

26.
2 ej



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN

"ESTUDIO DE LA ESTABILIDAD DE LA CEFAZOLINA
MAS HEPARINA EN SOLUCION SALINA FISIOLÓGICA
Y DEXTROSA AL 5%"

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA
P R E S E N T A N :
**HERNANDEZ CHIBLE YADIRA AMADA
TORRES JUAREZ NORA MARGARITA
VILLEGAS NIETO YOLANDA**

ASESOR: QFB RICARDO OROPEZA CORNEJO

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEX.

1996

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



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.



REPUBLICA NACIONAL
DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
SECRETARIA ACADEMICA
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

U. N. A. M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLAN



Departamento de
Exámenes Profesionales

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

DR. JAIME KELLER TORRES
DIRECTOR DE LA FES-CUAUTITLAN
P R E S E N T E .

ATIN: Ing. Rafael Rodríguez Ceballos
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la F.E.S. - C.

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS TITULADA:

Estudio de la Estabilidad de la Cefazolina mas Heparina en Solución Salina
Estabilógica y Dextrosa al 5%

que presenta la pasante: Yadira Amada Hernández Chible
con número de cuenta: 8958861-3 para obtener el TITULO de:
Química Farmacéutica Bióloga ; en colaboración con :
Nora Margarita Torres Juárez y Yolanda Villegas Nieto

Considerando que dicha tesis reúne los requisitos necesarios para ser discutida en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

A T E N T A M E N T E .
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cuautitlán Izcalli, Edo. de Méx., a 26 de Marzo de 1996

PRESIDENTE	<u>M. en C. Luisa Martínez Aguilar</u>	<u>[Firma]</u>
VOCAL	<u>Q.F.B. Ma. Eugenia R. Posada Galarza</u>	<u>[Firma]</u>
SECRETARIO	<u>Q.F.B. José Antonio Garduño Rosas</u>	<u>[Firma]</u>
PRIMER SUPLENTE	<u>Q.F.B. Efrén Hernández Baltazar</u>	<u>[Firma]</u>
SEGUNDO SUPLENTE	<u>Q.F.B. Ricardo Oropeza Cornejo</u>	<u>[Firma]</u>



ESTADOS UNIDOS MEXICANOS
 REPUBLICA NACIONAL
 FEDERATIVA DE
 ESTADOS LIBRES E INDEPENDIENTES

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
 SECRETARIA ACADEMICA
 UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
 DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

U. N. A. M.
 FACULTAD DE ESTUDIOS
 SUPERIORES CUAUTITLAN



Departamento de
 Exámenes Profesionales

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

DR. JAIME KELLER TORRES
 DIRECTOR DE LA FES-CUAUTITLAN
 P R E S E N T E .

ATN: Ing. Rafael Rodríguez Cobalza
 Jefe del Departamento de Exámenes
 Profesionales de la F.E.S. - C.

Con base en el art. 29 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS TITULADA:
Estudio de la Estabilidad de la Cefazolina mas Heparina en Solución Salina
Fisiológica y Dextrosa al 5%.

que presenta la pasante: Nora Margarita Torres Juárez
 con numero de cuenta: 8958863-7 para obtener el TITULO de:
Química Farmacéutica Bióloga ; en colaboración con :
Yadira Amada Hernández Chible y Yolanda Villegas Nieto

Considerando que dicha tesis reúne los requisitos necesarios para ser discutida en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

A T E N T A M E N T E .
 "POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
 Cuautitlán Izcalli, Edo. de Méx., a 26 de Marzo de 1996

PRESIDENTE	M. en C. Luisa Martínez Aguilar	<u>[Firma]</u>
VOCAL	Q.F.B. Ma. Eugenia R. Posada Galarza	<u>[Firma]</u>
SECRETARIO	Q.F.B. José Antonio Garduño Rosas	<u>[Firma]</u>
PRIMER SUPLENTE	Q.F.B. Efrón Hernández Baltazar	<u>[Firma]</u>
SEGUNDO SUPLENTE	Q.F.B. Ricardo Oropeza Cornejo	<u>[Firma]</u>



ESTADO NACIONAL
ACADEMIA DE
MEDICINA

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
SECRETARIA ACADEMICA
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

U. N. A. M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLAN

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS



Departamento de
Exámenes Profesionales

DR. JAIME KELLER TORRES
DIRECTOR DE LA FES-CUAUTITLAN
P R E S E N T E .

ATN: Ing. Rafael Rodríguez Ceballos
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la F.E.S. - C.

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS TITULADA:
Estudio de la Estabilidad de la Cefazolina mas Heparina en Solución Salina
Estérolica y Dextrosa al 5%.

que presenta la pasante: Yolanda Villegas Nieto
con número de cuenta: 8958879-2 para obtener el TITULO de:
Química Farmacéutica Bióloga ; en colaboración con :
Yadira Amada Hernández Chible y Nora Margarita Torres Juárez

Considerando que dicha tesis reúne los requisitos necesarios para ser discutida en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

A T E N T A M E N T E .

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Edo. de Méx., a 26 de Marzo de 1986

PRESIDENTE	N. en C. Luisa Martínez Agullar	<u>[Firma]</u>
VOCAL	Q.F.B. Ma. Eugenia R. Posada Galarza	<u>[Firma]</u>
SECRETARIO	Q.F.B. José Antonio Garduño Rosas	<u>[Firma]</u>
PRIMER SUPLENTE	Q.F.B. Efrén Hernández Baltazar	<u>[Firma]</u>
SEGUNDO SUPLENTE	Q.F.B. Ricardo Oropeza Cornejo	<u>[Firma]</u>

Queremos agradecer muy profundamente a la Sección de **Química Analítica** por las facilidades que nos brindaron al prestarnos el equipo necesario para la realización de la presente Tesis. Especialmente a las profesoras: **Ella Granados y Guadalupe Perez C.** por su asesoría y apoyo sin las cuales no hubiera sido posible la realización de nuestra tesis.

Nuestro agradecimiento al Profesor **Enrique Angeles**, quien nos brindó su orientación y asesoría al inicio de la investigación para encaminar nuestro trabajo.

Nuestro más sincero agradecimiento y admiración a quien supo orientarnos desde un principio y se involucró tanto en nuestro trabajo, que formó una parte muy importante dentro de el al dirigimos en el area de estabilidad. Gracias Profesor **Rodolfo Cruz**.

También expresamos nuestro agradecimiento al Profesor **Jose A. Garduño** por el asesoramiento tan importante que nos brindó en la parte estadística, para así poder dar una interpretación adecuada a nuestros resultados.

Con especial afecto y cariño a nuestros profesores *Maru y Ricardo*:

Por su apoyo dedicación, orientación, consejo y dirección, no solo en el presente trabajo sino a lo largo de toda la carrera. Mil gracias.

A todos los miembros del **Jurado** por su atención al presente, por sus sugerencias, orientación y dirección.

Y para todos aquellos **Profesores y compañeros;** que nos brindaron un momento de apoyo de gran valor para nosotras.

Sinceramente Yadira Nora y Yolanda.

AGRADECIMIENTO :

A MIS PADRES :

Porque todo lo que he logrado, ha sido gracias a el amor, confianza y apoyo que me dan en cada momento de mi vida.

A MIS HERMANOS :

Manuel Yamil y Rosi; por la alegría y el entusiasmo que me dan día con día.

A OSCAR :

Por su presencia en los momentos más especiales de mi vida.

A YOLA, NORA Y GINA :

Por ser mis grandes Amigas.

YADIRA AMADA.

AGRADEZCO :

A DIOS :

Por la vida, el amor y la felicidad que he tenido a lo largo de mi camino, por lo que *El* me ha permitido ser y tener.

A MI PADRE ARTURO :

Por tu ejemplo, amor, apoyo, guía y por la confianza que siempre depositaste en mí.

A MI MADRE MICA :

Por tu amor, sacrificio y entrega. Sin tu apoyo, yo no sería lo que hasta ahora he logrado.

A MIS HERMANAS GABY Y LILI :

Por su cariño y comprensión, sin su alegría no hubiera podido soportar los malos momentos.

A MI ABUELITA MARGARITA :

Donde quiera que estes, porque siempre me inspiraste temura.

A MI ABUELITA JOSEFINA :

Por tu amor, cariño y confianza.

A MI PADRINO GUSTAVO :

Por el apoyo y cariño que siempre me expresas.

A UN ANGELOTE QUE EL SEÑOR PUSO EN MI CAMINO :

MONSEÑOR MIGUEL ANGEL CORONA H. Por su cariño, guía y dirección; sin su ayuda y consejo no hubiese soportado los momentos difíciles.

AL DR. MIGUEL ROBREDO DEL RIO:

Porque siempre estuvo presente en el momento cuando más lo necesitaba, con el ánimo y energía que siempre me supo inyectar.
Gracias por ser mi amigo.

A MIS HERMANOS DE EMAUS :

Por su entusiasmo alegría y apoyo.

A LOS MEJORES AMIGOS QUE PUDE TENER :

ANA, CECI, GINA, YADI Y YOLA :

Por su lealtad, cariño y amistad incondicional.

ABEL :

Por tu cariño y alegría porque siempre me acompañaste en todo momento.

SERGIO ARTURO :

Porque tu amistad es uno de mis más valiosos tesoros.
Gracias por el cariño, confianza y ayuda desinteresada que siempre me brindaste.

NORA MARGARITA.

AGRADEZCO :

A DIOS por todo aquello que me ha brindado.

A DIOS por dame unos *padres* que han estado a mi lado en todo momento.

A DIOS por dame la oportunidad de tener unos *hermanos* que siempre me apoyan y estan junto a mi.

A DIOS por la suerte de haber puesto en mi camino a *Alfredo* que ha estado a mi lado en las buenas y en las malas .

A DIOS por el *Amor* de cada uno de ellos, que me permite vivir, y al abrir los ojos, cada día sonreir al recordar que siempre han estado y estarán junto a mi a cada momento.

YOLANDA.

CONTENIDO

INTRODUCCION	1
OBJETIVOS	5
GENERALIDADES	6
PROPIEDADES FISICOQUIMICAS	8
PRODUCCION DE CEFALOSPORINAS	9
METODOS DE DETECCION DE CEFALOSPORINAS	12
ESPECTROFOTOMETRIA UV / VISIBLE	13
ESPECTROFOTOMETRIA UV	14
LEY DE BEER	16
CROMATOGRAFIA	19
ANTECEDENTES HISTORICOS	20
PRINCIPIOS GENERALES	22
CONCEPTO DE CROMATOGRAFIA	24
EQUIPO E INSTRUMENTACION	26
ESQUEMA DE UN CROMATOGRAMA	30

DETERMINACION EN		
ESPECTROFOTOMETRIA UV/ VIS	32
REACTIVOS Y APARATOS	33
CONDICIONES		
ESPECTROFOTOMETRICAS	33
PREPARACION DEL ESTANDAR Y		
CURVAS DE CALIBRACION	34
PREPARACION DE LOS BLANCOS		
REACTIVOS	39
CURVAS DE CALIBRACION	41
PROGRAMACION DE MUESTREO	50
IDENTIFICACION DE LAS MUESTRAS	50
PREPARACION DE LAS MUESTRAS	53
DIAGAMA DE FLUJO	54
DETERMINACION EN HPLC	58
PARTE EXPERIMENTAL	59
REACTIVOS Y APARATOS	59
PREPARACION DE LAS CURVAS DE		
CALIBRACION	60
PREPARACION DEL ESTANDAR	61
CURVAS DE CALIBRACION	65
PROGRAMACION DE MUESTREO	70
IDENTIFICACION DE LAS MUESTRAS	70

PREPARACION DE LAS MUESTRAS	71
DIAGRAMA DE FLUJO	72
RESULTADOS	75
CROMATOGRAFIA	76
CROMATOGRAMAS	81
ESPECTROFOTOMETRIA	98
DETERMINACION DEL ORDEN DE DESCOMPOSICION	103
GRAFICOS PARA LA ECUACION DE ARRHENIUS	149
TABLAS DE RESULTADOS	161
ESTUDIO ESTADISTICO	164
ANALISIS DE RESULTADOS	167
CONCLUSIONES	170
GLOSARIO	171
BIBLIOGRAFIA	173

« INTRODUCCION «

" INTRODUCCION "

Actualmente un importante número de pacientes hospitalarios reciben infusiones intravenosas. Al igual que en una terapia entera, una terapia intravenosa también requiere revisar que no se presenten incompatibilidades, ni reacciones secundarias. Además, se requiere evitar que se presenten contaminaciones de tipo microbiológico, cambios fisicoquímicos, contaminación por partículas, etc. Esta es la razón por la cual es necesario el estudio y avance de diferentes técnicas que proporcionen una información adecuada que permita saber si la terapia medicamentosa puede ser infundida o no al paciente, ya que de esto depende su salud.

La estabilidad de fármacos en preparaciones farmacéuticas es de gran interés para muchos profesionistas farmacéuticos. Los fabricantes farmacéuticos emplean químicos analistas, quienes elaboran estudios de estabilidad a gran escala en una gran variedad de formas farmacéuticas para establecer las fechas de expiración y satisfacer los requerimientos regulatorios. Comúnmente, los estudios de pequeña escala como los publicados en el American Journal of Hospital Pharmacy (AJHP) son llevados a cabo por farmacéuticos y científicos, quienes desean dirigirse a la estabilidad específica y a los problemas de compatibilidad que se presentan en la práctica diaria.

Es innegable que el desarrollo de la estabilidad de los medicamentos como una especialidad independiente dentro de las ciencias farmacéuticas ha aportado una sólida base científica a la tecnología y al control de la calidad de los mismos, pudiendo situarse como una línea fronteriza entre estas dos últimas especialidades, por tanto, su importancia ha aumentado al punto de que actualmente se considera como requisito

indispensable en la mayoría de los países productores de fármacos para su registro y venta y es tema obligado en las principales farmacopeas.

Con la aplicación de los conceptos de la cinética química a los procesos de descomposición de los fármacos por Garret y Carper en la década de los años 50, se enriquece el carácter multidisciplinario de esta actividad, para establecer lo que se conoce actualmente como análisis acelerado de la estabilidad, lo cual ofreció la posibilidad de conocer de una manera bastante precisa el tiempo de vida útil de una forma medicamentosa en un periodo de tiempo razonablemente corto, así como realizar ajustes tecnológicos de diferentes composiciones a fin de encontrar la combinación óptima mediante diferentes estudios.

El uso de la cinética como herramienta de trabajo es de gran valor en estos estudios, ya que permite en innumerables oportunidades ahorrar tiempo dinero y esfuerzo al investigador (32).

Muy frecuentemente los investigadores no examinan las formas farmacéuticas comerciales. Los perfiles de estabilidad de los productos farmacéuticos comerciales bajo diferentes condiciones están bien documentados, así como sus fechas de caducidad. Pero muchos productos inyectables marcados como soluciones o polvos liofilizados sólo tienen incluido en su presentación su fecha de expiración en ciertas condiciones y, cuando estas condiciones cambian o bien se diluyen en otras soluciones pueden cambiar en el comportamiento de su estabilidad (16).

Los medicamentos en solución son más lábiles que en su estado sólido ya que su estabilidad disminuye y por tanto su t_{90} se ve alterado.

Son la inestabilidad e incompatibilidad los puntos de mayor atención por el momento, por tal razón procedemos a definirlos:

La inestabilidad se presenta cuando una (MIV) se modifica debido a sus condiciones de almacenamiento (tiempo, luz, temperatura, sorción). Esto podría acarrear la formación de un producto inadecuado para su administración. Se considera inestabilidad cuando la mezcla pierde más del 10% de la potencia indicada en la etiqueta, desde el tiempo de preparación al tiempo de su completa administración (32).

La incompatibilidad se presenta cuando un fármaco para uso intravenoso se adiciona a otro o a una solución para infusión intravenosa y se produce por medio de rutas fisicoquímicas un producto inadecuado para su administración.

Por lo anterior los objetivos de la presente tesis persiguen determinar la estabilidad y la presencia de incompatibilidades en una mezcla intravenosa que consiste en un antibiótico: cefazolina, más un anticoagulante: heparina, en Solución salina fisiológica o Dextrosa al 5%.

Para lograr los objetivos el estudio se llevó a cabo mediante un ensayo de estabilidad acelerada que fue seguido por dos métodos analíticos: Espectrofotometría Ultravioleta / Visible y Cromatografía de Líquidos de alta resolución.

Los procedimientos y resultados correspondientes se analizan en el contenido del presente trabajo para concluir si se alcanzan o no los objetivos planteados.

El presente trabajo surgió, como una inquietud del equipo médico para obtener una nueva alternativa profiláctica en la atención de diferentes infecciones intrahospitalarias.

« OBJETIVOS «

- 1.-Determinar tiempos de estabilidad de la mezcla intravenosa de Cefazolina más heparina en dos soluciones intravenosas diferentes S.S.F. y Dw 5% utilizando estudios de estabilidad acelerada mediante algunos métodos analíticos: Espectrofotometría Ultravioleta / Visible y Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución.
- 2.-Determinar la compatibilidad de la mezcla intravenosa entre los fármacos antes mencionados en dos diferentes soluciones (SSF y Dw 5%).

« OBJETIVOS ESPECIFICOS «

- 1.- Determinar el t_{90} para la Cefazolina en presencia de heparina y diluida en S.S.F.
- 2.- Determinar el t_{90} para la Cefazolina en presencia de heparina y diluida en Dw 5%

« GENERALIDADES «

El auge terapéutico de la penicilina promovió la pesquisa mundial de hongos productores de sustancias dotadas de propiedades farmacológicas similares (4).

La historia de las cefalosporinas se inicia en 1945, cuando G. Brotzu aísla del desagüe de la ciudad de Cagliari en Cerdeña, un hongo *Cephalosporium acremonium* productor del antibiótico contra bacterias grampositivas y gramnegativas; posteriormente a la publicación en una revista poco conocida, la cepa llegó al laboratorio de Florey en Oxford y de su estudio y análisis ulteriores resultaron varios antibióticos: la Cefalosporina N, synnematina B o penicilina N, activa contra bacterias grampositivas y algunas gramnegativas, la cefalosporina P o ácido fusídico y la cefalosporina C.

El estudio intensivo de la Cefalosporina C reveló que se trataba de un compuesto heterocíclico formado por fusión de un anillo de dihidrotiazina con uno β -lactámico y dos cadenas laterales, una en C₃ como radical acetilo y la otra en C₇ como grupo ácido aminodípico. La estructura básica resultó muy semejante a la penicilina, solo que en lugar de 5 elementos contenía 6 y fué un ácido 7- aminocefalosporánico en lugar del 6- aminopenicilánico, ambos β -lactámicos razón por la cual se le ha agrupado genéricamente bajo el rubro de β -lactamas.

Al igual que las penicilinas, la manipulación por semisíntesis, ha producido numerosos compuestos actualmente en uso y a diferencia de las penicilinas, ninguna de las cefalosporinas naturales ha tenido tanta difusión y utilidad como las penicilinas naturales.

La posibilidad de variar los grupos agregados en C₃ y C₇ permite mayor versatilidad en la manipulación química en términos generales; las modificaciones en C₇ resultan en cambios del espectro antimicrobiano, en tanto que las alteraciones C₃ conducen a diferencias en la estabilidad y farmacocinética.

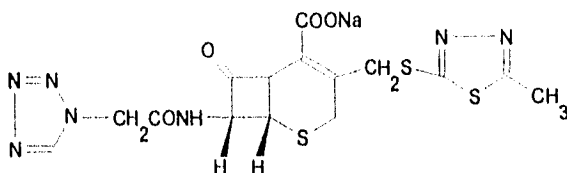
En realidad no todos los autores coinciden en que la cefazolina es de primera, segunda o tercera generación, lo que si sabemos es que la cefazolina contiene en su estructura radicales heterocíclicos en C₃ y C₇ y que es un compuesto para aplicación IM y en ocasiones IV.

Su ventaja fundamental es que no es tan nefrotóxico como la cefaloridina y que es la menos alergénica de las cefalosporinas (0.6% en 1'369 casos); en el manejo terapéutico de endocarditis subaguda se han llegado a inyectar hasta 12g diario durante varias semanas sin signos de hema, hepato o nefrotoxicidad (21).

Actividad Antibacteriana: La cefazolina sódica tiene un amplio espectro de acción contra microorganismos grampositivos y gramnegativos. En particular su acción es potente contra grampositivos tales como Estafilococo Estreptococo y Neumococo y gramnegativos tales como E coli, Klebsiella pneumoniae y Proteus mirabilis. Su acción es bactericida.

Mecanismo de acción: La acción bactericida de cefazolina es debida a la inhibición de la síntesis de la pared celular. Ésta exhibe fuerte afinidad por los enlaces de proteínas penicilínicas.

« PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS «



Cefazolina Sódica

Fórmula Molecular : $C_{14}H_{13}N_8NaO_4S_3$

Peso Molecular : 476.50

Nombre Químico : Sodio 7-[1-(1H)-tetrazolilacetamido]-3-[2-5-metil-1,3,4-thiadiazolil]-3-cefem-4-carboxilato.

(19)

$pK_{a1} = 2.54$

$pK_{a3} = 1.0$ Determinado Cinéticamente

pH de máxima estabilidad = 5.6

Punto de fusión = $174^{\circ}C$

Rotación óptica específica = -16°

Absorbancia = 244nm

Valor de Rf = 0.7

(6)

La cefazolina sódica puede ser un polvo cristalino o cristales de blanco a blanco amarillentos, es inodoro. Este suele ser ligeramente amargo y salado al probarse. Es fácilmente soluble en agua, ligeramente soluble en metanol y prácticamente insoluble en metanol acetona y cloroformo (19).

« PRODUCCION DE CEFALOSPORINAS »

La producción de cefalosporinas es en muchas formas similar a la producción de penicilina. El alto rendimiento de cepas ha sido desarrollado y los medios y diseño de fermentación han sido optimizados para su producción. Esto tiene varias características sin embargo estas hacen que la producción de cefalosporinas sea muy complicada ya que se producen microorganismos que no tienen una aciltransferasa para intercambiar el ω -aminodipil de la cadena lateral a una cadena lateral no polar como en la fermentación de penicilina. Durante la acilación no ha sido encontrado como remover el ω -aminodipil de la cadena lateral eficientemente usando métodos químicos.

Morin (et al) proponen un proceso para tratamiento de Cefalosporina C con cloruro de nitrosil en ácido fórmico dando un ion diazonio y luego una iminolactona la cual sufre hidrólisis fácilmente.

Más tarde se desarrolla un proceso en el cual la cadena lateral amida fue convertida a un iminocloruro y luego a un iminoéter. Estos descubrimientos han permitido la producción de numerosas cefalosporinas semisintéticas.

- El grupo acetoxi de cefalosporinas C (R_3) puede también ser reemplazado por varias piridinas (Cefaloridina) o enlaces sulfuro en compuestos heterocíclicos (Cefazolina, Cefamandol).

El ácido 7-aminocefalosporínico (7-ACA) es obtenido químicamente con una alta eficiencia usando PCl_5 , nitrosil, cloruro etc. para remover el ácido D-a-aminodipírico de la cadena lateral de la cefalosporina C. Lo cual también se puede lograr por medio de *Pseudomona putida* (13).

Otros métodos consisten en 2 pasos enzimáticos. El grupo amino del ácido aminodípico de la cadena lateral de la Cefalosporina es removida primero por ácido D-amino oxidasa de *Trigonopsis variabilis*, *Gliocladium deliquescens* o de hígado de puerco a glutari-7-ACA-. La red es en tumo diacetilada por selectas *Pseudomonas*, *Conamonas* y otras bacterias a 7-ACA (14).

La biocatálisis inmovilizada es muy utilizada para realizar transformaciones químicas en las industrias química y farmacéutica.

Las cefalosporinas pueden ser sintetizadas a partir de penicilinas o producidas por fermentación con *Cephalosporium acremonium*. El producto de fermentación es la cefalosporina C, la cual contiene el núcleo 7-ácido aminocefalosporínico (7-ACA) y la cadena lateral a-ácido aminodípico.

A su vez las cefalosporinas pueden ser producidas químicamente a partir de penicilinas por expansión del anillo 5-tiazolidina de las penicilinas al anillo 6-dihidrotiazina de cefalosporina, conteniendo el núcleo 7-aminodesacetoxi ácido cefalosporínico (7-ADCA).

Las amidasas de cefalosporinas de varios microorganismos son inmovilizados por varios métodos y los sistemas de inmovilización por enzimas son usados para la producción de varios derivados de cefalosporinas.

Muchos estudios de declinación enzimática de cefalosporinas han sido llevados a cabo con compuestos que contienen núcleo 7-ADCA. Los substratos para la reacción fueron usualmente 7-fenilacetamidodesacetoxi-ácido cefalosporínico (fenilacetil-7-ADCA) y 7-fenoxiacetamidodesacetoxi-ácido cefalosporínico (fenoxiacetil-7-ADCA) fácilmente obtenidos por reacción de expansión del anillo de Penicilina G y Penicilina V (15).

El grupo acetato original puede ser removido de C_3 . Es de gran importancia que su hidrólisis sea llevada a cabo específicamente y con gran eficiencia por esterases de varios microorganismos plantas y tejidos de mamífero por esta metodología química.

De este modo cefalosporina acetil esterasa purificada de *Bacillus subtilis* fué inmovilizada y reusada 20 veces a cefalosporina diacetilada a diacetilcefalosporina (y acetato) en grandes cantidades (14).

« METODOS DE DETECCION DE LA CEFAZOLINA »

* HPLC: Se utiliza principalmente para determinar el efecto de los surfactantes en la estabilidad y solubilidad de la cefazolina. También puede ser estudiada la farmacocinética de la cefazolina, la cual determinará las características de la columna, fase móvil, velocidad de flujo, etc.

* Adición de NH_4Cl modificado: Se utiliza 4-cianopiridina y NH_4Cl para obtener iones y algunos fragmentos de iones de cefazolina en el análisis espectrométrico de masas.

* Método de Hidroxilamina- Fe_3^+ para un análisis espectrofotométrico basado en la formación de ácido hidroxamínico.

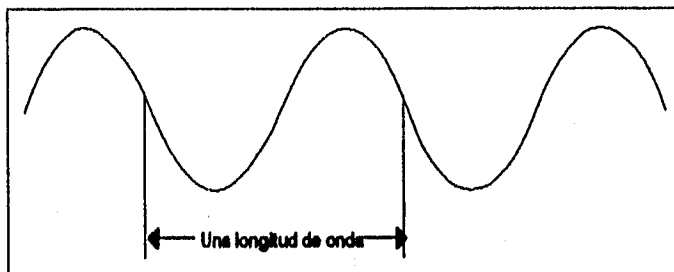
* Método con H_2SO_4 : El antibiótico es calentado con H_2SO_4 diluido y se libera 2-mercapto-5-metiltiadiazol que se identifica a 302 nm por espectrofotometría (1).

ESPECTROFOTOMETRÍA UV/VIS.

ESPECTROFOTOMETRÍA ULTRAVIOLETA

Todos los átomos y moléculas son capaces de absorber energía, de acuerdo con ciertas limitaciones las cuales dependen de la estructura de la sustancia. La energía se puede proporcionar en forma de radiación electromagnética (luz). El tipo y cantidad de radiación absorbida por una molécula guarda relación con su estructura; la cantidad de radiación absorbida está sujeta asimismo al número de moléculas que interactúan con la radiación.

La radiación electromagnética, de la cual la luz visible constituye parte, es una energía propagada en forma de onda. La longitud de onda es la distancia lineal desde cualquier punto de la onda hasta el punto correspondiente de la onda adyacente.



Esquema de longitud de onda

Longitud de onda es la distancia, en la dirección de propagación, entre puntos correspondientes de ondas adyacentes.

Toda la radiación electromagnética es, de modo fundamental, similar, con independencia de su longitud de onda, pero se han asignado distintos nombres a la

radiación de diferentes márgenes de frecuencia.

Los intervalos que tienen interés en espectroscopía se definen de la siguiente manera:

REGIONES	INTERVALOS DE LONGITUD DE ONDA
Ultravioleta lejano	100 - 200 nm.
Ultravioleta	200 - 400 nm.
Visible	400 - 750 nm.
Infrarrojo cercano	0.75 - 4 mcm.
Infrarrojo	4 - 25 mcm.

Una gráfica de la extensión de la absorción de luz en función de la frecuencia (o longitud de onda) de la luz es un espectro de absorción. Las transacciones permitidas son diferentes para moléculas con distinta estructura, por lo que sus espectros de absorción serían diferentes. Por consiguiente, se utilizan los espectros para identificar compuestos. La cantidad de luz absorbida (a una frecuencia dada) está relacionada con el número de moléculas que absorben la radiación, por lo que los espectros de absorción también se emplean como un medio de análisis cuantitativo.

La luz ultravioleta proporciona suficiente energía para las transiciones electrónicas. Un espectro ultravioleta se conoce, pues, como espectro electrónico. El más bajo estado de energía de una molécula es el estado fundamental. Las transiciones electrónicas elevan la energía molecular desde la correspondiente al estado fundamental hasta uno de los varios estados electrónicos "excitados". Cada transición electrónica va asociada con

muchas transiciones de vibración, por lo que el espectro electrónico está formado por bandas de absorción relativamente anchas, o envolturas, que enmascaran la fina estructura de las transiciones individuales.

Una molécula que ha alcanzado un nivel de energía superior por haber absorbido radiación vuelve rápidamente al estado fundamental. En este proceso se ha de perder energía. El camino usual es mediante colisiones que transforman la energía interna en energía térmica, la cual se disipa. La molécula excitada puede experimentar fragmentación (disociación en orbitales no cargados) o ionización (pérdida de un electrón), o participar en una reacción química (en este caso sería una reacción fotoquímica).

Aplicaciones cuantitativas de los espectros de absorción.

LEY DE BEER.

El análisis espectroscópico cuantitativo se basa en la relación entre la cantidad de luz absorbida y la cantidad de sustancia absorbente. Esta relación, susceptible de demostrarse teóricamente, se observa de manera experimental en la mayoría de las situaciones analíticas prácticas. Considérese una solución diluida de una sustancia capaz de absorber luz de longitud de onda seleccionada para el experimento, sin que el disolvente absorba luz (transparente) de esta longitud de onda. Se observa que si se hace pasar luz monocromática a través de una capa de solución de espesor db el descenso en intensidad de la luz, dI , como consecuencia de su paso a través de la solución, es directamente proporcional a la intensidad I de la radiación a la concentración

c de las especies absorbentes y al espesor, db , de la capa de solución:

$$-dI = K I c db$$

Se reordena e integra esta ecuación entre los límites I_0 (la intensidad de la luz incidente) e I , la intensidad de la luz después de pasar a través del espesor b de la solución,

$$-\int_{I_0}^I \frac{dI}{I} = K \int_0^b C db$$

$$-\ln \frac{I}{I_0} = Kbc$$

$$I = I_0 e^{-Kbc}$$

Pasando a logaritmos decimales:

$$I = I_0 10^{-abc} \dots\dots\dots (1)$$

donde $a = K / 2.303$

Las siguientes son formas equivalentes de la ecuación (1)

$$\log \frac{I_0}{I} = abc \dots\dots\dots (2)$$

$$A = abc \dots\dots\dots (3)$$

Las ecuaciones 1-3 son representaciones de la ley de Beer, que es la relación a que se hacía referencia anteriormente. Las cantidades espectroscópicas que se miden son la transmitancia, T , donde $T = I/I_0$, y la absorbancia, A , donde $A = \log(I/I_0)$.

La ley de Beer se expresa más frecuentemente por la ecuación 3, que establece que la absorbancia, A , de una solución es directamente proporcional a la concentración, c , del soluto absorbente (A menudo se asocian los nombres de Bouguer y Lambert con la dependencia de la absorbancia sobre el paso de luz, b , a través de la solución, y entonces a la ecuación 3 se le llama la ecuación de Beer-Lambert).

La absorptividad α es una constante de proporcionalidad que es independiente de la concentración, paso de la luz e intensidad de la radiación incidente. La absorptividad depende de la temperatura, disolvente, estructura molecular y longitud de onda de la radiación. Las unidades de α se determinan a partir de las de b y c . Cuando b está en centímetros y c en gramos por litro la absorptividad se expresa en litros por gramo-centímetro.

Si c es una concentración molar la absorptividad recibe el nombre de absorptividad molar, se representa por ϵ , y sus unidades son litros por mol-centímetro. Cuando c se expresa en porcentaje peso/volumen (g/100 ml.), la absorptividad se escribe $A_{1\%}^{1\text{cm}}$. También se interpreta la absorptividad como la absorbancia (de una sustancia dada a una longitud de onda determinada) de una solución de concentración unidad.

Se determina un espectro de absorción midiendo la absorbancia o transmitancia de una solución como función de la longitud de onda o frecuencia de la luz. Un espectro ultravioleta se presentan como trazados de la absorbancia (eje de ordenadas) respecto a la longitud de onda (λ).

CROMATOGRFÍA

CROMATOGRAFÍA

ANTECEDENTES HISTÓRICOS

La cromatografía como su nombre lo indica fue empleada originalmente con sustancias coloreadas (Literalmente la palabra significa «escritura en color»).

La cromatografía de líquidos data cerca de 75 años de desarrollo como técnica de separación y con el advenimiento de la instrumentación moderna la Cromatografía de Líquidos (CL) brinda cuantificación y reproducibilidad de manera rápida y simple (12).

En 1850, Runge describió la formación de zonas coloreadas cuando se goteaban sustancias colorantes sobre papel secante, pero el desarrollo más importante vino en 1903 con los experimentos del ruso botánico Michael Tswett, quien utilizó cromatografía de columna para separar los pigmentos de ciertas plantas como carotina que da el color amarillo-anaranjado de la zanahoria. También de xantofila que da el color amarillo de ciertas células vegetales.

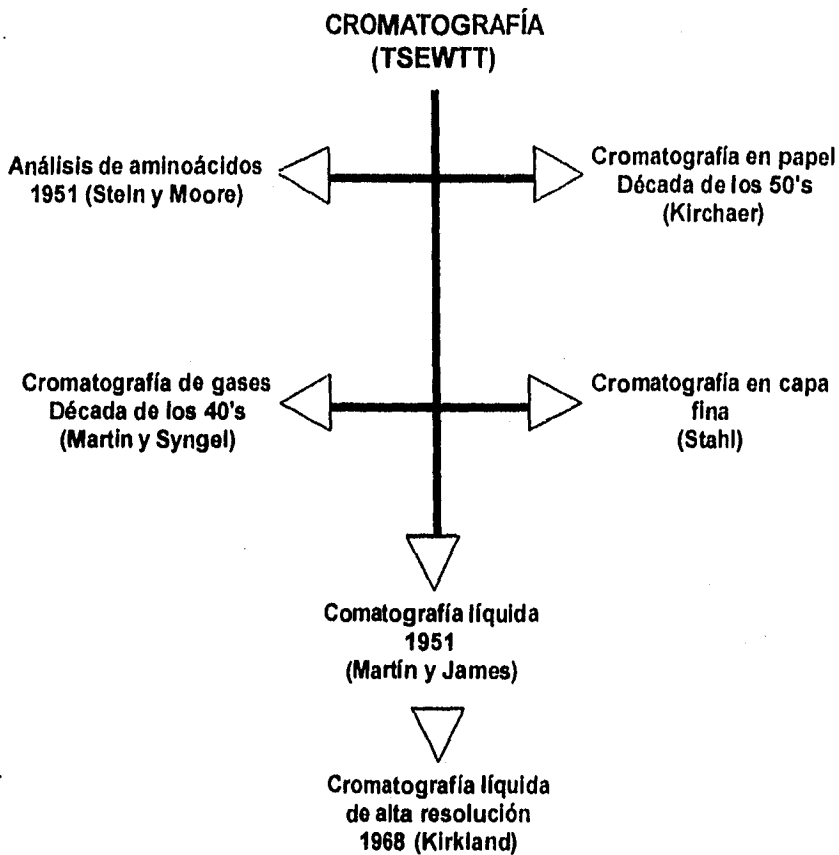
Estos pigmentos fueron extraídos con petróleo usando una fase estacionaria de carbonato de calcio.

No fue hasta el año de 1941 cuando Martin y Synge se encontraban experimentando con cromatografía de partición y descubrieron una técnica mediante la cual se pudieran separar compuestos acuosos o hidrofílicos.

Esto marcó un nuevo interés en la técnica y en 1944 Consden, Gordon y Martin lograron separar mezclas complejas de aminoácidos en papel siendo otorgado el premio Nobel por sus trabajos. Al poco tiempo, en 1947 en EUA, la Comisión de Energía Atómica dio a conocer información sobre el uso de la cromatografía de intercambio iónico para la separación de productos de fisión nuclear (12, 24 y 28).

En el año 1959, Porath y Flodin introdujeron una nueva técnica llamada cromatografía de filtración de gel. En 1967, el Comatógrafo de líquidos LSC-1000 se introdujo en el mercado.

Durante la explosión tecnológica acontecida en las últimas décadas de este siglo, el hombre ha tenido necesidad de ir incorporando nuevos desarrollos a los sistemas que conforman la gran variedad de instrumental de análisis, que son utilizados en varios campos de aplicación (12, 24 y 28).



PRINCIPIOS GENERALES.

Una mezcla de sustancias que van a ser separadas se aplican en solución a un medio de sostén. Éste puede ser papel, una capa de sílice o una columna rellena con resina adsorbente o de intercambio iónico. Se deja correr por el medio de sostén un solvente revelador y dicho solvente lava junto con él la mezcla de las sustancias aplicadas previamente. En el proceso las diferentes moléculas de la mezcla son arrastradas por el lavado a distintas velocidades, resultando la separación (16, 28 y 29).

El grado de separación depende de cuatro fuerzas que operan independientemente una de la otra. Estas son:

- 1.- La velocidad de flujo del solvente.
- 2.- La solubilidad de las sustancias en el solvente.
- 3.- Los efectos de fraccionamiento.
- 4.- Los efectos de adsorción.

Los dos primeros factores son responsables de la movilización de la mezcla de sustancias a través del medio de sostén, y los dos últimos factores son responsables del retardo del movimiento de la mezcla a través del medio de sostén.

El flujo del solvente es el mismo para todas las sustancias presentes en la mezcla. Si todas fueran completamente solubles, no habría separación. No obstante; por fortuna es muy raro que las sustancias tengan la misma solubilidad en cualquier solvente. Consecuentemente si la sustancia es muy soluble, tenderá a movilizarse a través del medio de sostén y aparecerá en el frente del solvente en movimiento. Por otra parte si

es relativamente insoluble, tenderá a permanecer en su punto de origen.

Por lo tanto quienes determinan la separación cromatográfica son la combinación de la solubilidad y del flujo del solvente.

Como se mencionó antes, la mayoría de las sustancias tendrán distinta solubilidad en diferentes solventes. Si una sustancia se pone en contacto con dos solventes que no se mezclan entre sí, se distribuirá entre los dos solventes en relación a su solubilidad. Se llama efecto de fragmentación a la distribución de un soluto entre dos o más solventes que no se mezclan.

La adsorción se lleva a cabo cuando hay una concentración más alta en la superficie de un sólido que en la solución circundante. Es totalmente un fenómeno de superficie y no debe confundirse con la absorción que es la entrada de una sustancia en el cuerpo de la otra. La adsorción se refiere al enlace de una sustancia a la superficie de otra (12 y 24).

Todos los métodos cromatográficos van dirigidos fundamentalmente a la separación de dos o más sustancias. Esto resulta evidente en la cromatografía preparativa, pero también se aplica a la cromatografía analítica. La pureza de lo que se cree un solo compuesto puro se demuestra únicamente si se comprueba la ausencia de las posibles impurezas. Para ello, los patrones de impurezas de referencia deben desplazarse hacia posiciones distintas de la de la muestra pura.

Las separaciones cromatográficas se consiguen mediante la distribución de los componentes de una mezcla entre una fase fija y otra que se desplaza, llamadas respectivamente fase estacionaria y fase móvil. La separación entre dos sustancias empieza cuando una es retenida más fuertemente por la fase estacionaria que la otra, que tiende a desplazarse más rápidamente en la fase móvil (11).

CONCEPTO DE CROMATOGRAFIA.

Cromatografía es un término general aplicado a una amplia gama de técnicas de separación que esencialmente se basa en la distribución de los componentes a separar entre dos fases; una de ellas es una fase móvil, la cual puede ser un gas o un líquido, y la otra es una fase estacionaria, la cual a su vez puede ser un líquido o un sólido (28 y 29).

También se puede definir como la técnica de separación de una mezcla de solutos basándose esta separación en la diferente velocidad con que se mueve cada uno de los solutos a través de un medio poroso, arrastrados por un disolvente en movimiento (2).

En la cromatografía de líquidos la fase móvil es un líquido que fluye a través de un lecho de partículas sólidas, o bien, la fase estacionaria está empacada en una columna (29 y 31).

El proceso cromatográfico tiene lugar como resultado de repetidas adsorciones o repartos durante el movimiento de los componentes de la muestra.

En otras palabras, una vez seleccionada la fase móvil y la fase estacionaria que se va usar, se introduce la muestra en el sistema cromatográfico. El comportamiento y características de la mezcla dictarán si se mueve o no.

Esta diferencia en movimiento que ofrece la mezcla es la migración o en realidad la base para toda separación cromatográfica (28 y 29).

CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS DE ALTA RESOLUCIÓN (HPLC).

