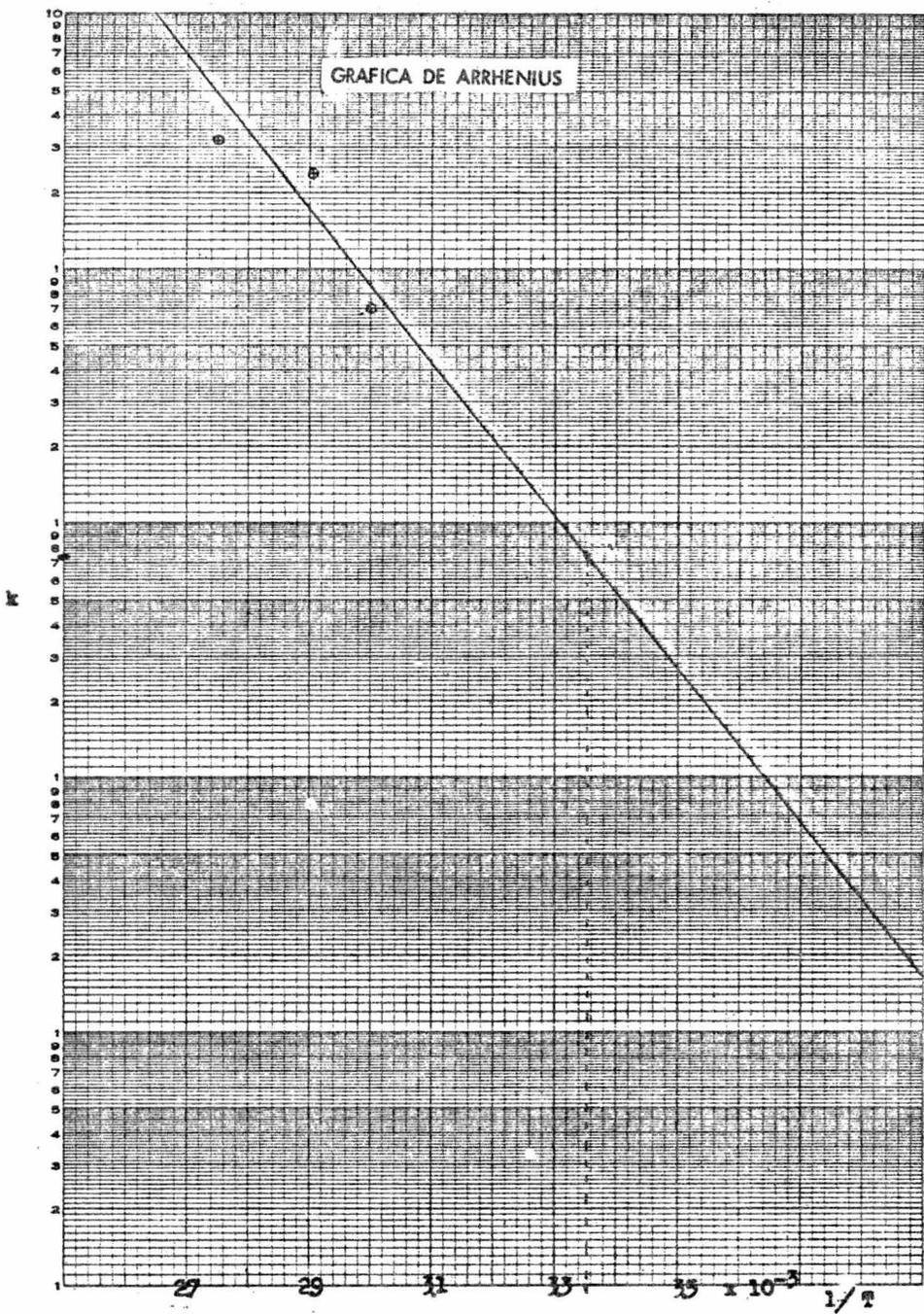
De la gráfica de Arrhenius.

Para 25°C	$k = 0.75 \times 10^{-4}$	3.355×10^{-3}
$t_{90\%} = \frac{2.303}{0.75 \times 10^{-4}} \text{Log} \frac{100}{90}$		

$$t_{90\%} = 3.81 \text{ años.}$$

% LOG CONC. Vs TIEMPO.





C) DETERMINACION DEL pH OPTIMO.

Se sabe que el pH de la solución debe estar entre 6.2 a 6.9; para ello se fabricaron 6 nuevos lotes con la misma formulación, pero variando el pH, 4, 5.3, 5.9, 7.8, 9.3, se llenaron en ampollitas amarillas y sin atmósfera de nitrógeno y se mantuvieron a 90°C, obteniéndose los siguientes resultados.

pH	Tiempo (días)	Concentración (%)	Log de Concentración.
4	0	101.48	2.0067
4	1.18	101.30	2.0055
4	6.00	97.30	1.9881
4	8.00	97.30	1.9881
4	12.18	97.80	1.9903
4	15.31	94.59	1.9758
4	18.00	85.14	1.9301
4	32.30	81.08	1.9089
4	42.00	80.40	1.9053
<hr/>			
5.3	0	100.00	2.0000
5.3	1.18	99.90	1.9996
5.3	6.00	99.87	1.9994
5.3	8.00	98.50	1.9934
5.3	12.18	95.95	1.9820
5.3	15.31	97.29	1.9881
5.3	18.00	93.39	1.9703
5.3	32.20	93.24	1.9696
5.3	42.00	87.97	1.9443

pH	Tiempo (días)	Concentración (%)	Log de Concen- tración.
5.9	0.00	100.00	2.0000
5.9	1.18	97.70	1.9987
5.9	6.00	98.65	1.9941
5.9	8.00	97.97	1.9911
5.9	12.18	95.48	1.9845
5.9	15.31	95.85	1.9816
5.9	18.00	95.13	1.9783
5.9	32.30	94.59	1.9758
5.9	42.00	91.89	1.9632

7.8	0.00	100.40	2.0017
7.8	1.18	99.75	1.9989
7.8	6.00	98.80	1.9948
7.8	8.00	99.30	1.9969
7.8	12.18	96.10	1.9827
7.8	15.31	97.40	1.9886
7.8	18.00	96.20	1.9832
7.8	32.30	94.12	1.9740
7.8	42.00	90.20	1.9552

9.3	0.00	101.70	2.0072
9.3	1.18	101.00	2.0043
9.3	6.00	97.57	1.9893
9.3	8.00	100.20	2.0008
9.3	12.18	96.62	1.9851
9.3	15.31	98.10	1.9917

pH	Tiempo (días)	Concentración (%)	Log de Concentración.
9.3	18.00	94.46	1.9753
9.3	32.30	91.89	1.9632
9.3	42.00	86.35	1.9362

Las constantes de velocidad de estos datos son los siguientes .