La cromatografía líquida de alta resolución es una de las ramas más nuevas de la química analítica cuyo crecimiento ha sido muy rápido y su potencial es enorme. Con el paso de los años se han presentado modificaciones o cambios en los componentes que integran un sistema de HPLC.

Por otro lado, el mayor potencial de la cromatografía líquida en comparación con la cromatografía de gases se debe a dos factores primordialmente: 1.- Las moléculas pueden disolverse, a diferencia de las que pueden ser volatilizadas y aún retener su estructura molecular original. 2.- La cromatografía líquida es una técnica más suave que la cromatografía de gases y menos factible de dañar las moléculas delicadas.

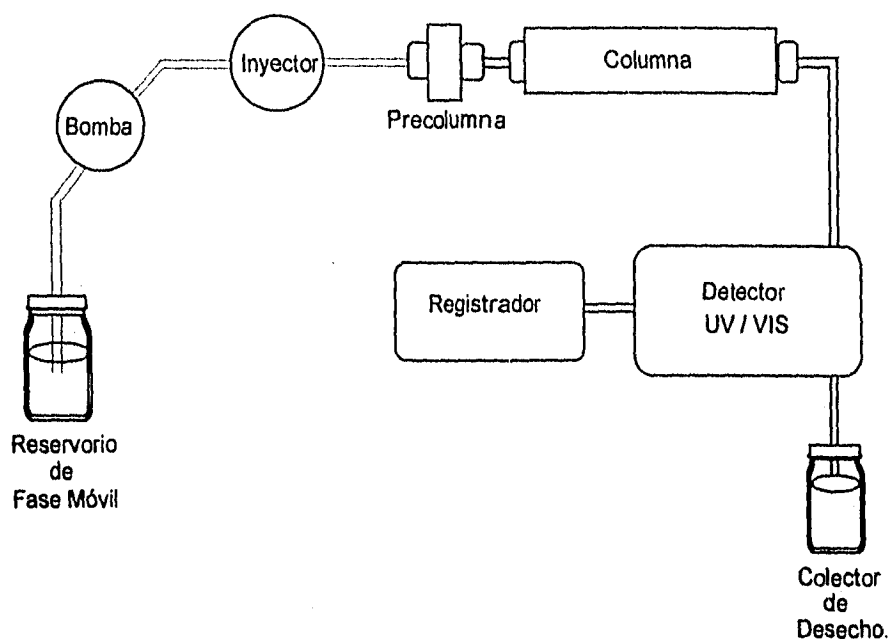
Los componentes físicos de un sistema de HPLC están disponibles en diferentes presentaciones y configuraciones (29 y 31).

La cromatografía líquida de alta resolución ha permitido realizar estudios más detallados y profundos de sistemas cinéticos complejos, así como la obtención de productos de degradación para proceder a su identificación y elucidación estructural por alto poder de separación y sensibilidad.

Es posible con estos métodos medir rápidamente cantidades mínimas de productos de degradación, lo que permite conocer las constantes de cada vía cinética, en particular, obteniéndose información más detallada (31).

EQUIPO E INSTRUMENTACION

Los principales componentes de un sistema HPLC se ilustran en la siguiente figura, estos componentes son: la columna, el detector, el inyector, el sistema de bombeo, fase móvil y registrador.



Esquema del Equipo Utilizado.

a) Columna: La columna es el corazón de un cromatógrafo de líquidos. En ella se lleva a cabo el proceso fundamental de la cromatografía, es decir la separación de cada uno de los componentes de una muestra por la acción de la fase móvil.

La función de la columna es contener la fase estacionaria en tanto que la fase móvil fluye a través de la columna (22 y 34).

b) Detectores: La función de un detector HPLC es la de monitorear la composición del líquido que eluye de una columna de cromatografía y por lo tanto hacer posible hacer un registro de como la composición varía con el tiempo (30).

Los detectores pueden ser clasificados en forma general en dos tipos: los detectores de propiedades generales, los cuales funcionan midiendo alguna propiedad física general del eluente de la columna, por ejemplo la constante dieléctrica o el índice de refracción. Estos detectores responden a una amplia gama de sustancias casi con la misma sensibilidad, por lo que son conocidos como detectores universales o no específicos.

El segundo tipo de detectores son aquellos que son selectivos en su respuesta. Estos son detectores de propiedades del soluto y funcionan midiendo una propiedad física o química del mismo soluto, como la absorción ultravioleta.

La siguiente es una lista de algunos de los detectores más utilizados en cromatografía líquida:

- 1.- Detector espectrofotométrico (UV / VIS.).
- 2.- Detector de índice de refracción.
- 3.- Detector de fluorescencia.
- 4.- Detector electroquímico.
- 5.- Detector infrarrojo.
- 6.- Detector de conductividad.
- 7.- Detector de radioactividad.
- 8.- Detector de espectrometría de masas. (35).

La variedad de los detectores empleados no solamente permite abarcar la mayoría de los componentes orgánicos que comúnmente se emplean en la práctica farmacéutica, sino que, con esta diversidad, se amplía aún más la selectividad del método, ya que, además del poder de separación obtenido con la columna cromatográfica, es posible eliminar satisfactoriamente las interferencias restantes mediante el empleo de detectores adecuados o con el uso de longitudes de onda apropiadas como en el caso de la detección ultravioleta o visible (32).

Por tal razón este tipo de detector es de los más usados en HPLC por responder a aquellas sustancias que absorben luz visible o ultravioleta.

A la salida de la columna el haz de luz es enfocado a través de la celda de flujo hacia el sistema de detección. Cuando los solutos que absorben luz se encuentran en la fase móvil, la intensidad de la luz que llega a la fotocelda se reduce produciendo un cambio en la señal eléctrica, la cual puede ser amplificada e introducida a un registro o sistema de datos (35).

c) Inyector: Toda separación depende en que la muestra llegue a la columna. Esto requiere de un inyector que es colocado entre la bomba de alta presión y la columna.

El inyector rápidamente introduce la muestra al sistema sin afectar el flujo de fase móvil. Los inyectores HPLC utilizan "loop" variable, "loop" fijo e inyectores tipo jeringa (este último el que se utilizó en el presente trabajo), activados todos ellos de forma manual, neumática o eléctrica (10).

d) Sistema de bombeo: Los sistemas de bombeo pueden ser muy variados, pero cualquiera que sea su tipo todos tienen por función tomar la fase móvil de los reservorios por medio de unas conexiones que en el extremo llevan unos filtros, para evitar que pasen

partículas de tamaños mayores que pueden obstruir alguna parte del sistema; y transportarla al inyector donde se encontrará con la muestra y serán transportadas a la columna, al detector y finalmente al colector de desechos.

El objetivo principal de cualquier bomba destinada a usarse en HPLC consiste en entregar a la columna un flujo de fase móvil constante, confiable y precisa a varias presiones (3, 17 y 27).

e) Fase móvil: La función de la fase móvil es la de fluir por el sistema permitiendo la elución de la muestra. La constituyen los solventes que ayudan a la separación en base a la afinidad que presente nuestra muestra por la fase móvil o por la fase estacionaria.

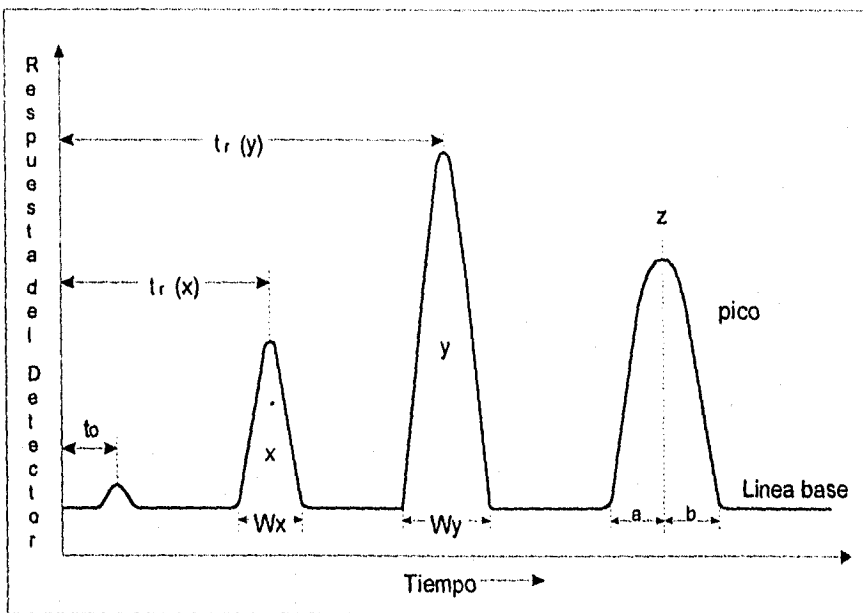
La fase móvil presenta uno de los mayores puntos de interés en el análisis cromatográfico. Para cada tipo de problema y para cada tipo de cromatografía, es necesario seleccionar cuidadosamente el solvente que ha de usarse entre una amplia gama de solventes (24).

Los solventes deben ser libres de impurezas que absorban en el UV, ya que estas impurezas pueden producir, líneas base muy inestables, un alto grado de absorbancia y lo que es todavía peor, pueden producir picos falsos en el cromatograma. Por esta razón es importante correr un blanco, para asegurarnos que los picos en el cromatograma no son debido a los solventes (28 y 29).

e) Registrador: Toda separación de los componentes de la muestra inyectada en el cromatógrafo es registrado. Por lo tanto el registrador como parte del HPLC se encarga de traducir la respuesta (separación de la muestra inyectada) del detector imprimiéndola en forma de cromatograma.

f) Cromatograma es la representación gráfica del trazo de la separación cromatográfica (en el eje de las X) contra el tiempo de retención de la muestra (en el eje de las Y) formando picos (29). El número de picos formados corresponderá al número de sustancias presentes en la muestra inyectada en el HPLC; es decir, aquellos picos corresponden a la muestra del fármaco estándar en solución a sus productos de degradación y a sus excipientes (16).

Ejemplo de un Cromatograma :



Este cromatograma muestra la separación hipotética de los compuestos X, Y y Z.

Los tiempos de retención (t_r) y la anchura de los picos (w). El pico Z es usado para medir la asimetría.

Cada compuesto tendrá un tiempo de retención (t_r) característico, el cual representará el tiempo desde la inyección de la muestra en el sistema cromatográfico hasta la detección de cada uno de sus componentes.

La escala de tiempo (eje de las X) es expandido intencionalmente para los propósitos de ilustración. La altura de los picos está incrementada en comparación a t_0 = tiempo requerido para que un compuesto no retenido por la columna pase a través de esta y sea detectado. Las unidades para expresar la respuesta del detector dependerá del tipo de detector utilizado.

El pico pequeño representado como t_0 representa el tiempo requerido para que eluya el disolvente utilizado para la muestra, es decir la fase móvil (16).

**DETERMINACIÓN EN
ESPECTROFOTOMETRÍA UV / VISIBLE**

DETERMINACIÓN EN ESPECTROFOTOMETRÍA UV / VISIBLE

REACTIVOS Y APARATOS

Reactivos:

Solución Buffer para amortiguar pH de máxima estabilidad
Buffer de Acido acético / acetatos 0.2M pH = 5.6 (18).

Aparatos:

Espectrofotómetro Beckman DU-65 Spectrophotometer

pHmetro Modelo: # 7 Corning.

CONDICIONES ESPECTROFOTOMETRICAS

Para establecer la longitud de onda (λ) apropiada para leer los sistemas a estudiar, fué necesario realizar varios barridos con los diferentes tipos de soluciones:

- 1) Cefazolina en Sol. Estéril
- 2) Cefazolina en S.S.F.
- 3) Cefazolina en Dw. 5%
- 4) Cefazolina + Heparina en S.S.F.
- 5) Cefazolina + Heparina en Dw. 5%
- 6) Cefazolina + Buffer en S.S.F.
- 7) Cefazolina + Buffer en Dw. 5%
- 8) Cefazolina + Heparina + Buffer en S.S.F.
- 9) Cefazolina + Heparina + Buffer en Dw. 5%

Después de realizados los barridos, se determinó que la longitud de onda máxima para cada sistema fué $\lambda = 271 \text{ nm}$. por tal razón todos los sistemas, tanto de las curvas de calibración como las muestras problema fueron leídas a dicha longitud de onda en el intervalo UV / Visible.

PREPARACIÓN DEL ESTÁNDAR Y CURVAS DE CALIBRACIÓN

Preparación del estándar:

Se pesan aproximadamente 20 mg. de Cefazolina estándar y se aforan con solución estéril a 10 ml. (Sol A).

De esta solución se toman diferentes volúmenes y se aforan a 10 ml. con diferentes soluciones según sea el caso, para la preparación de los sistemas que conforman las curvas de calibración. El procedimiento se detalla en el siguiente cuadro.

Volumen de (Sol A) Cefazolina estándar 2.0 mg. / ml.	Volumen de aforo necesario para completar los 10 ml. (*)	Concentración final de Cefazolina estándar en cada sistema. (mg. / ml.)
0.02 ml.	9.98 ml.	0.004
0.04 ml.	9.96 ml.	0.008
0.06 ml.	9.94 ml.	0.012
0.08 ml.	9.92 ml.	0.016
0.10 ml.	9.90 ml.	0.020
0.12 ml.	9.88 ml.	0.024
0.14 ml.	9.86 ml.	0.028
0.16 ml.	9.84 ml.	0.032

(*) Las soluciones para el aforo son Solución Estéril, Solución Salina Fisiológica y Dextrosa al 5% conformando así las tres primeras curvas de calibración. Curvas # 1, 2 y 3.

Para los sistemas que incluían Heparina se preparó una solución madre de Heparina tomando del frasco ampua 0.1 ml. equivalentes a 500 U.I. que se llevaron a 100 ml. con solución estéril, quedando 5 U.I. / ml. de aquí se tomaron 4 ml. y se llevaron a 100 ml para obtener 0.2 U.I. / ml. (Sol B).

De esta solución se tomaron diferentes volúmenes para cada sistema de la curva según correspondía, el cuadro siguiente muestra los volúmenes y concentraciones en cada caso.

Volumen de (Sol A) Cefazolina estándar	Volumen de (Sol B) Heparina	Volumen necesario para aforar a 10 ml. (**)	Concentración final de cefazolina y Heparina en mg. / ml y U.I. / ml. respectivamente
0.02 ml.	0.02 ml.	9.78 ml.	0.004
0.04 ml.	0.04 ml.	9.56 ml.	0.008
0.06 ml.	0.06 ml.	9.34 ml.	0.012
0.08 ml.	0.08 ml.	9.12 ml.	0.016
0.10 ml.	0.10 ml.	8.90 ml.	0.020
0.12 ml.	0.12 ml.	8.68 ml.	0.024
0.14 ml.	0.14 ml.	8.46 ml.	0.028
0.16 ml.	0.16 ml.	8.24 ml.	0.032

(**) Las soluciones para el aforo son Solución Salina Fisiológica y Dextrosa al 5% conformando así dos curvas más de calibración Curvas # 4 y 5.

Para los sistemas que requieran de solución amortiguadora, se hicieron primero algunas pruebas para averiguar el volumen necesario del buffer en cada caso y se determinó que para los sistemas que se aforaron con S.S.F. el volumen de sol Buffer sería de 6.4 ml. y para los sistemas aforados con Dw. 5% se adicionaría un volumen de 5 ml. de sol Buffer. Dicha solución Buffer se preparó de la siguiente manera:

Para 100 ml. de sol amortiguadora se pesaron 2.6373 g. de acetato de sodio R.A., los cuales se disolvieron en un poco de agua; posteriormente, se midieron 0.12 ml. de Acido acético glacial y se adicionaron a la solución. Se ajustó el pH a 5.6 y por último se aforó a 100 ml. con agua destilada (Sol. C).

Volumen de (Sol A) Cefazolina estándar	Volumen de (Sol C) Buffer Acético / Acetatos	Volumen necesario de S.S.F. para aforar a 10 ml.	Concentración final de cefazolina en mg. / ml
0.02 ml.	6.4 ml.	3.58 ml.	0.004
0.04 ml.	6.4 ml.	3.56 ml.	0.008
0.06 ml.	6.4 ml.	3.54 ml.	0.012
0.08 ml.	6.4 ml.	3.52 ml.	0.016
0.10 ml.	6.4 ml.	3.50 ml.	0.020
0.12 ml.	6.4 ml.	3.48 ml.	0.024
0.14 ml.	6.4 ml.	3.46 ml.	0.028
0.16 ml.	6.4 ml.	3.44 ml.	0.032

Curva # 6

Volumen de (Sol A) Cefazolina estándar	Volumen de (Sol C) Buffer Acético / Acetatos	Volumen necesario de Dw. 5% para aforar a 10 ml.	Concentración final de cefazolina en mg. / ml
0.02 ml.	5.0 ml.	4.98 ml.	0.004
0.04 ml.	5.0 ml.	4.96 ml.	0.008
0.06 ml.	5.0 ml.	4.94 ml.	0.012
0.08 ml.	5.0 ml.	4.92 ml.	0.016
0.10 ml.	5.0 ml.	4.90 ml.	0.020
0.12 ml.	5.0 ml.	4.88 ml.	0.024
0.14 ml.	5.0 ml.	4.86 ml.	0.028
0.16 ml.	5.0 ml.	4.84 ml.	0.032

Curva # 7

En las últimas curvas de calibración se incluyeron las soluciones A, B y C aforándolas con S.S.F. y Dw. 5% como se indica a continuación:

Vol. de (Sol A) Cefazolina estándar	Vol. de (Sol B) Heparina	Vol. de (Sol C) Buffer Acético / Acetatos	Vol. necesario de S.S.F. para aforar a 10 ml.	Concentración final de cefazolina en mg. / ml
0.02 ml.	0.02 ml.	6.4 ml.	3.56 ml.	0.004
0.04 ml.	0.04 ml.	6.4 ml.	3.52 ml.	0.008
0.06 ml.	0.06 ml.	6.4 ml.	3.48 ml.	0.012
0.08 ml.	0.08 ml.	6.4 ml.	3.44 ml.	0.016
0.10 ml.	0.10 ml.	6.4 ml.	3.40 ml.	0.020
0.12 ml.	0.12 ml.	6.4 ml.	3.36 ml.	0.024
0.14 ml.	0.14 ml.	6.4 ml.	3.32 ml.	0.028
0.16 ml.	0.16 ml.	6.4 ml.	3.28 ml.	0.032

Curva # 8

Vol. de (Sol A) Cefazolina estándar	Vol. de (Sol B) Heparina	Vol. de (Sol C) Buffer Acético / Acetatos	Vol. necesario de Dw. para aforar a 10 ml.	Concentración final de cefazolina en mg. / ml
0.02 ml.	0.02 ml.	5.0 ml.	4.96 ml.	0.004
0.04 ml.	0.04 ml.	5.0 ml.	4.92 ml.	0.008
0.06 ml.	0.06 ml.	5.0 ml.	4.88 ml.	0.012
0.08 ml.	0.08 ml.	5.0 ml.	4.84 ml.	0.016
0.10 ml.	0.10 ml.	5.0 ml.	4.80 ml.	0.020
0.12 ml.	0.12 ml.	5.0 ml.	4.76 ml.	0.024
0.14 ml.	0.14 ml.	5.0 ml.	4.72 ml.	0.028
0.16 ml.	0.16 ml.	5.0 ml.	4.68 ml.	0.032

Curva # 9

Con la finalidad de conocer cuando perdía linealidad el sistema, se realizaron otras diluciones que ampliaron los puntos que se tenían contemplados inicialmente.

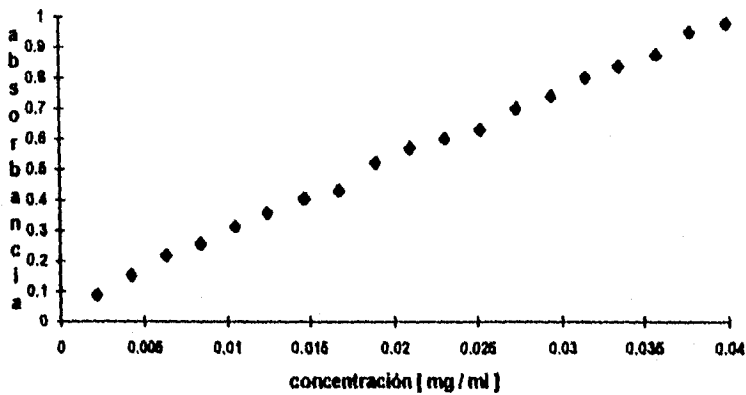
PREPARACION DE LOS BLANCOS REACTIVOS.

Para cada una de las curvas de calibración se preparó un sistema especial llamado blanco reactivo cuya finalidad fue calibrar el espectrofotómetro antes de leer los sistemas correspondientes a cada curva. Dado que para cada curva se preparó un blanco diferente enseguida se muestran los componentes de cada uno:

No de blanco correspondiente a su curva	Vol. de Sol (A) ml.	Vol. de Sol (B) ml.	Vol. de Sol (C) ml.	Vol. de Sol Estéril ml.	Vol. de S.S.F. ml.	Vol. de Dw. ml.
1	0	0	0	10	0	0
2	0	0	0	0	10	0
3	0	0	0	0	0	10
4	0	0.16	0	0	9.84	0
5	0	0.16	0	0	0	9.84
6	0	0	6.4	0	3.6	0
7	0	0	5.0	0	0	5
8	0	0.16	6.4	0	3.44	0
9	0	0.16	5.0	0	0	4.84

'CURVAS DE CALIBRACION'
GEFAZOLINA EN SOLUCION ESTERIL

CONCENTRACION [mg. / ml.]	ABSORBANCIA
0.0021	0.0880
0.0042	0.1555
0.0063	0.2185
0.0084	0.2565
0.0105	0.3140
0.0126	0.3600
0.0147	0.4085
0.0168	0.4345
0.0189	0.5215
0.0210	0.5735
0.0231	0.6030
0.0252	0.6305
0.0273	0.6975
0.0294	0.7375
0.0315	0.7990
0.0336	0.8335
0.0357	0.8715
0.0378	0.9445
0.0399	0.9730

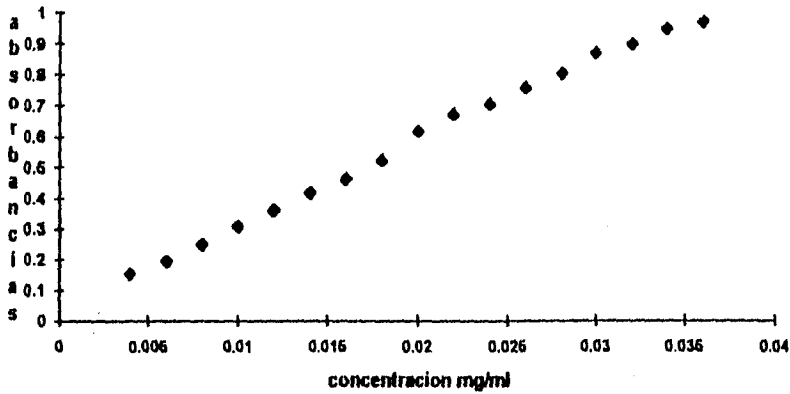


Resultados de la regresión lineal :

$$\begin{aligned}
 b &= 0.06445 \\
 m &= 23.0522 \\
 r &= 0.9988 \\
 r^2 &= 0.9977 \\
 &- 41 -
 \end{aligned}$$

CEFAZOLINA EN SOLUCION SALINA FISIOLÓGICA

CONCENTRACION [mg. / ml.]	ABSORBANCIA
0.00400	0.1527
0.00600	0.1960
0.00800	0.2493
0.01000	0.3083
0.01200	0.3613
0.01400	0.4187
0.01600	0.4643
0.01800	0.5227
0.02000	0.6180
0.02200	0.6727
0.02400	0.7063
0.02600	0.7627
0.02800	0.8057
0.03000	0.8733
0.03200	0.9010
0.03400	0.9480
0.03600	0.9730

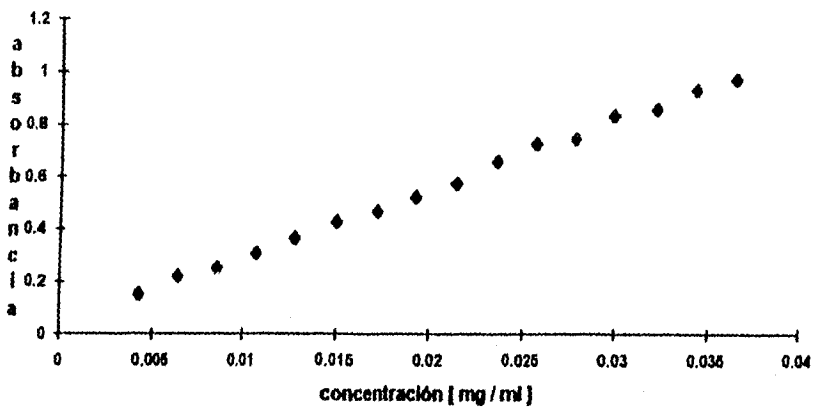


Resultados de la regresión lineal :

$$\begin{aligned}
 b &= 0.04507 \\
 m &= 26.9610 \\
 r &= 0.9975 \\
 r^2 &= 0.9951
 \end{aligned}$$

CEFAZOLINA EN SOLUCION DE DEXTROSA AL 5 %

CONCENTRACION [mg. / ml.]	ABSORBANCIA
0.00428	0.1530
0.00642	0.2227
0.00856	0.2537
0.01070	0.3080
0.01284	0.3660
0.01498	0.4280
0.01712	0.4693
0.01926	0.5216
0.02140	0.5763
0.02354	0.6576
0.02568	0.7273
0.02782	0.7477
0.02996	0.8320
0.03210	0.8593
0.03424	0.9307
0.03638	0.9743



Resultados de la regresión lineal :

$$b = -0.03767$$

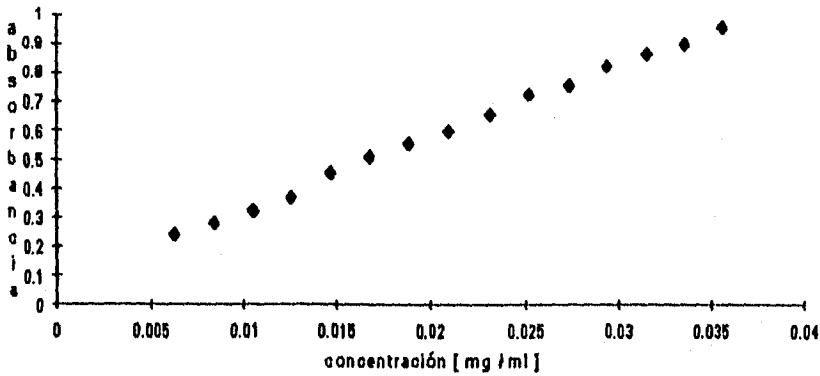
$$m = 25.8996$$

$$r = 0.9988$$

$$r^2 = 0.9977$$

CEFAZOLINA + BUFFER EN SOLUCION SALINA FISIOLÓGICA

CONCENTRACION [mg. / ml.]	ABSORBANCIA
0.00420	0.1807
0.00630	0.2420
0.00840	0.2797
0.01050	0.3247
0.01260	0.3677
0.01470	0.4537
0.01680	0.5083
0.01890	0.5540
0.02100	0.5990
0.02310	0.6557
0.02420	0.7240
0.02730	0.7567
0.02940	0.8247
0.03150	0.8657
0.03360	0.8990
0.03570	0.9590

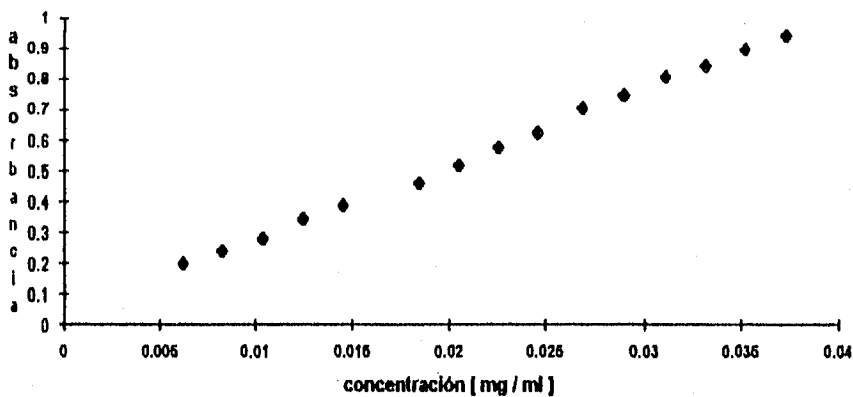


Resultados de la regresión lineal :

$$\begin{aligned}
 b &= 0.07511 \\
 m &= 25.0309 \\
 r &= 0.9988 \\
 r^2 &= 0.9977
 \end{aligned}$$

CEFAZOLINA + BUFFER EN SOLUCION DE DEXTROSA AL 5%

CONCENTRACION [mg. / ml.]	ABSORBANCIA
0.00414	0.1480
0.00621	0.2013
0.00828	0.2427
0.01035	0.2829
0.01242	0.3463
0.01449	0.3923
0.01845	0.4633
0.02050	0.5207
0.02255	0.5793
0.02460	0.6263
0.02691	0.7053
0.02898	0.7490
0.03105	0.8087
0.03312	0.8467
0.03519	0.8997
0.03726	0.9453



Resultados de la regresión lineal :

$$b = 0.03807$$

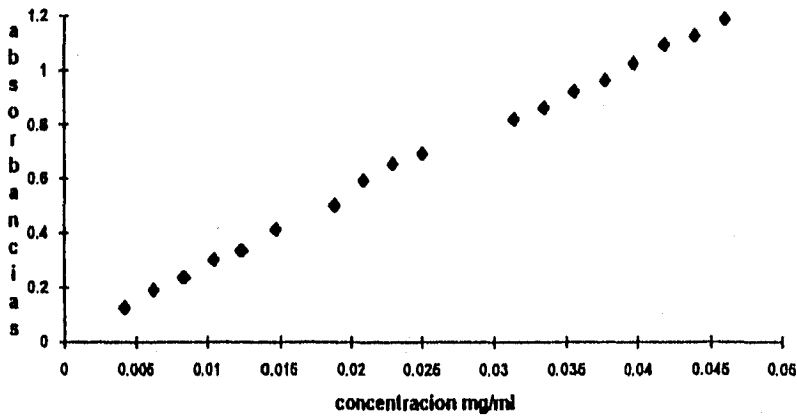
$$m = 24.3608$$

$$r = 0.9991$$

$$r^2 = 0.9983$$

CEFAZOLINA + HEPARINA EN SOLUCION SALINA FISIOLÓGICA

CONCENTRACION [mg. / ml.]	ABSORBANCIA
0.00418	0.1280
0.00627	0.1917
0.00836	0.2383
0.01045	0.3027
0.01254	0.3373
0.01463	0.4160
0.01881	0.5023
0.02090	0.5937
0.02299	0.6547
0.02508	0.6970
0.03135	0.8193
0.03344	0.8640
0.03553	0.9220
0.03762	0.9643
0.03971	1.0263
0.04180	1.0967
0.04389	1.1310
0.04598	1.1925



Resultados de la regresión lineal :

$$b = 0.03983$$

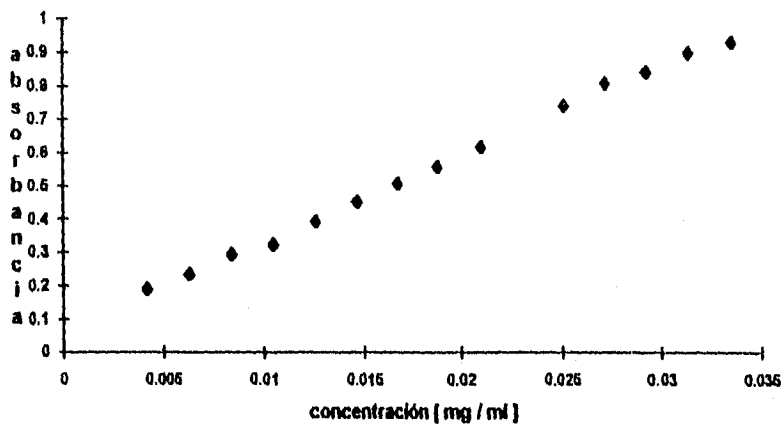
$$m = 25.0521$$

$$r = 0.9988$$

$$r^2 = 0.9976$$

CEFAZOLINA + HEPARINA EN SOLUCION DE DEXTROSA AL 5 %

CONCENTRACION [mg. / ml.]	ABSORBANCIA
0.00418	0.1893
0.00627	0.2340
0.00836	0.2943
0.01045	0.3256
0.01254	0.3923
0.01463	0.4503
0.01672	0.5090
0.01881	0.5576
0.02090	0.6200
0.02508	0.7413
0.02717	0.8116
0.02926	0.8437
0.03135	0.8983
0.03344	0.9307

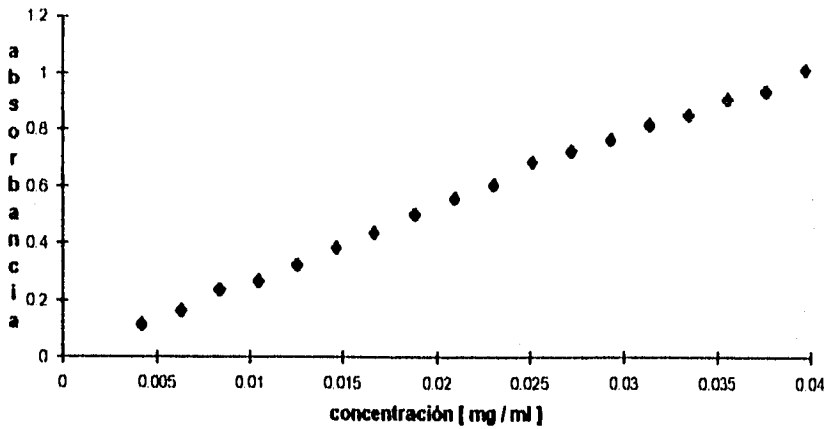


Resultados de la regresión lineal :

$b = 0.06753$
 $m = 2604427$
 $r = 0.9989$
 $r^2 = 0.9978$

CEFAZOLINA + HEPARINA + BUFFER EN SOLUCION SALINA FISIOLOGICA

CONCENTRACION [mg. / ml.]	ABSORBANCIA
0.00418	0.1150
0.00627	0.1637
0.00836	0.2373
0.01045	0.2697
0.01254	0.3247
0.01463	0.3877
0.01672	0.4387
0.01881	0.5033
0.02090	0.5600
0.02299	0.6083
0.02508	0.6857
0.02717	0.7250
0.02926	0.7670
0.03135	0.8180
0.03344	0.8530
0.03553	0.9080
0.03762	0.9360
0.03971	1.0137

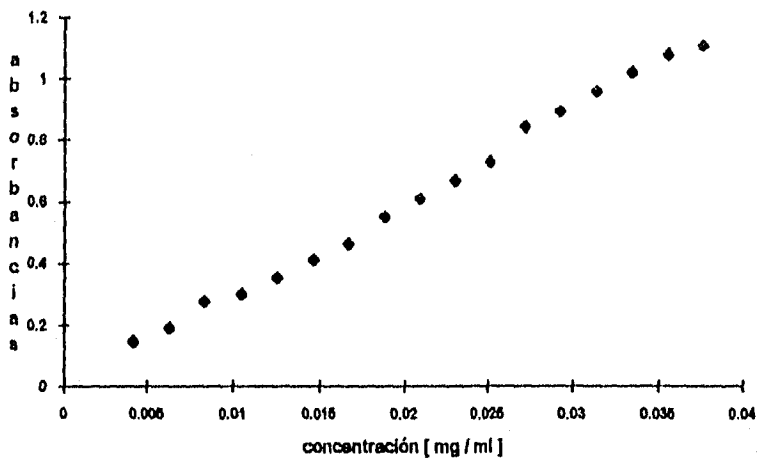


Resultados de la regresión lineal :

$$\begin{aligned}
 b &= 0.05941 \\
 m &= 25.9978 \\
 r &= 0.9993 \\
 r^2 &= 0.9986
 \end{aligned}$$

CEFAZOLINA + HEPARINA + BUFFER EN SOLUCION DE DEXTROSA AL 5 %

CONCENTRACION [mg. / ml.]	ABSORBANCIA
0.00418	0.1470
0.00627	0.1923
0.00836	0.2777
0.01045	0.3027
0.01254	0.3547
0.01463	0.4123
0.01672	0.4647
0.01881	0.5543
0.02090	0.6113
0.02299	0.6693
0.02508	0.7320
0.02717	0.8463
0.02926	0.8950
0.03135	0.9587
0.03344	1.0220
0.03553	1.0793
0.03762	1.1080



Resultados de la regresión lineal :

$$b = -0.005948$$

$$m = 30.1920$$

$$r = 0.9977$$

$$r^2 = 0.9955$$

PROGRAMACION DE MUESTREO :










Después de terminadas las curvas se propuso el orden de muestreo de los problemas como sigue:

Temperatura de las muestras	Frecuencia de lectura
60°C	Cada 4 hrs. el primer día y después cada 24 hrs.
50°C	Cada 4 hrs. el primer día y después cada tercer día
35°C	Cada 4 hrs. el primer día y después 2 días a la semana
20°C	Cada 6 hrs. el primer día y después cada semana.
5°C	Cada 24 hrs. los primeros tres días y después cada semana.

IDENTIFICACION DE LAS MUESTRAS

Para un manejo adecuado de las muestras se implementó un código de figuras y colores para identificar cada solución por el tipo de componentes que la conformaban y a la temperatura en la que se realizó el estudio. Dicho código quedó como sigue:

Temperatura	Color
5°C	Azul
20°C	Verde
35°C	Amarillo
50°C	Rojo
60°C	Morado

Tipo de Sistema	Figura
Cefazolina en Solución Estéril	
Cefazolina en Solución Salina Fisiológica	
Cefazolina en Dw al 5%	
Cefazolina + Heparina en S.S.F.	
Cefazolina + Heparina en Dw al 5%	
Cefazolina + Buffer en S.S.F.	
Cefazolina + Buffer en Dw al 5%	
Cefazolina + Heparina + Buffer en S.S.F.	
Cefazolina + Heparina + Buffer en Dw al 5%	

En base a lo anterior se etiquetó cada frasco según su contenido un ejemplo se muestra a continuación:

Cefa en DX + Hep	T = 20°C	Sol No : 1
Espectro	fecha:	<input type="checkbox"/> <input type="radio"/>

De la misma forma, se empleó el código para elaborar las tablas donde se registrarían los cambios observados en cada solución durante el estudio.

Estudio de Estabilidad	Cefa en Dx Buffer.	<input type="checkbox"/> <input type="triangle"/>
Espectrofotometría UV		
Concentración		
Solución N°:	Temperatura: 5 °C	

1							
2							
3							
4							
5							
6							

NOTA : Cada figura fué sombreada con el color correspondiente a la temperatura de estudio.

PREPARACION DE LAS MUESTRAS

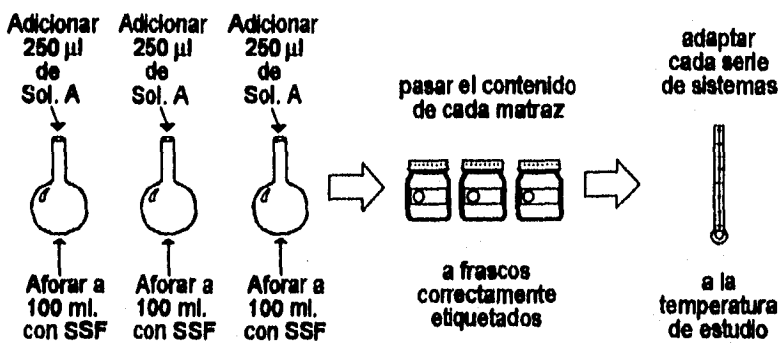
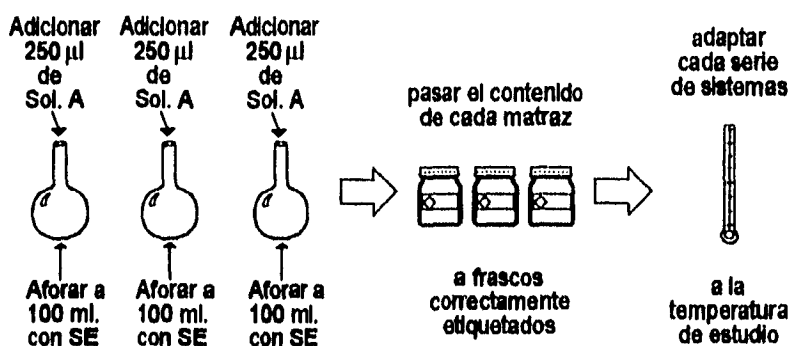
La preparación de las muestras fué de manera semejante a los sistemas de las curvas de calibración con la diferencia de que aquí solo se maneja una concentración para todas las muestras: 0.025 mg. / ml.. Esta concentración se eligió por ser un punto intermedio en todas las curvas de calibración ensayadas. Además estas muestras fueron preparadas a partir de una presentación comercial de la Cefazolina procesada por Bristol conocida como: " Cefadcal ". Esta presentación es 1g de cefazolina sódica para reconstituir en 5 ml. de sol estéril. Después de reconstituir dicho medicamento se llevó a un volumen de 100 ml. del que se obtuvo una concentración de 10 mg. / ml. a la que etiquetamos como sol A. De esta manera, al tomar 0.25 ml. o 250 μ l y aforar a 100 ml. la concentración resultante en cada muestra es teóricamente de 0.025 mg. /ml.