$$\text{pH } 4 \quad m = 2.6473 \times 10^{-3}$$

$$k = 6.0967 \times 10^{-3}$$

$$\text{pH } 5.3 \quad m = 1.2706 \times 10^{-3}$$

$$k = 2.9261 \times 10^{-3}$$

$$\text{pH } 5.9 \quad m = 8.2320 \times 10^{-4}$$

$$k = 1.8958 \times 10^{-3}$$

$$\text{pH } 7.8 \quad m = 8.5330 \times 10^{-4}$$

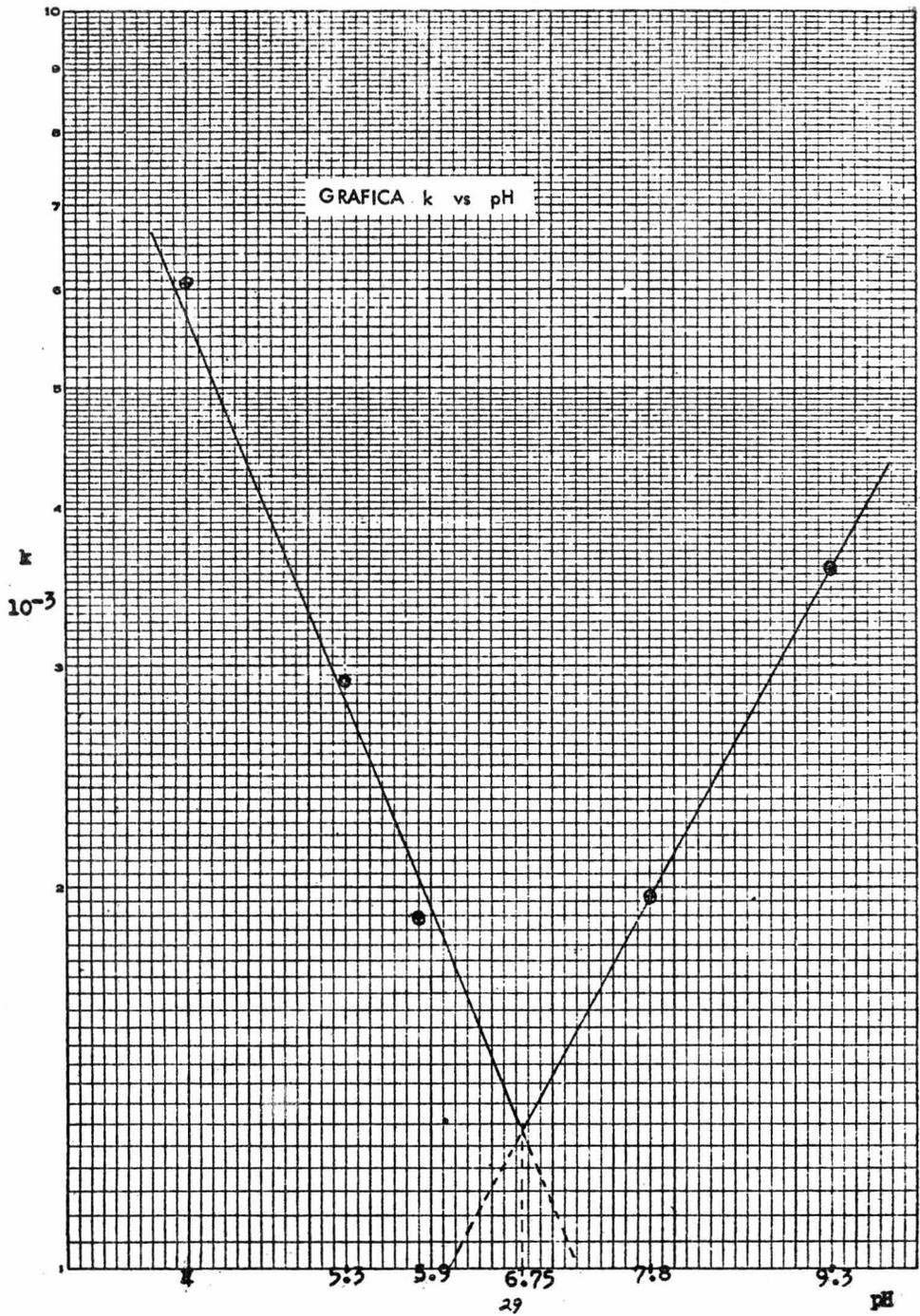
$$k = 1.9651 \times 10^{-3}$$

$$9.3 \quad m = 1.5560 \times 10^{-3}$$

$$k = 3.5834 \times 10^{-3}$$

La representación gráfica de estos datos es la siguiente :

De la gráfica, k vs pH se obtiene que el pH de máxima estabilidad es de _



D) IRRITABILIDAD.

Se practicó esta prueba de irritabilidad, debido a la composición del vehículo; Se emplearon conejos a los cuales se les administró 1 ml de la solución inyectable como dosis mínima y 2 ml como dosis máxima. La inyección fué aplicada en el músculo sacroespinal del animal y examinado el sitio de la inyección a las 24, -- 48 y 72 hrs. encontrándose una ligera hemorragia en el sitio de la aplicación, pero no la aparición de necrosis, edema ni inflamación.

TIEMPO (hrs)	DOSIS ml	HINCHAZON	EDEMA	HEMORRAGIA	NECROSIS
24	1.0	0	0	2	1
48	1.0	0	0	0	0
72	1.0	0	0	0	0
24	2.0	0	0	1	0
48	2.0	0	0	1	0
72	2.0	0	0	0	0

Grados de la escala :

- 0 = NORMAL
- 1 = MUY LIGERO
- 2 = BIEN DEFINIDO
- 3 = MODERADO
- 4 = SEVERO

El método empleado en la valoración de las ampollitas, fué espectrofotométrico basado en la absorción de Diazepam a 365 mμ en metanol ácido sulfúrico - 0.1 N. Ver el siguiente espectro.

Curva de calibración de Diazepam Ver Fig. C.