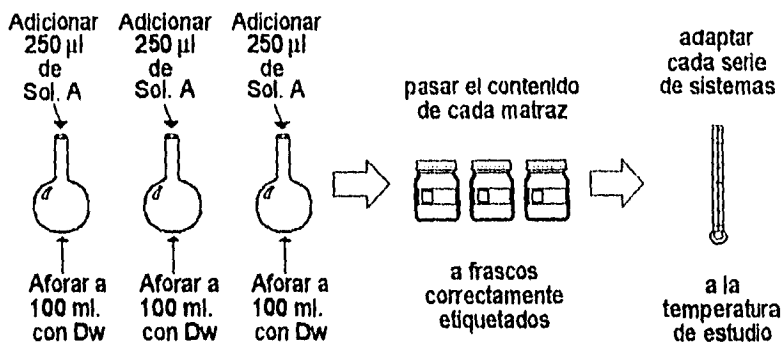
De la misma forma que en los sistemas de las curvas de calibración la proporción de Heparina es 0.1 U.I. por 0.1 mg. de Cefazolina. Por tal razón la concentración de Heparina contenida en cada muestra fué de 0.025 U.I./ml.. Para dicho efecto se preparó una solución de Heparina tomando del frasco ampula 0.1 ml. equivalentes a 500 U.I. de Heparina que se aforaron a 100 ml. con sol estéril quedando así una concentración de 5.0 U.I. / ml. De esta solución se tomaron 5 ml. para aforarlos a 50 ml. con sol estéril y de aquí obtener 0.5 U. I. / ml.. Dicha solución se etiquetó como sol B. Si para cada muestra se toman de la sol B 5 ml. y se aforan a 100 ml. la concentración final de Heparina en cada muestra será de 0.025 U.I. / ml..

Dado que el volumen de las muestras fué de 100 ml., el volumen adicionado de buffer (Sol. C) fue de 64 y 50 ml. para las muestras de S.S.F. y Dw. respectivamente.

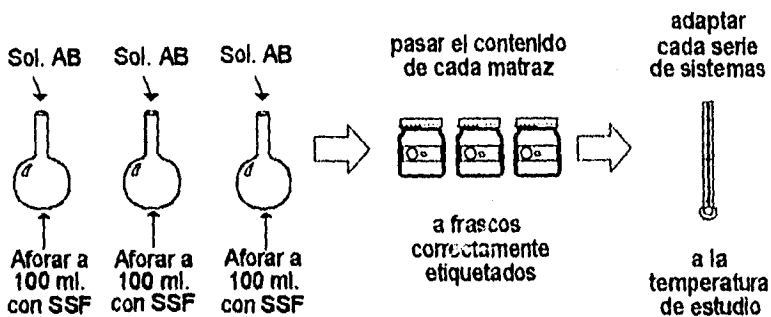
Una preparación detallada de las muestras problema se ilustra en el siguiente diagrama de flujo:

DIAGRAMA DE FLUJO.

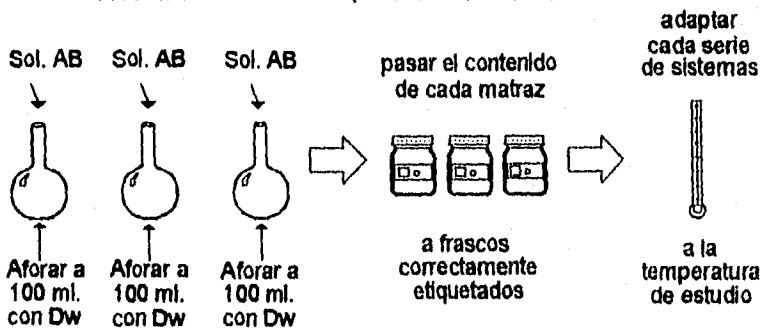


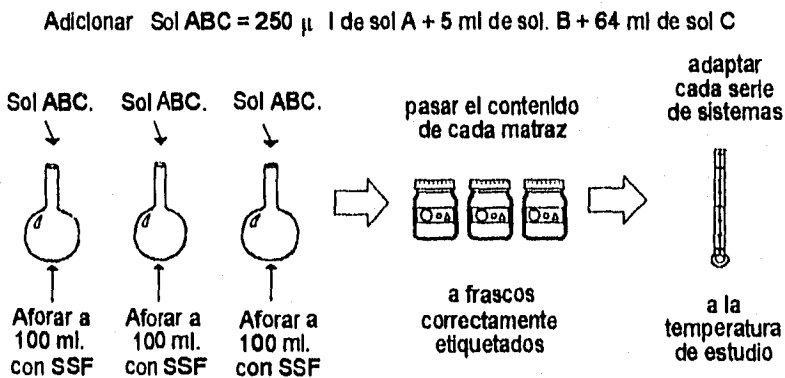
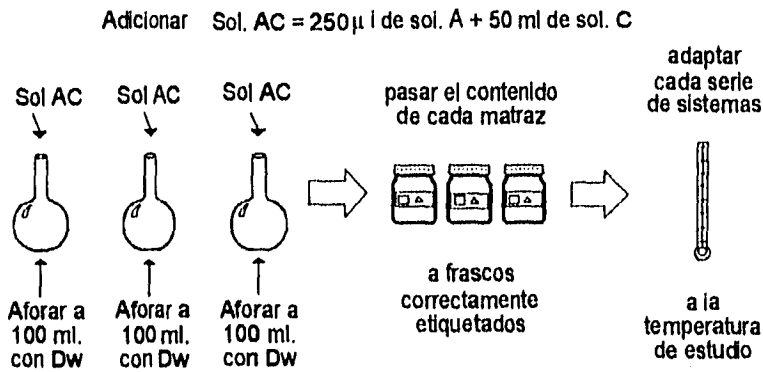
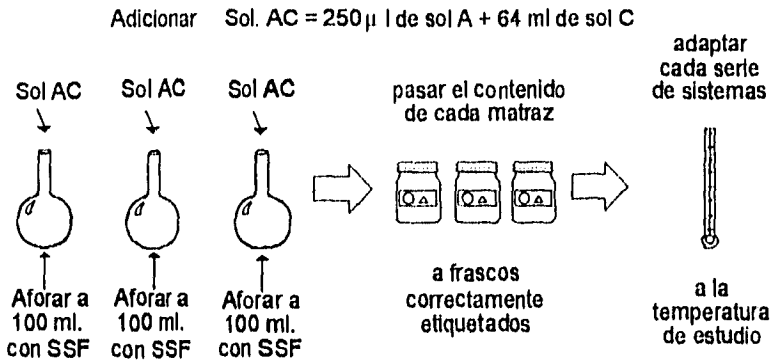


Adicionar Sol. AB = 250 μ l de sol. A + 5ml de sol. B

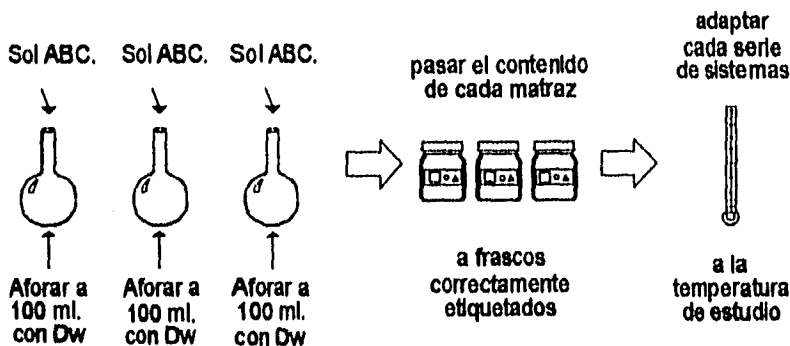


Adicionar Sol AB = 250 μ l de sol. A + 5 ml de sol. B





Adicionar Sol. ABC = 250 μ l de sol. A + 5 ml de sol. B + 50 ml de sol. C



Se obtienen en total 27 sistemas que debidamente etiquetados se someten a las temperaturas correspondientes.

Sistemas de 60°C, 50° y 35°C en tres estufas diferentes con su respectivo termómetro que nos indica las posibles variaciones de temperatura.

Sistemas de 20°C en una gaveta con un termómetro.

Sistemas de 5°C en un refrigerador también con un termómetro.

El día de muestreo se toman con una jeringa 4 ml. de cada sistema y se llevan a tubos de ensaye debidamente etiquetados.

De aquí se llevan a la celda espectrofotométrica para leer su absorbancia, también se observa si la solución presenta algún cambio de color, mismo que al igual que la absorbancia y el pH inicial son registrados en las tablas correspondientes. El mismo procedimiento se sigue con todas las muestras de cada temperatura.

DETERMINACION EN HPLC

DETERMINACION EN HPLC

PARTE EXPERIMENTAL

REACTIVOS Y APARATOS

Reactivos:

Buffer de acetatos pH = 5.2 M = 10^{-3}

Mezcla; Buffer de Acetatos / Metanol grado HPLC proporción 72:28 respectivamente. (Fase móvil para correr la muestra) (5).

Mezcla; Metanol grado HPLC / H₂O desionizada proporción 50:50 (Fase Móvil para lavado de la columna)

Mezcla; Acetonitrilo / H₂O desionizada proporción 70:30 (Fase móvil para lavado de la columna)

Cada una de estas fases se filtraron a vacío por una membrana y posteriormente se degasificaron por medio del ultrasonido.

Aparatos:

pHmetro : Modelo # 7 " Corning "

Cromatografo:

Registrador : " Hewlet Packard ". 33968

Detector : " Perkin Elmer " UV / VIS Spectrophotometric Detector
LC290

Columna : " Beckman " ODS C₁₈ con ultraesferas 5 µm. 4.6 mm.
de diámetro x 25 cm. de longitud. (20).

Bomba : " Perkin Elmer " Binary LC Pump

Jeringa : " Hamilton " 25 µl. # 702

Ultrasonido : Ultrasonic Cleaner B -12 Branson (a Smithkline Company)

Matraz de filtrado a vacío : " Kontes " Ultra-Ware (200 ml.).

Filtros : " Millipore " tipo HA y HVLP de 0.45 µm diámetro de poro.

PREPARACION DE LAS CURVAS DE CALIBRACIÓN

Dado que se manejaron 5 Diferentes tipos de sistemas se requirió de una curva de calibración para cada sistema.

Tanto para las curvas de calibración, como para el muestreo se mantuvieron las siguientes condiciones:

Fase móvil : Buffer Acético : Acetatos / Metanol Proporción 72.28.

Velocidad de Flujo : 0.5 ml. / min.

Vel. de carta : 0.6 cm. / min.

Atenuación : 6 y 7

AR REJ : 10000

Ruldo : 1

Anchura de pico : 0.04 cm.

PREPARACIÓN DEL ESTÁNDAR:

Se pesaron aproximadamente 30.00 mg. llevándolos a un volumen de 10 ml se obtuvo una concentración de 3.0 mg. / ml. (Sistema A).

Del sistema A se tomaron diferentes volúmenes 0.2 ml., 0.4 ml., 0.6 ml., 0.8 ml., 1.0 ml., 1.2 ml. que se llevaron a 10 ml. y así se formó el grupo de sistemas que conformaron cada curva.

Es importante aclarar que para cada curva fue necesario partir del sistema (A) por lo que en cada caso se preparó un sistema, esto provocó que no siempre se pesara la misma cantidad exactamente, por lo que se hicieron algunas aproximaciones, pero de cualquier forma las curvas se manejaron en el mismo intervalo.

Aquí se presentan las concentraciones de las diferentes soluciones A de las cuales se partió:

A₁ = 31.10 mg. / ml. A₂ = 30.90 mg. / ml. A₃ = 30.60 mg. / ml.

A₄ = 30.60 mg. / ml. A₅ = 30.70 mg. / ml.

Para las curvas de calibración Cefazolina en solución Estéril, Cefazolina en Solución Salina Fisiológica y Cefazolina en Dextrosa 5%.

Se tomaron de la solución A :	Se aforaron a 10 ml. quedando las siguientes concentraciones :
0.2 ml.	0.06 mg. / ml.
0.4 ml.	0.12 mg. / ml.
0.6 ml.	0.18 mg. / ml.
0.8 ml.	0.24 mg. / ml.
1.0 ml.	0.30 mg. / ml.
1.2 ml.	0.36 mg. / ml.
1.4 ml.	0.42 mg. / ml.
1.6 ml.	0.48 mg. / ml.
1.8 ml.	0.54 mg. / ml.

De manera similar se procedió con las curvas de calibración para Cefazolina + Heparina en Solución Salina Fisiológica y Cefazolina en Dextrosa al 5%. Con la diferencia de que aquí se incluía además una concentración determinada de Heparina.

Tomando en cuenta que una de las dosificaciones de Heparina que normalmente se ocupan en el Hospital es: 1000 U.I. de Heparina por 1g de Cefazolina, se realizan los cálculos correspondientes y se prepara una solución de Heparina tomando 500 U.I de Heparina (equivalentes a 0.1 ml. del frasco ampula) llevada a un volumen de 50 ml. quedando una concentración de 10 U.I/ ml. De esta solución se tomaron 5 ml. = 50 U.I.

que se llevaron a 25 ml. para obtener una concentración = 2 U.I. Esta solución es la sol B.

Sol. A Cefazolina 3 mg. / ml.	Sol B Heparina 2 U.I. / ml.	Aforando a 10 ml. con S.S.F. o Dw. quedan las siguientes concentraciones de Cefazolina y Heparina en mg. y U.I. por ml.
0.2 ml.	0.3 ml.	0.06
0.4 ml.	0.6 ml.	0.12
0.6 ml.	0.9 ml.	0.18
0.8 ml.	1.2 ml.	0.24
1.0 ml.	1.5 ml.	0.30
1.2 ml.	1.8 ml.	0.36
1.4 ml.	2.1 ml.	0.42
1.6 ml.	2.4 ml.	0.48
1.8 ml.	2.7 ml.	0.54

Con este grupo de sistemas se procedió a inyectar cada concentración en el HPLC a las condiciones ya mencionadas. De lo anterior se obtuvieron como respuesta cromatogramas que nos mostraron picos representativos del estándar de cefazolina, dichos picos fueron variando en cuanto a su área, debido a la concentración presente de cefazolina.

Por tal razón los gráficos de las curvas de calibración se construyeron tomando en cuenta las siguientes variables:

x = Concentración de Cefazolina estándar

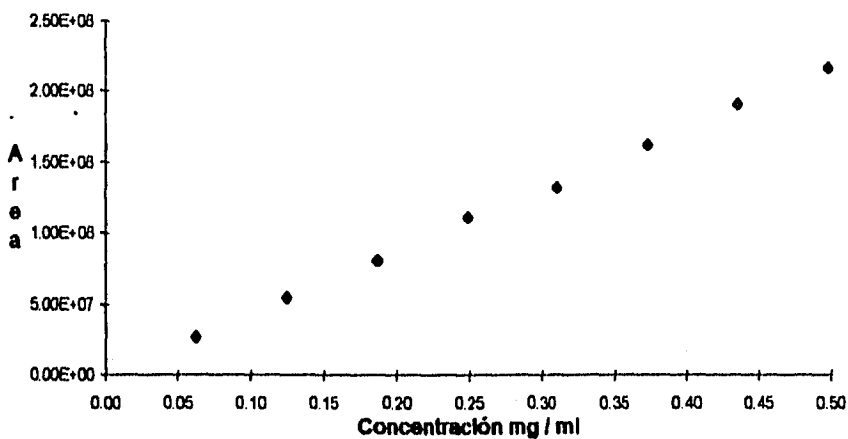
y = Area reportada para cada concentración

Es importante aclarar que en cada curva se realizaron tres repeticiones para trabajar con el promedio de ellas y obtener la regresión más apropiada.

Enseguida se muestran las curvas de calibración con las que se trabajó en cada caso y sus datos de regresión respectivos.

CURVAS DE CALIBRACIÓN
CEFAZOLINA EN SOLUCIÓN ESTÉRIL

CEFAZOLINA mg. / ml.	AREA X
0.0622	26634714
0.1244	54894858
0.1866	80757696
0.2488	111224573
0.3110	131504186
0.3732	161481840
0.4354	190725760
0.4976	216452986

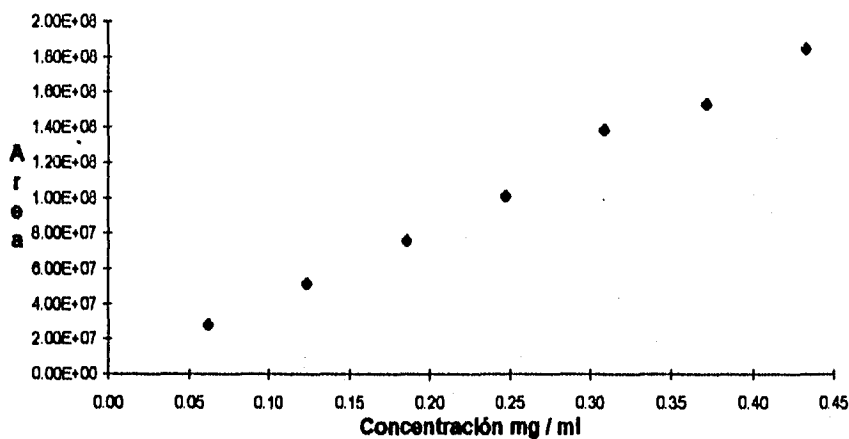


Resultados de la regresión lineal :

b = 84516.32
m = 434530404.8
r = 0.9995
r² = 0.9991

CEFAZOLINA EN S.S.F.

CEFAZOLINA mg. / ml.	AREA X
0.0618	28025136
0.1236	51307338
0.1854	75438613
0.2472	100970216
0.3090	138616440
0.3708	153061360
0.4326	184208840

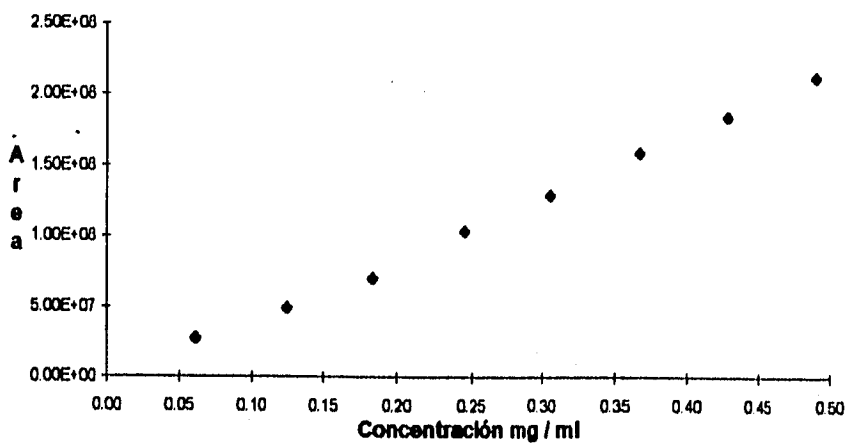


Resultados de la regresión lineal :

b = -27485.7334
m = 421932514.6
r = 0.9957
r² = 0.9914

CEFAZOLINA EN DW. AL 5 %

CEFAZOLINA mg. / ml.	AREA X
0.0612	27248389
0.1244	48910901
0.1836	69883680
0.2448	103535170
0.3060	128649706
0.3672	158678933
0.4284	184092080
0.4896	212389466

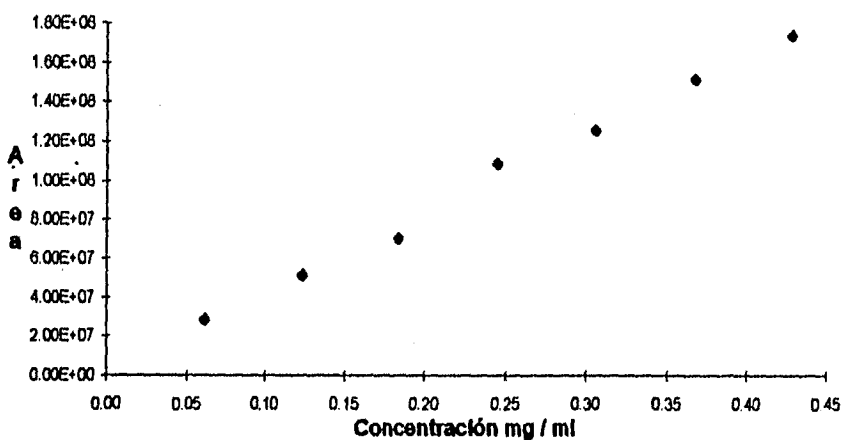


Resultados de la regresión lineal :

b = 4922643.28
m = 441125281.7
r = 0.9988
r² = 0.9976

CEFAZOLINA + HEPARINA EN S.S.F.