Concentración (mcg/ml)	Absorbancia.
30	.452
40	.599
50	.751
60	.898
70	1.050

Para 50 mcg/ml.

$$n = 25$$

$$x = .7541 = 100.19\%$$

$$M = .750 = 100.00\%$$

$$S = 0.56$$

$$t_{0.01} = 2.48$$

$$t_{0.05} = 1.71$$

$$t \text{ calculada} = 1.6965$$

$$\text{L.C. } 0.01 = 0.1915$$

$$\text{L.C. } 0.05 = 0.2778$$

$$t = \frac{\bar{X} - M}{S/\sqrt{n}}$$

límites de confianza L.C

$$\text{L.C.} = \frac{S \cdot x \cdot t}{\sqrt{n}}$$

$$x = 100 \pm 0.1915$$

$$x = 100 \pm 0.2278$$

El valor calculado es inferior al valor teórico, por lo que las variaciones quedan dentro de los límites de confianza para 95 y 99%.

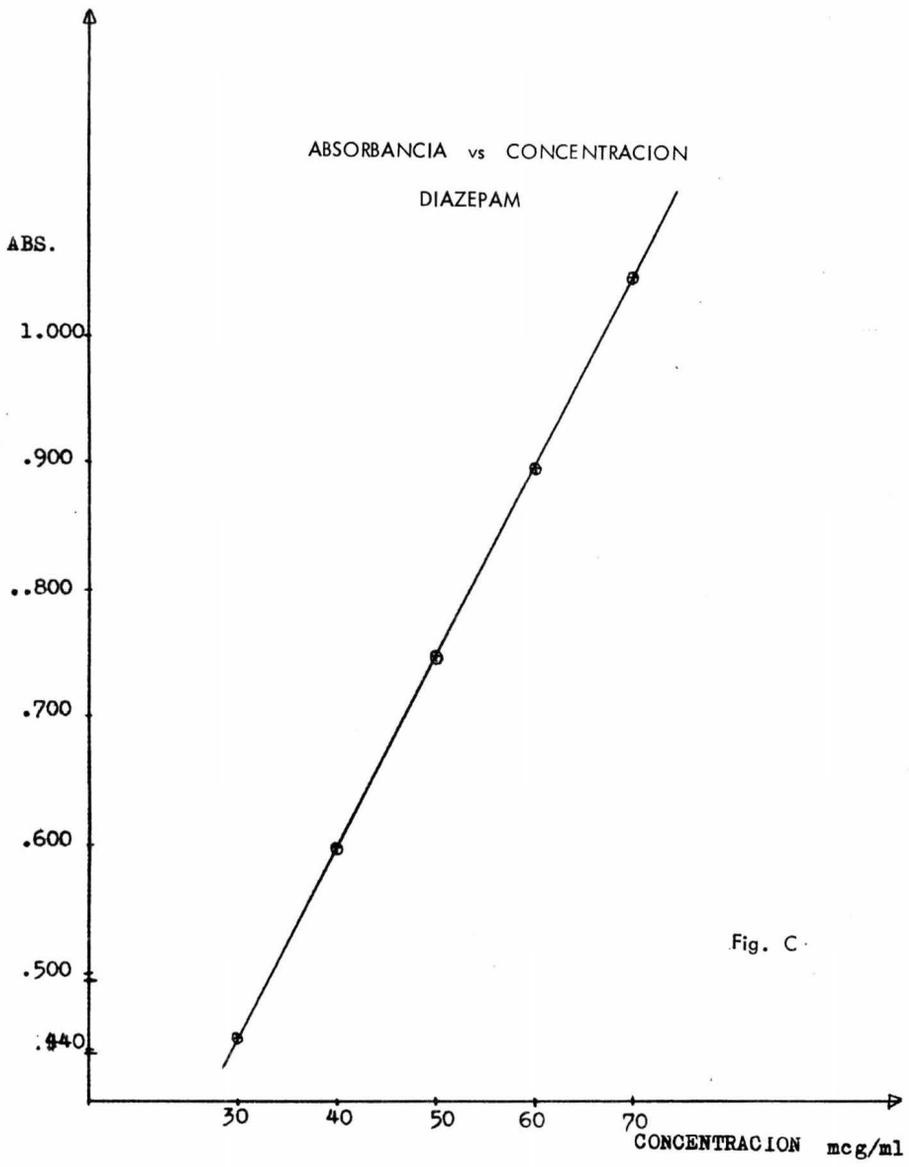
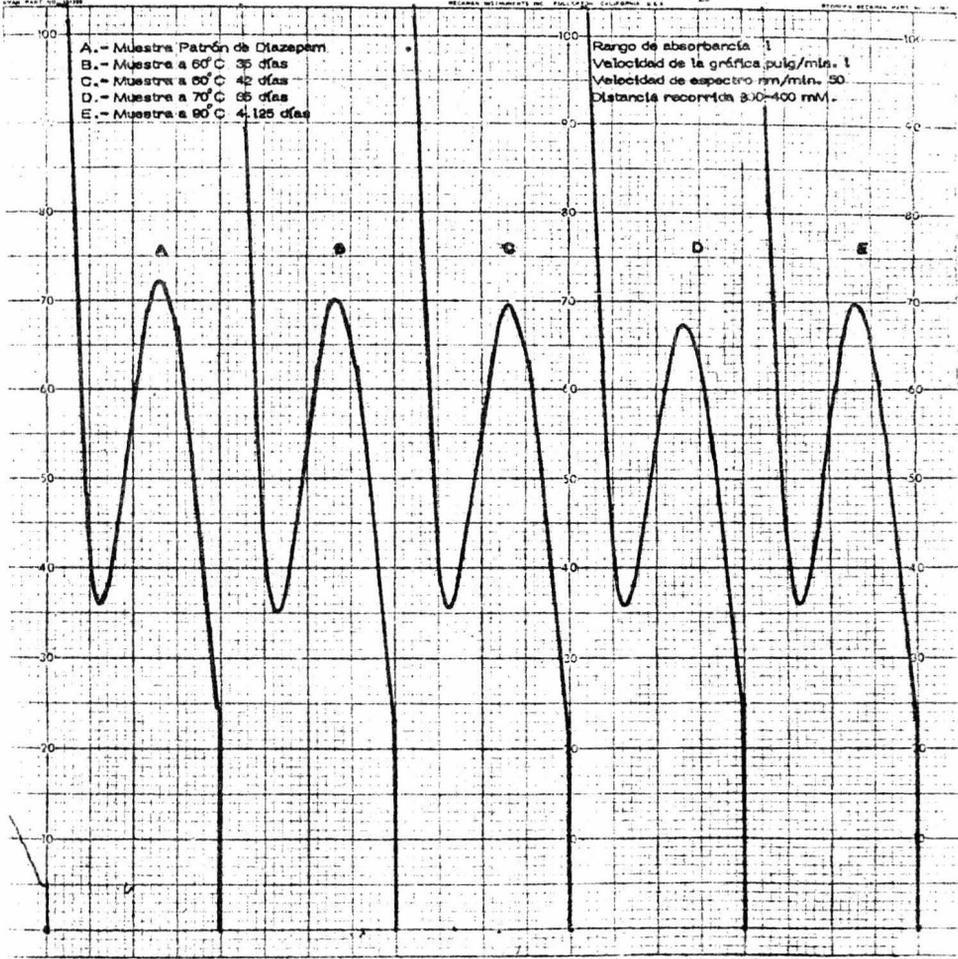