CEFAZOLINA mg. / ml.	AREA X
0.0612	28275488
0.1244	51020608
0.1836	70262997
0.2448	108283700
0.3060	125306580
0.3672	151226880
0.4284	173385333

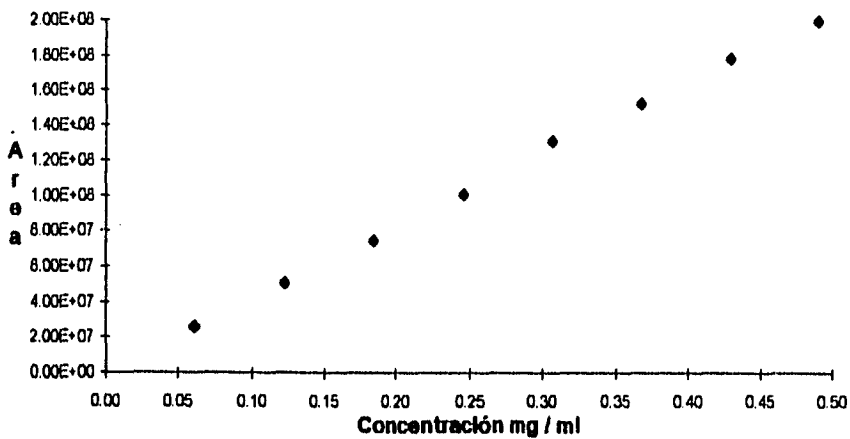


Resultados de la regresión lineal :

b = 2090752.11
m = 404025601.1
r = 0.9971
r² = 0.9943

CEFAZOLINA + HEPARINA EN DW. AL 5%

CEFAZOLINA mg. / ml.	AREA X
0.0614	25777008
0.1228	50407146
0.1842	74710272
0.2456	100332285
0.3070	130580160
0.3684	152509040
0.4298	178316826
0.4912	199229560



Resultados de la regresión lineal :

b = 552763.39
m = 410532116
r = 0.9994
r² = 0.9988

PROGRAMACIÓN DE MUESTREO

Después de terminadas las curvas se propuso el orden de preparación y muestreo de los problemas quedando como sigue:

Temperatura de las muestras	Frecuencia de inyección
60°C	Diariamente
50°C	Cada tercer día
35°C	Diariamente
20°C	Dos veces por semana
5°C	Dos veces por semana

IDENTIFICACIÓN DE LAS MUESTRAS

De la misma forma que en la parte experimental de espectrofotometría se trabaja con el código ya mencionado, exceptuando las soluciones que contengan buffer (dado que en esta parte no se trabajará con este tipo de soluciones) la identificación del resto de las soluciones se manejará de la misma manera.

Se hacen solo unas pequeñas modificaciones en las etiquetas y en las tablas de registro ya que no todos los datos que se manejaron en espectro son similares a los de HPLC.

EJEMPLO DE ETIQUETAS

Cefa en DX + Hep	T = 60°C	Sol No : 3
HPLC	fecha:	<input type="checkbox"/> <input type="radio"/>

TABLA MANEJADA PARA HPLC

Estudio de Estabilidad HPLC Concentración Solución N°:	Cefazolina en Dx Temperatura: 5 °C	<input type="checkbox"/>
---	---	--------------------------

N.º	Fecha	hora	pH	Conc.	Atmósfera	T	Atm.	Atm.	Mo.	H	Resp. (mU)
1											
2											
3											
4											
5											

PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS PROBLEMA :

Se partió de la presentación farmacéutica "Cefacidal" que contenía 1g de Cefazolina sódica para reconstituir con 5 ml. de solución estéril.

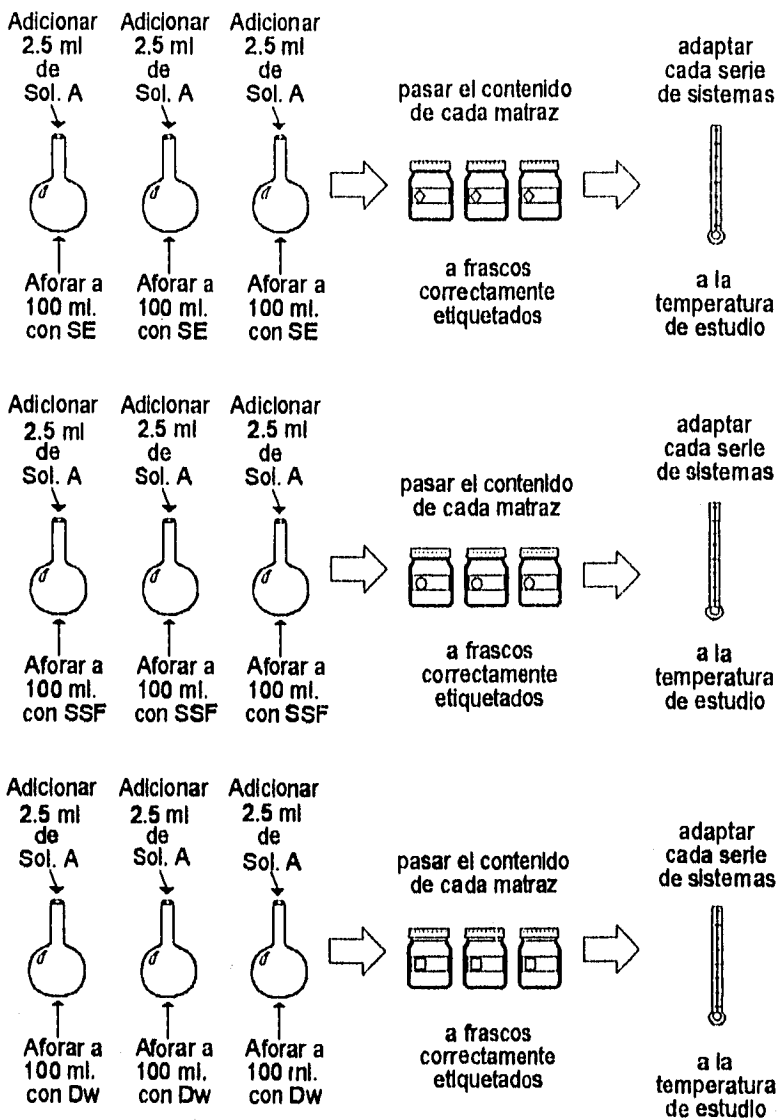
Estos 5 ml. se llevaron a 100 ml. con solución estéril y así se obtuvo una concentración aproximada de 10 mg. / ml (Solución A).

La solución de Heparina se preparó llevando 500 U.I. (equivalentes a 0.1 ml. del frasco ampula) a 50 ml. para obtener una concentración de 10 U.I. / ml. (Solución B).

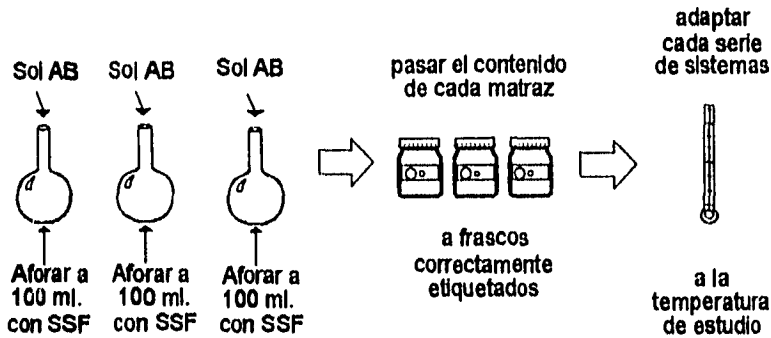
Todos los sistemas se prepararon aproximadamente a la misma concentración; 0.25 mg./ml. dicha concentración se eligió al tomar un punto intermedio de las curvas de calibración trabajadas.

La preparación de los sistemas fué como se muestra a continuación :

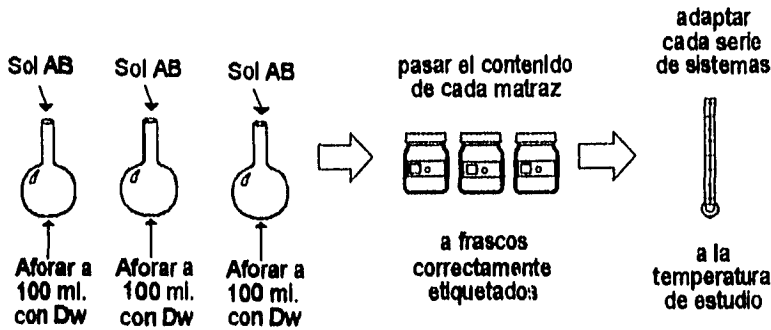
DIAGRAMA DE FLUJO



Adicionar Sol AB = 2.5 ml de sol. A + 2.5 ml de sol. B



Adicionar Sol AB = 2.5 ml de sol. A + 2.5 ml de sol. B



Se obtienen en total 15 sistemas que debidamente etiquetados se someten a las temperaturas correspondientes:

Sistemas de 60°C, 50° y 35°C en tres estufas diferentes con su respectivo termómetro que nos indica las posibles variaciones de temperatura.

Sistemas de 20°C en una gaveta con un termómetro.

Sistemas de 5°C en un refrigerador también con un termómetro.

El día de muestreo se toman con una jeringa 2 ml. de cada sistema y se llevan a tubos debidamente etiquetados.

De cada tubo se toman 20 μ l. con la microjeringa y se inyectan al HPLC, aproximadamente después de 15 minutos termina de eluir completamente la muestra que se registra en el cromatograma correspondiente.

El mismo procedimiento se sigue con todas las muestras en cada temperatura.

RESULTADOS.

RESULTADOS.

CROMATOGRAFIA.

En la parte de cromatografía se obtuvieron resultados muy importantes que mostraron muy claramente la degradación de cefazolina en las diferentes temperaturas.

A continuación se muestran las tablas que expresan la evolución de esa degradación para cada caso :

Temperatura = 5°C

Cefz.	en Sol. Estéril	en S.S.F.	en Dw. 5%	+ Hep. en S.S.F.	+ Hep. en Dw. 5%
-------	-----------------	-----------	-----------	------------------	------------------

Tiempo (hrs.)	Concentración (mg. / ml.)	Concentración (mg. / ml.)	Concentración (mg. / ml.)	Concentración (mg. / ml.)	Concentración (mg. / ml.)
0	0.2990	0.2809	0.2923	0.2904	0.3014
96	0.2396	0.2571	0.2257	0.2538	0.2597
168	0.2545	0.2983	0.2761	0.2949	0.3024
264	0.2696	0.2790	0.2693	0.2909	0.3064
432	0.2821	0.2545	0.2849	0.2772	0.2864
504	0.2550	0.2607	0.2760	0.2776	0.2755
600	0.2662	0.2767	0.2614	0.2694	0.2604
696	0.3806	0.3022	0.2771	0.3140	0.3018
792	0.2553	0.2619	0.2603	0.2592	0.2722

Tabla No. 1

Temperatura = 20°C

Cefz.	en Sol. Estéril	en S.S.F.	en Dw. 5%	+ Hep. en S.S.F.	+ Hep. en Dw. 5%
-------	-----------------	-----------	-----------	------------------	------------------

Tiempo. (hrs.)	Concentración (mg. / ml.)	Concentración (mg. / ml.)	Concentración (mg. / ml.)	Concentración (mg. / ml.)	Concentración (mg. / ml.)
0	0.2561	0.2891	0.2929	0.2813	0.2949
72		0.2764	0.2604	0.2764	0.2933
168		0.2693	0.2529	0.2726	0.2869
336	0.2370	0.2416	0.2508	0.2497	0.2392
408			0.2449		
552	0.2191	0.2163	0.2227	0.2313	0.2323
672	0.2020			0.2291	
744					0.2285
840	0.2009				0.2198

Tabla No. 2

Temperatura = 35°C

Cefz.	en Sol. Estéril	en S.S.F.	en Dw. 5%	+ Hep. en S.S.F.	+ Hep. en Dw. 5%
-------	-----------------	-----------	-----------	------------------	------------------

Tiempo (hrs.)	Concentración (mg. / ml.)	Concentración (mg. / ml.)	Concentración (mg. / ml.)	Concentración (mg. / ml.)	Concentración (mg. / ml.)
0	0.3003	0.2784	0.2920	0.3128	0.2932
24	0.2842	0.2747	0.2722	0.2851	
48	0.2663				0.2885
96	0.2251	0.2650	0.2021	0.2725	0.2784
168	0.2161	0.1963	0.1880	0.2058	0.2118
192	0.2043	0.1615	0.1672	0.1680	0.1928
240	0.1874	0.1531	0.1545	0.1524	0.1781
284	0.1787	0.1460	0.1416	0.1390	0.1669
336		0.1180	0.1191	0.1106	0.1374
408		0.0574	0.0634	0.0268	0.0892

Tabla No. 3

Temperatura = 50°C

Cefz.	en Sol. Estéril	en S.S.F.	en Dw. 5%	+ Hep. en S.S.F.	+ Hep. en Dw. 5%
-------	-----------------	-----------	-----------	------------------	------------------

Tiempo (hrs.)	Concentración (mg. / ml.)	Concentración (mg. / ml.)	Concentración (mg. / ml.)	Concentración (mg. / ml.)	Concentración (mg. / ml.)
0	0.2742	0.2945	0.2169	0.2624	0.3353
48	0.2209	0.1404	0.0817	0.1076	0.1991
96	0.1276	0.0488	0.0157	0.0199	0.0790
168	0.1044	0.0016	0.0132		0.0603
216	0.0920		0.0122		0.0537
264	0.0760				

Tabla No. 4

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

Temperatura = 60°C

Cefz.	en Sol. Estéril	en S.S.F.	en Dw. 5%	+ Hep. en S.S.F.	+ Hep. en Dw. 5%
-------	-----------------	-----------	-----------	------------------	------------------

Tiempo (hrs.)	Concentración (mg. / ml.)	Concentración (mg. / ml.)	Concentración (mg. / ml.)	Concentración (mg. / ml.)	Concentración (mg. / ml.)
0	0.2761	0.2866	0.2334	0.3101	0.2982
24	0.1569	0.1205	0.0923	0.1496	0.1625
48	0.0683	0.0355	0.0321	0.0345	0.0692
72	0.0320	0.0135	0.0162	0.0079	0.0321
96	0.0054	0.0022	0.0153		0.0070
168	0.0001	0.0016	0.0121		0.0011
192		0.0014			

Tabla No. 5

Para cada uno de los casos anteriores, también se registraron los cambios de pH y color que se presentan a continuación.

	5°C	20°C	35°C	50°C	60°C
Temperatura =	tiempo =	tiempo =	tiempo =	tiempo =	tiempo =
	36 días	38 días	17 días	17 días	15 días

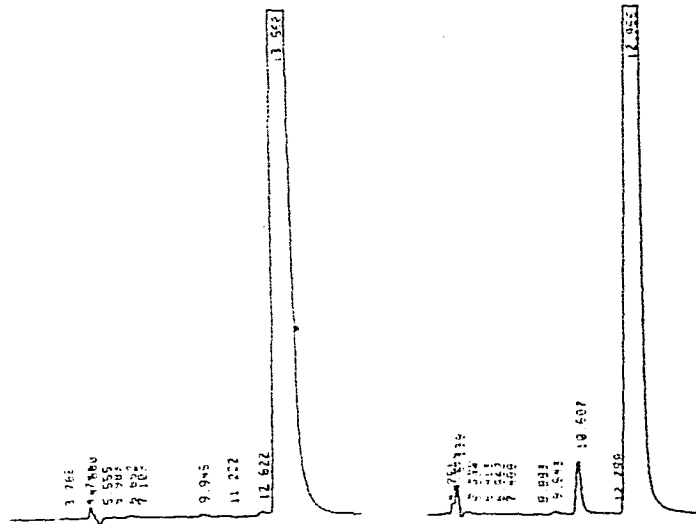
Tipo de Sistemas	pH	pH	pH	pH	pH	pH	pH	pH	pH	pH
	Inicial	final	Inicial	final	Inicial	final	Inicial	final	Inicial	final
Cefazolina en Sol. Estéril.	5.1	5.0	5.4	6.7	6.1	6.7	6.1	7.3	6.1	7.2
Cefazolina en S.S.F.	5.7	5.5	5.4	6.5	5.9	7.0	5.7	6.8	5.8	7.3
Cefazolina en Dw.	4.7	4.7	4.6	4.8	5.3	6.1	4.5	5.5	4.8	5.0
Cefazolina + Hep. en S.S.F.	5.5	5.4	5.4	6.3	5.8	6.6	5.6	6.6	5.8	7.5
Cefazolina + Hep. en Dw.	4.9	4.9	4.6	4.8	5.5	5.9	4.8	6.4	4.6	5.9

Tabla No. 6

CROMATOGRAMAS

En esta parte mostramos los cromatogramas obtenidos a 5, 20 y 60°C. pues consideramos que son los más representativos para los casos estudiados. En cada temperatura, los cromatogramas se presentan en el siguiente orden : Cefazolina en Solucion Estéril, Cefazolina en S.S.F., Cefazolina en Dw 5%, Cefazolina + Heparina en S.S.F. y Cefazolina + Heparina en Dw 5%.

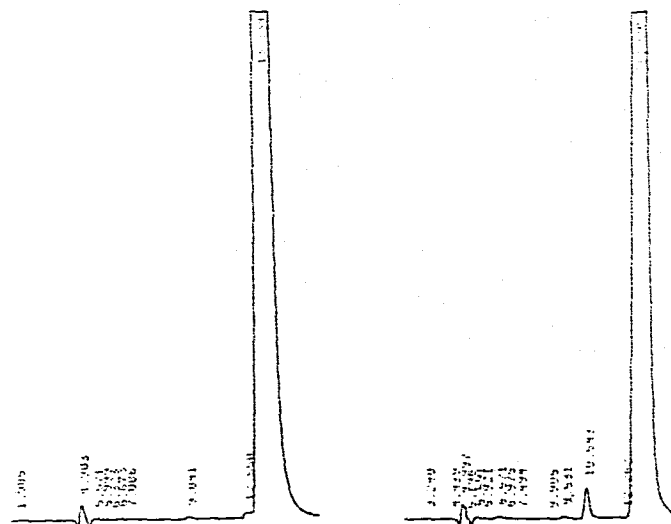
Cefazolina en Solución Estérea



T= 5° C t= 0 días

T= 5° C t= 33 días

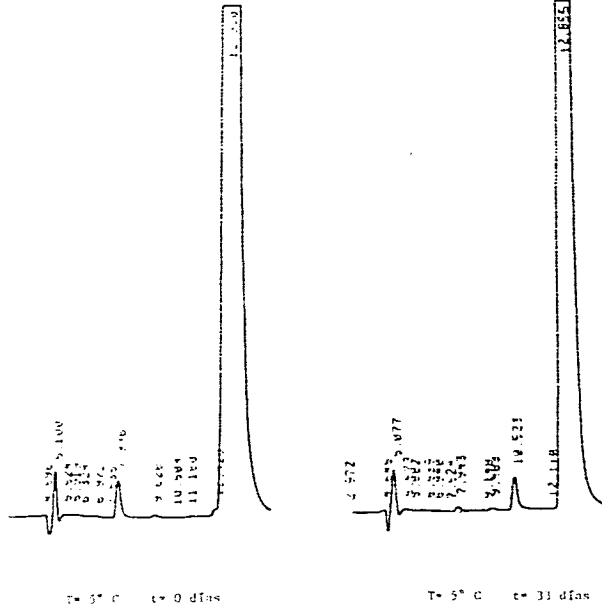
Cefazolina en Solución Salina Fisiológica



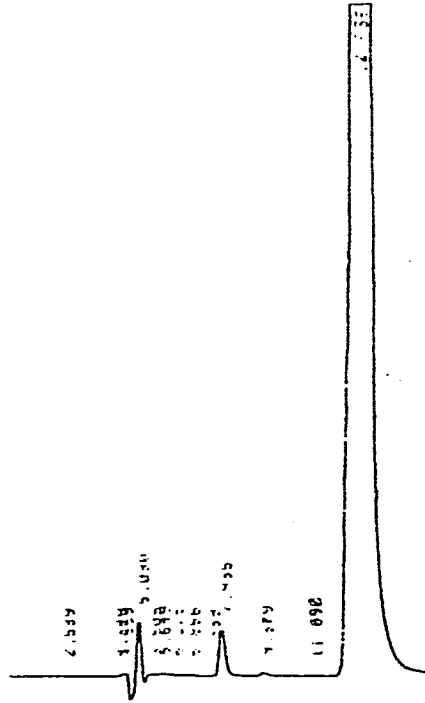
T= 5° C t= 0 días

T= 5° C t= 33 días

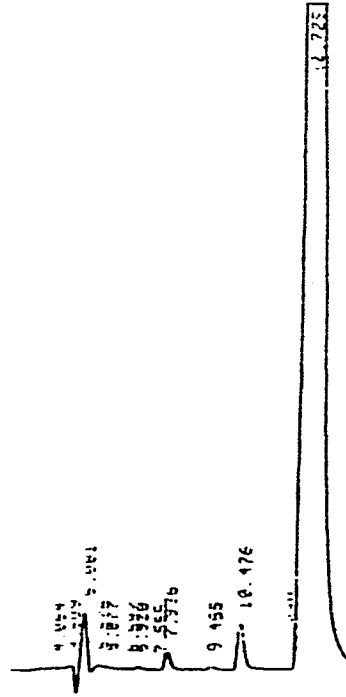
Cefazolina en Destresa



Cefazolina en Dextrosa + Heparina

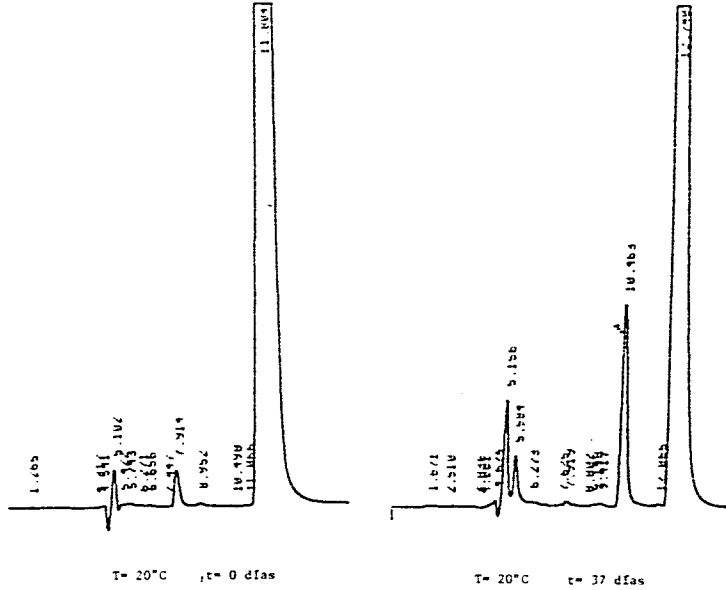


T= 5° C t= 0 dias

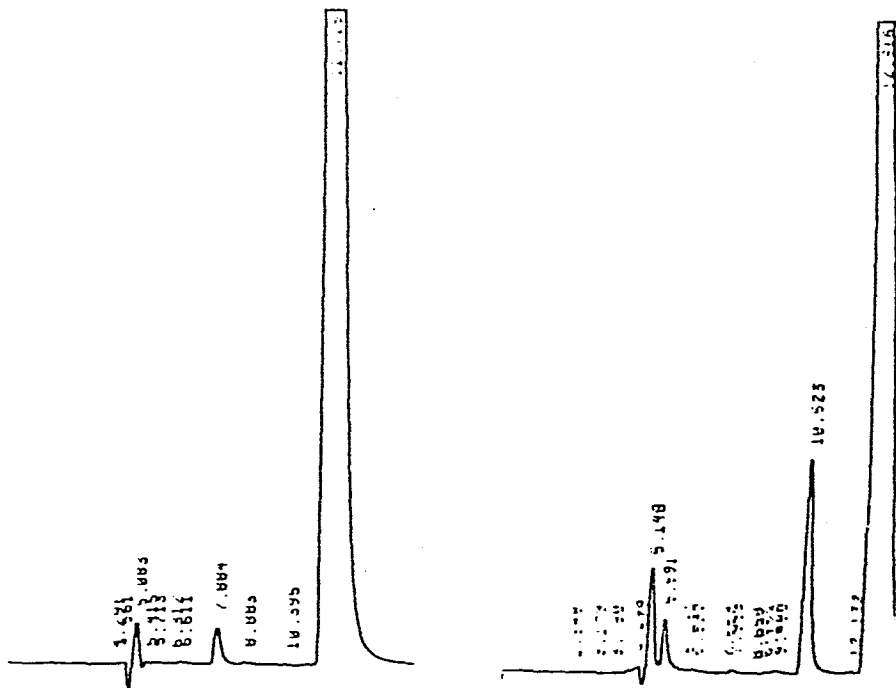


T= 5° C t= 39 dias

Cefazolina en Dextrosa



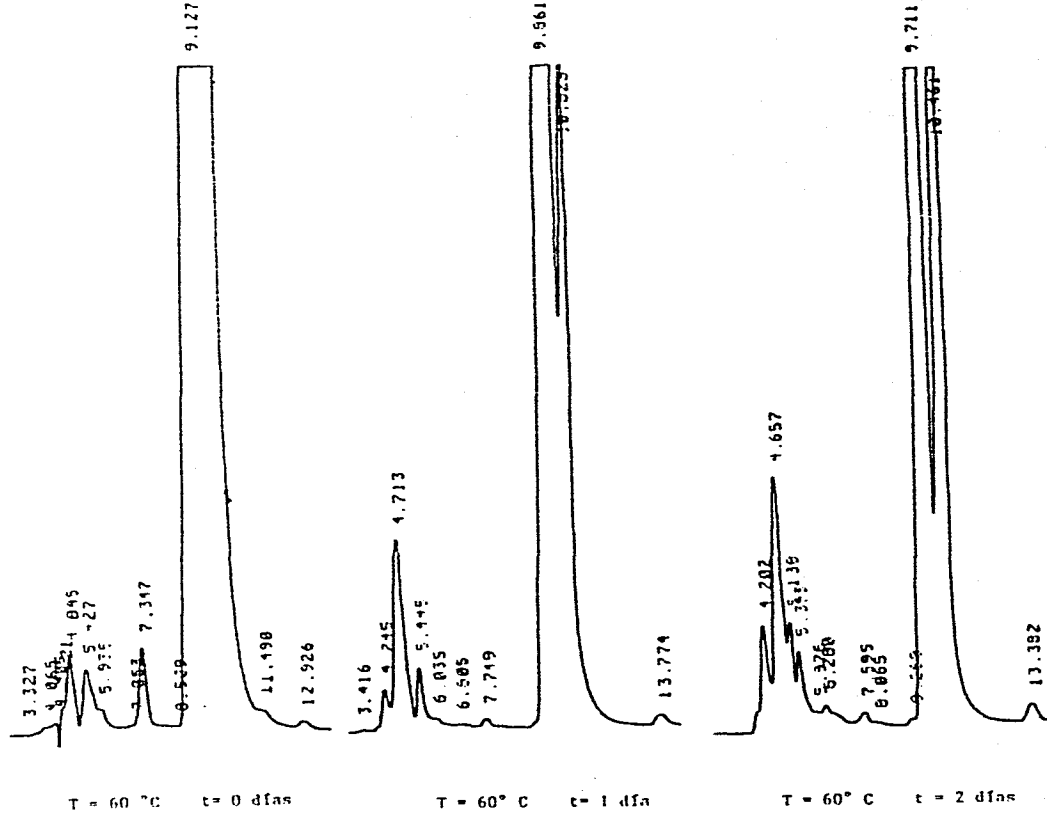
Cefazolina en Dextrosa + Heparina

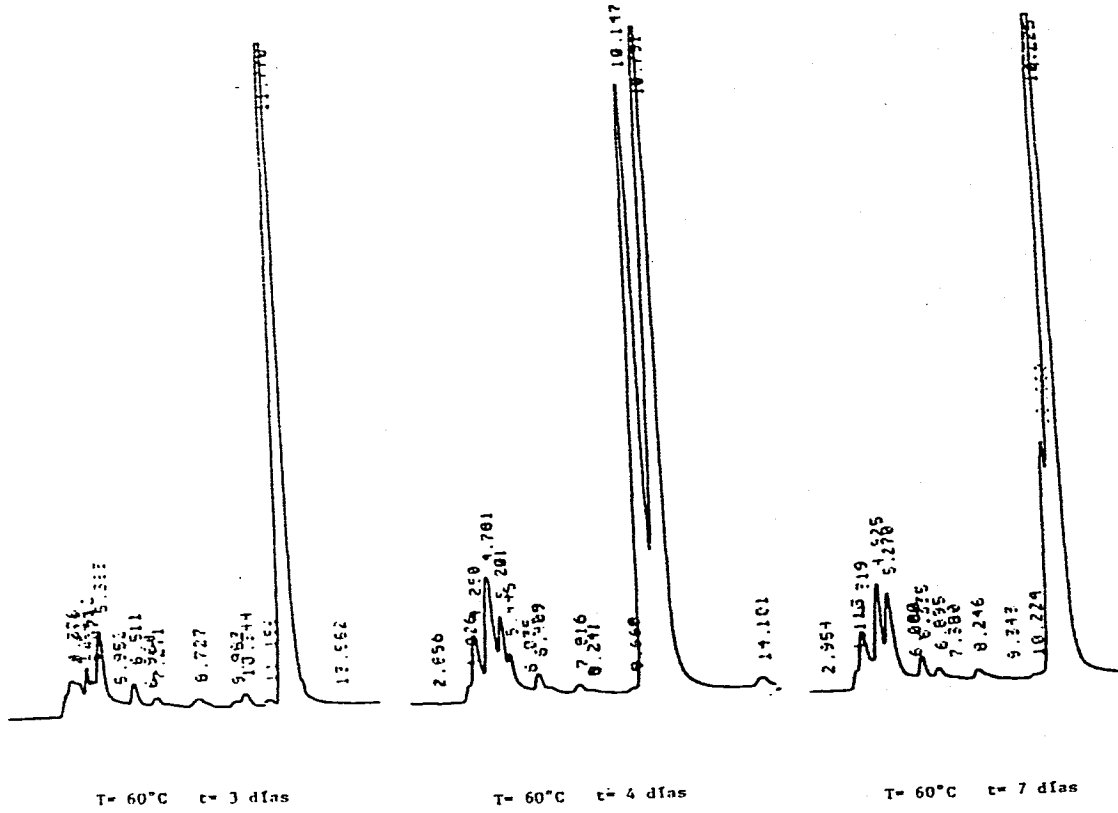


$T = 20^\circ\text{C}$ $t = 0$ dias

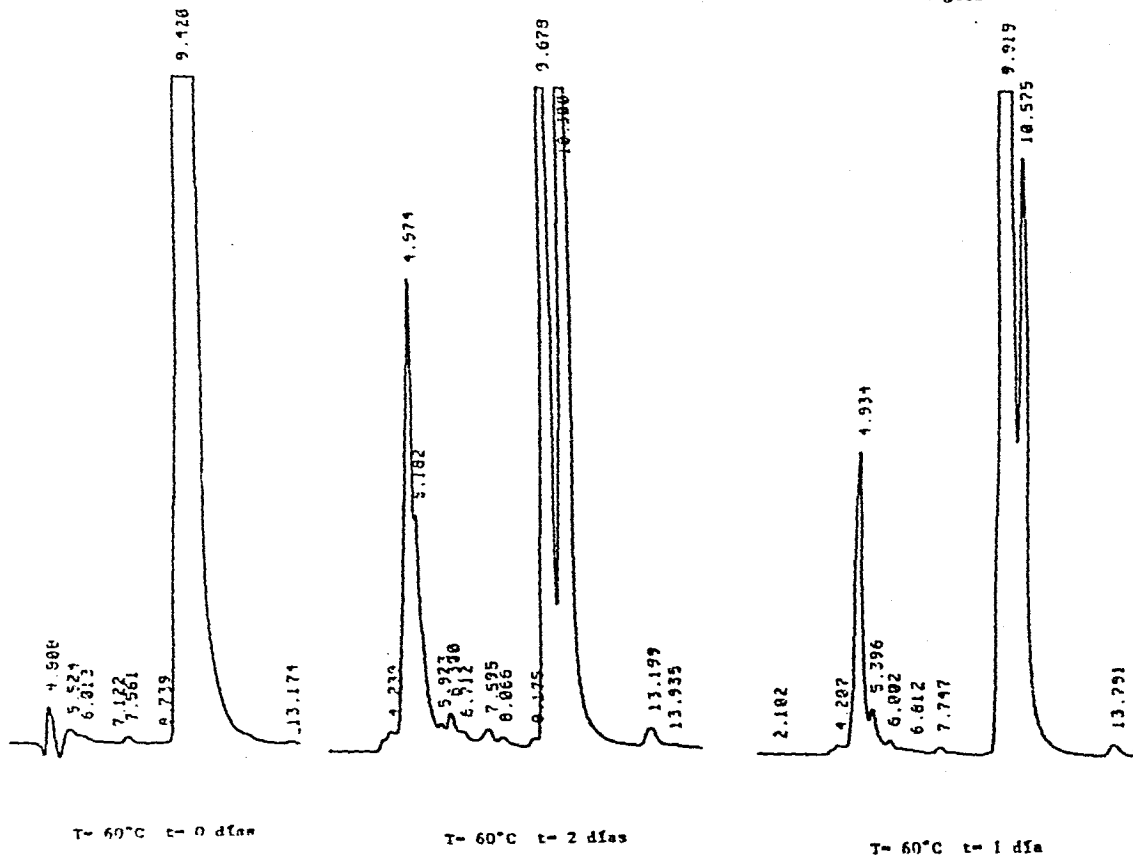
$T = 20^\circ\text{C}$ $t = 34$ dias

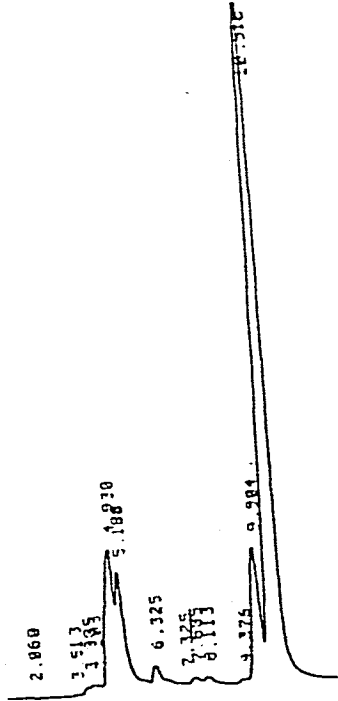
Cefazolina en Solución Estéril



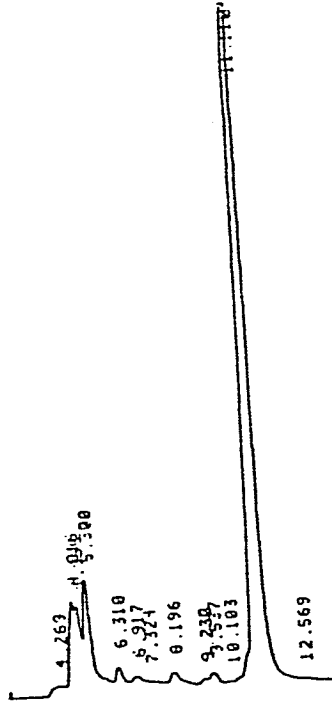


Cefazolina en Soluci6n Salina Fisiol6gica

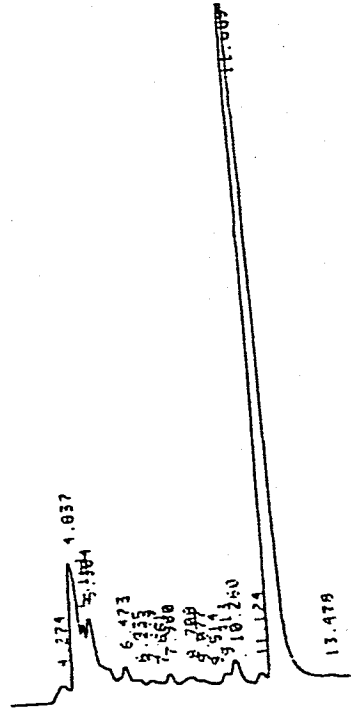




T= 60°C t= 3 dias

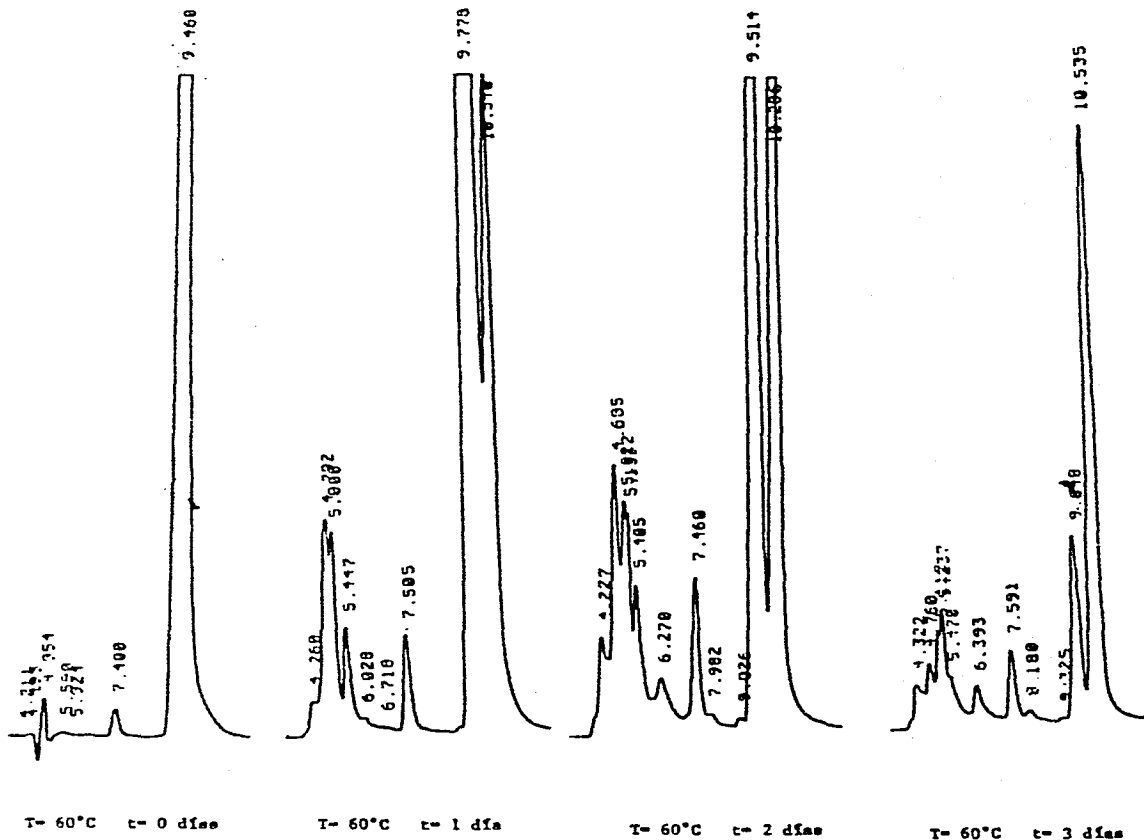


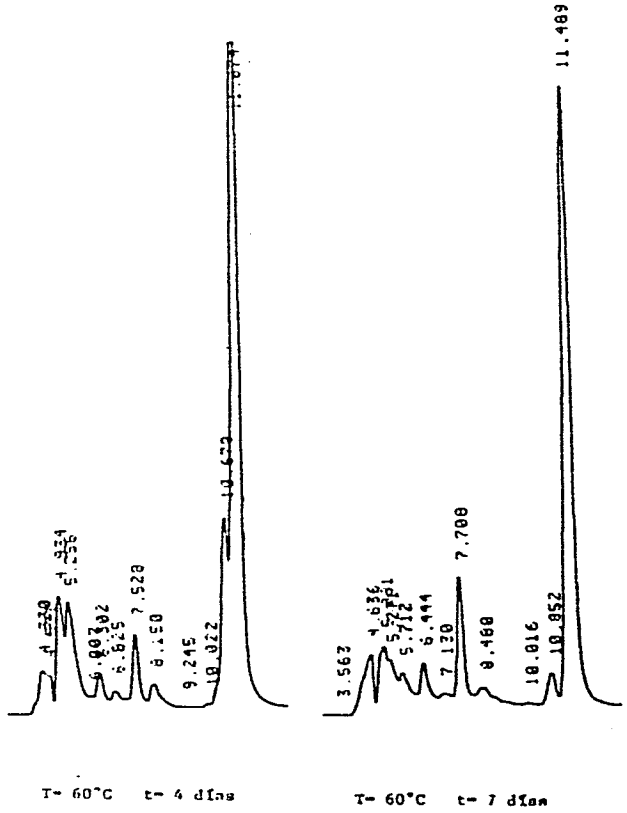
T= 60°C t= 4 dias



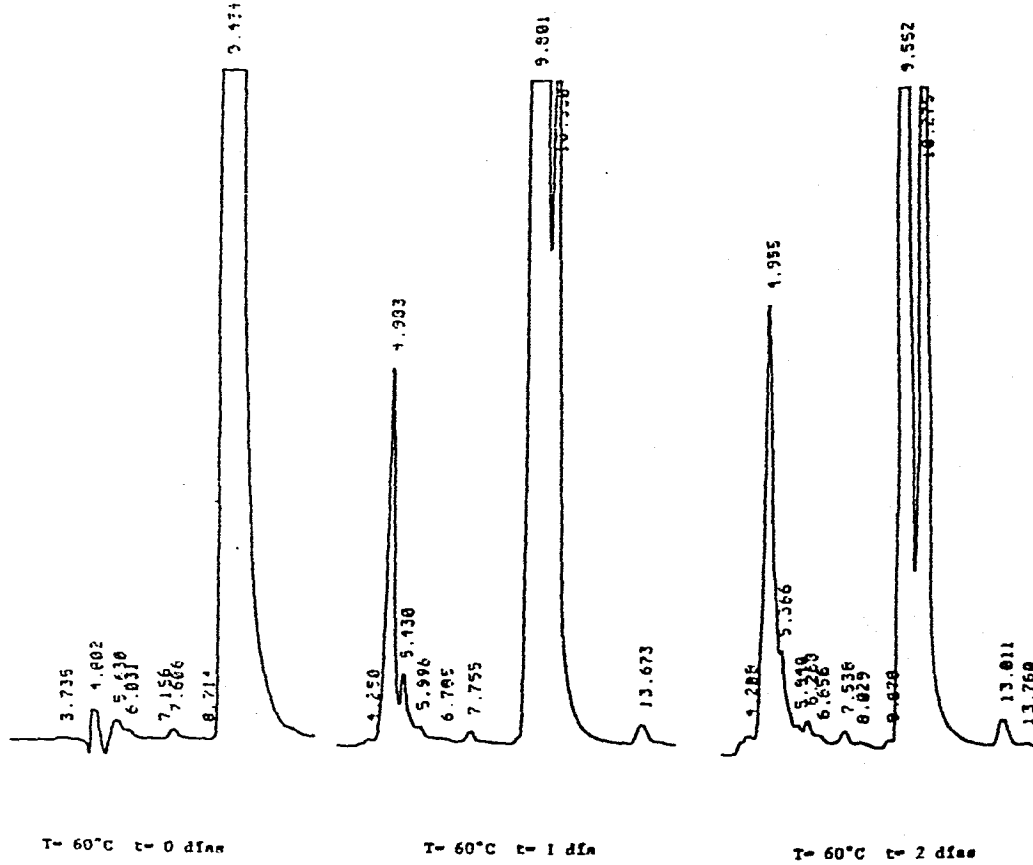
T= 60°C t= 7 dias

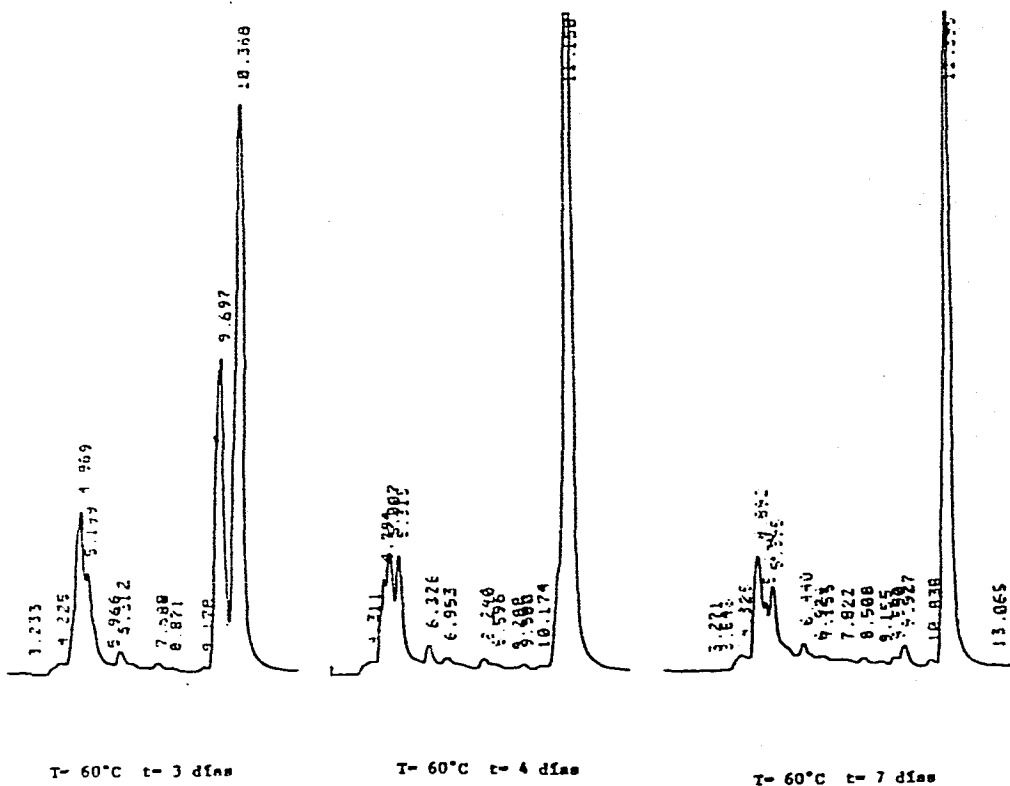
Cefazolina en Dextrosa

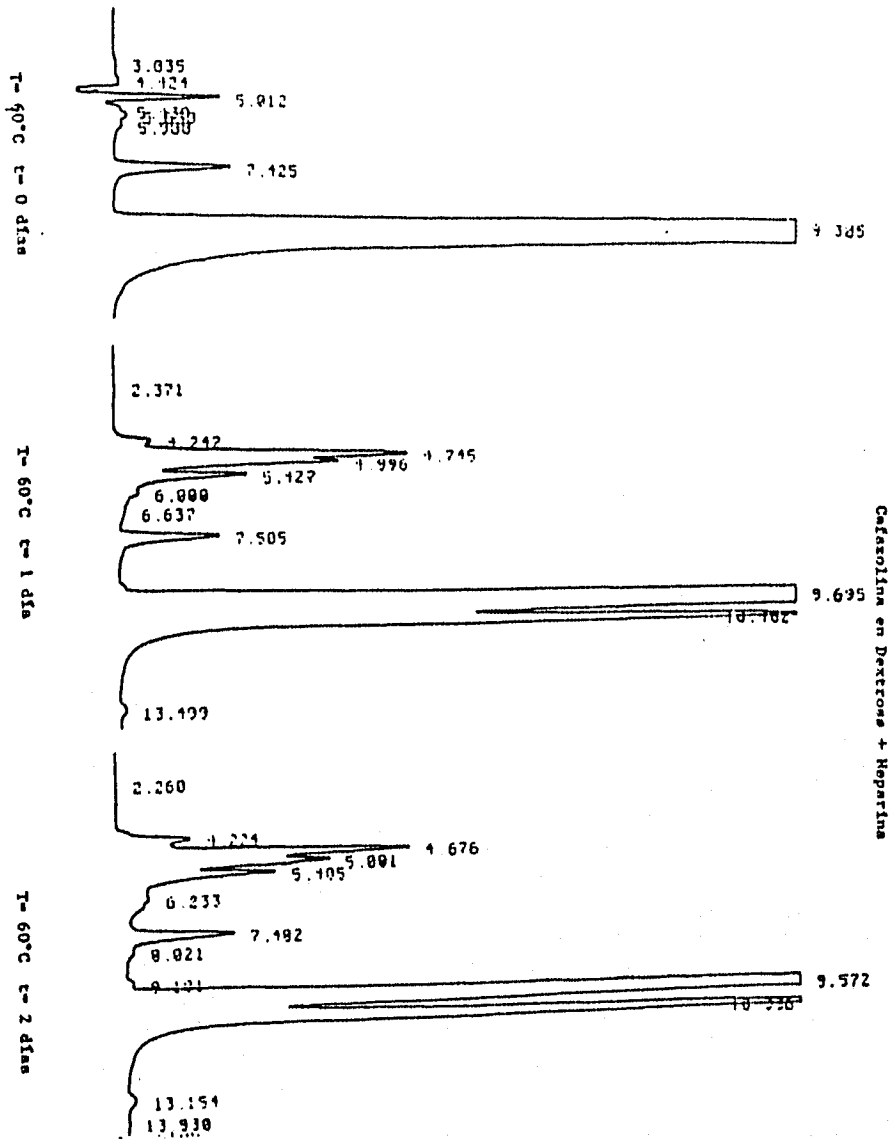




Cefazolina en Solución Salina Fisiológica + Heparina



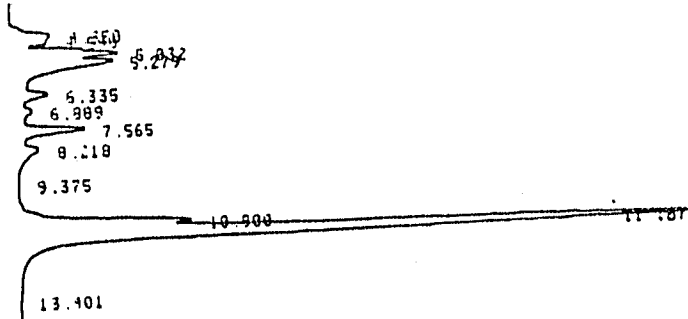




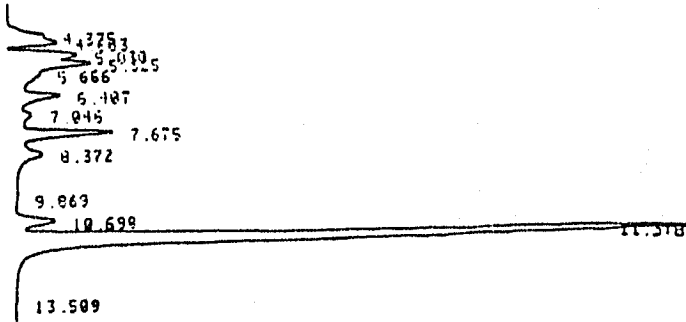
T= 60°C c= 3 dias



T= 60°C c= 4 dias



T= 60°C c= 7 dias



ESPECTROFOTOMETRIA

A continuación se presentan las tablas que contienen los resultados de la regresión lineal aplicada a cada grupo de datos obtenidos por el método de Espectrofotometría UV/Visible.

Dichos resultados no fueron tratados para conocer la estabilidad de la Cefazolina de sodio debido a que no son adecuados para la aplicación de los métodos utilizados con este fin.

Temperatura= 5°C

Solución	Orden 0	1° Orden
Cefazolina +SE	$r = -0.5866$ $r^2 = 0.3441$	$r = 0.5811$ $r^2 = 0.3377$
Cefazolina + SSF	$r = 0.2316$ $r^2 = 0.0536$	$r = 0.2346$ $r^2 = 0.0550$
Cefazolina + Dw	$r = -0.8972$ $r^2 = 0.8050$	$r = 0.8878$ $r^2 = 0.7883$
Cefazolina + Heparina + SSF	$r = -0.1444$ $r^2 = 0.0208$	$r = -0.1413$ $r^2 = 0.0199$
Cefazolina + Heparina + Dw	$r = -0.9133$ $r^2 = 0.8341$	$r = -0.9076$ $r^2 = 0.8238$
Cefazolina + Buffer + SSF	$r = -0.4618$ $r^2 = 0.2133$	$r = -0.4589$ $r^2 = 0.2106$
Cefazolina + Buffer + Dw	$r = -0.9191$ $r^2 = 0.8448$	$r = -0.9157$ $r^2 = 0.8385$
Cefazolina + Heparina +Buffer + SSF	$r = -0.7436$ $r^2 = 0.5529$	$r = -0.7438$ $r^2 = 0.5532$
Cefazolina + Heparina +Buffer + Dw	$r = -0.7178$ $r^2 = 0.5153$	$r = -0.7173$ $r^2 = 0.5145$

Temperatura = 20°C

Solución	Orden 0	1° Orden
Cefazolina + SE	$r = -0.7799$ $r^2 = 0.6083$	$r = -0.7854$ $r^2 = 0.6168$
Cefazolina + SSF	$r = -0.7022$ $r^2 = 0.4931$	$r = -0.7015$ $r^2 = 0.4921$
Cefazolina + Dw	$r = -0.9626$ $r^2 = 0.9267$	$r = -0.9311$ $r^2 = 0.8670$
Cefazolina + Heparina + SSF	$r = -0.9600$ $r^2 = 0.9217$	$r = -0.9668$ $r^2 = 0.9342$
Cefazolina + Heparina + Dw	$r = -0.9724$ $r^2 = 0.9457$	$r = -0.9768$ $r^2 = 0.9542$
Cefazolina + Buffer + SSF	$r = -0.8630$ $r^2 = 0.7449$	$r = -0.7234$ $r^2 = 0.5233$
Cefazolina + Buffer + Dw	$r = -0.8501$ $r^2 = 0.7227$	$r = -0.8601$ $r^2 = 0.7398$
Cefazolina + Heparina + Buffer + SSF	$r = -0.8758$ $r^2 = 0.7671$	$r = -0.8799$ $r^2 = 0.7742$