Fig. C

LEFT

18

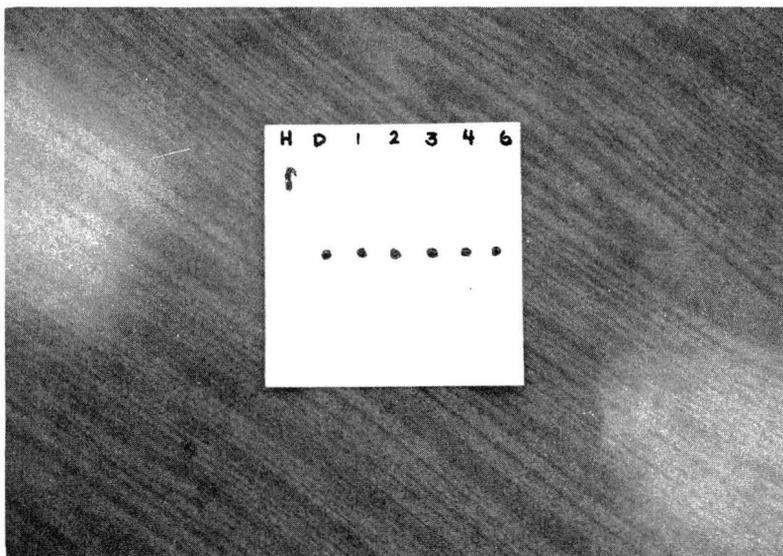


Se usó la cromatografía en placa delgada como una prueba de identificación, se usaron placas de sílica gel G de 0.25 mm y una mezcla de hexano; acetato de etilo (1:1), cloroformo como solvente. Se obtuvo un Rf de 0.9017 para un patrón de hidrolizado y un Rf de 0.5809 para un patrón de Diazepam con los cuales se comparó el Rf de las muestras problema y se comprobó que no había productos de degradación. Las placas se revelaron con luz ultravioleta y con reactivo de Dragendoff. Ver Figura D.

Un espectro de infrarrojo hecho con una muestra sometida a la prueba de estabilidad acelerada se encontró semejante con el espectro de la muestra patrón ver Figura E.

Las pruebas de valoración e identificación fueron practicadas con el siguiente equipo :

- 1.- Espectrofotómetro UNICAM S.P. 1800
- 2.- Espectrofotómetro de infrarrojo PERKIN ELMER. MODELO 467.
- 3.- Placas para cromatografía 20 x 20 de sílica gel G de 0.25 mm de espesor.



H.- HIDROLIZADO

D.- DIAZEPAM

1.- MUESTRA No. 1 70°C

2.- MUESTRA No. 2 70°C

3.- MUESTRA No. 3 70°C

4.- MUESTRA No. 4 70°C

6.- MUESTRA No. 6 70°C

FIGURA D

IV.- CONCLUSIONES.

- 1.- Es posible la formulación de soluciones inyectables de sustancias no solubles en agua, mediante el empleo de cosolventes.
- 2.- Debido al cambio físico de la solución, debe ser envasada en ampollitas —ambar que las proteja de la luz.
- 3.- La solución de Diazepam inyectable, es estable químicamente, por tal razón es posible esterilizarla por autoclave.
- 4.- El pH de máxima estabilidad es de 6.75.
- 5.- La caducidad del producto resulta ser de 3.810 años.

V.- BIBLIOGRAFIA.

- 1.- Lachman, L.
The Theory and Practice of Industrial Pharmacy.
Lea & Febiger.
Philadelphia 1970.
Section III Págs. 669-709.
- 2.- Martin Alfred, N.
Principios de Físico-Química para Farmacia y Biología.
Madrid 1967.
Capítulo XVII Págs. 482-547.
- 3.- Guillot, B. Acquisitions récentes parmi les solvants et solubilisants pharmaceutiques, Lyon Pharmaceutique 19:8; 307-341 1968.
- 4.- Cartensen, J.T. Su, K.S.E. Thermodynamic and Kinetic.
Aspects of Parenteral Benzodiazepines. Bulletin of the Parenteral Drug --
Associations. 25:4; 193-203 1971.
- 5.- The National Formulary.
Thirteenth edition.
Pág. 220-222.
- 6.- Schwartz, M. A. Koechlin, B. A. Metabolism of Diazepam in rat, dog -
and man, The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics.
149: 3; 423-435 1965.
- 7.- Crankshaw, D. P. and Raper, C. The effect of solvents on the potency of
Chlordiazepoxide, Diazepam, Dedazepam and Nitrazepam.
J. Pharm. Pharmac; 23; 313-321, 1971.

- 8.- Spiegel, J.A. and Noseworthy M. M. use of Nonaqueous Solvents in Parenteral Products. *Journal of Pharmaceutical Science*. 52 : 10; 917-926, 1963.
- 9.- Windeuser, J. J. The Effect of Buffers on Parenteral Solutions. *The Bulletin of The Parenteral Drug Association*. 17: 5; 1-8 1963.
- 10.- Thomas, J. Macek. Problems Fisics and Chemistrys involving the Formulations of new Dosage Pharmaceuticals. *American Journal of Pharmacy*. -- 137; 217-238. 1965 part I.
Thomas J. Macek. *American of Pharmacy* 38; 1, 22-39, 1966 Part II.
- 11.- Murray, S. Cooper.
Quality Control in the Pharmaceutical Industry.
Academic Press.
Volumen 2
New York 1973 Pág. 152-156-158-163.
- 12.- Mollica, J. A. and Lin, K. S. Parenteral Formulation V :
Development if Analytical Methods for a Sterile Product.
Bulletin of the Parenteral Drug Association 25 :
3, 140-147 may-jun. 1971.
- 13.- Chafetz, L. and Gaglia, Ch. A. Jr. Stability Assay for Prazepam and Related Drugs.
Journal of Pharmaceutical Science.
56 : 12; 1681-1682 1967.
- 14.- Klaus Florey.
Analytical Profiles of Drugs Substances.
Volumen I.
Academic Press.
New York 1972. Pág. 79-99.
- 