Cefazolina + Heparina + Buffer + Dw	$r = -0.7785$ $r^2 = 0.6062$	$r = -0.7842$ $r^2 = 0.6149$

Temperatura = 35°C

Solución	Orden 0	1° Orden
Cefazolina + SE	$r = 0.8115$ $r^2 = 0.6586$	$r = 0.8151$ $r^2 = 0.6645$
Cefazolina + SSF	$r = 0.8368$ $r^2 = 0.7003$	$r = 0.8614$ $r^2 = 0.7420$
Cefazolina + Dw	$r = 0.4371$ $r^2 = 0.1910$	$r = 0.3800$ $r^2 = 0.1444$
Cefazolina + Heparina + SSF	$r = 0.8471$ $r^2 = 0.7175$	$r = 0.8587$ $r^2 = 0.7373$
Cefazolina + Heparina + Dw	$r = -0.5870$ $r^2 = 0.3446$	$r = -0.5900$ $r^2 = 0.3481$
Cefazolina + Buffer + SSF	$r = -0.9619$ $r^2 = 0.9253$	$r = -0.9726$ $r^2 = 0.9461$
Cefazolina + Buffer + Dw	$r = 0.6899$ $r^2 = 0.4760$	$r = 0.7130$ $r^2 = 0.5084$
Cefazolina + Heparina + Buffer + SSF	$r = 0.8605$ $r^2 = 0.7405$	$r = 0.8799$ $r^2 = 0.7743$
Cefazolina + Heparina + Buffer + Dw	$r = -0.9762$ $r^2 = 0.9530$	$r = -0.9835$ $r^2 = 0.9673$

Temperatura = 50°C

Solución	Orden 0	1° Orden
Cefazolina + SE	$r = -0.5981$ $r^2 = 0.3577$	$r = -0.5724$ $r^2 = 0.3277$
Cefazolina + SSF	$r = -0.2423$ $r^2 = 0.0587$	$r = -0.1768$ $r^2 = 0.0312$
Cefazolina + Dw	$r = 0.9279$ $r^2 = 0.8610$	$r = 0.9335$ $r^2 = 0.8715$
Cefazolina + Heparina + SSF	$r = 0.3465$ $r^2 = 0.1200$	$r = 0.3224$ $r^2 = 0.1039$
Cefazolina + Heparina + Dw	$r = 0.8053$ $r^2 = 0.6486$	$r = 0.8312$ $r^2 = 0.6909$
Cefazolina + Buffer + SSF	$r = -0.2382$ $r^2 = 0.0567$	$r = -0.1264$ $r^2 = 0.0159$
Cefazolina + Buffer + Dw	$r = 0.1672$ $r^2 = 0.0279$	$r = 0.2066$ $r^2 = 0.0427$
Cefazolina + Heparina + Buffer + SSF	$r = 0.3414$ $r^2 = 0.1165$	$r = 0.2992$ $r^2 = 0.0895$
Cefazolina + Heparina + Buffer + Dw	$r = 0.6812$ $r^2 = 0.4640$	$r = 0.6513$ $r^2 = 0.4241$

Temperatura = 60°C

Solución	Orden 0	1° Orden
Cefazolina + SE	$r = 0.6403$ $r^2 = 0.4100$	$r = 0.6239$ $r^2 = 0.3892$
Cefazolina + SSF	$r = 0.8111$ $r^2 = 0.6580$	$r = 0.8490$ $r^2 = 0.7208$
Cefazolina + Dw	$r = 0.9432$ $r^2 = 0.8896$	$r = 0.9466$ $r^2 = 0.8960$
Cefazolina + Heparina + SSF	$r = 0.6808$ $r^2 = 0.4635$	$r = 0.7098$ $r^2 = 0.5039$
Cefazolina + Heparina + Dw	$r = 0.9243$ $r^2 = 0.8543$	$r = 0.9448$ $r^2 = 0.8927$
Cefazolina + Buffer + SSF	$r = 0.5188$ $r^2 = 0.2692$	$r = 0.5399$ $r^2 = 0.2914$
Cefazolina + Buffer + Dw	$r = 0.9553$ $r^2 = 0.9127$	$r = 0.9210$ $r^2 = 0.8483$
Cefazolina + Heparina + Buffer + SSF	$r = -0.0290$ $r^2 = 8.4 \times 10^{-4}$	$r = 0.1059$ $r^2 = 0.0112$
Cefazolina + Heparina + Buffer + Dw	$r = 0.8804$ $r^2 = 0.7757$	$r = 0.9093$ $r^2 = 0.8268$

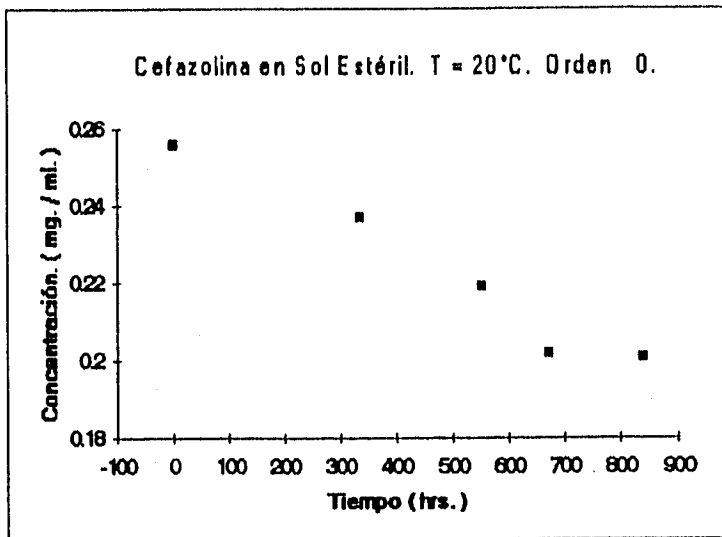
DETERMINACION DEL ORDEN DE DESCOMPOSICION

Para poder determinar el orden de reacción que sigue la descomposición de cefazolina en las diferentes soluciones, se procedió a manejar los datos experimentales obtenidos por cromatografía (dichos datos se manejaron por triplicado, pero sólo se graficó el promedio de estos), para probar en que orden se obtenía una mejor regresión lineal y así determinar el orden correspondiente.

CEFAZOLINA EN SOLUCION ESTERIL.

T = 20°C. ORDEN 0

Tiempo (hrs.)	Concentración. (mg. / ml.)
0	0.2561
336	0.237
552	0.2191
672	0.202
840	0.2009



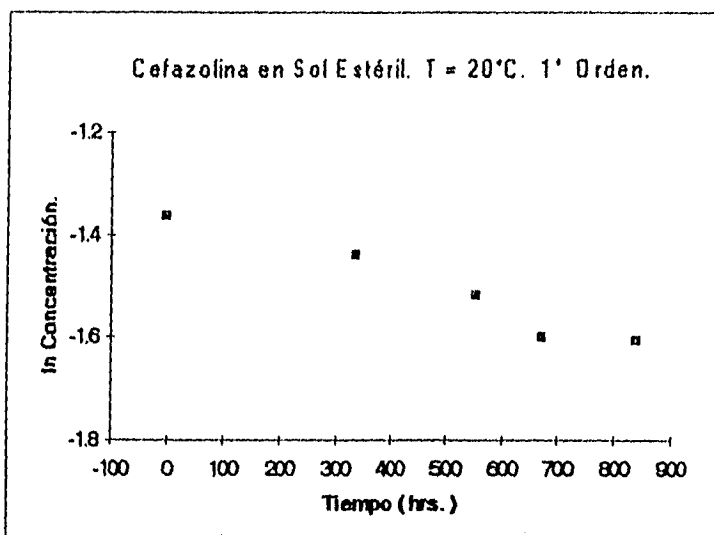
Regresión lineal:
m = -0.00007 mg / ml hr
b = 0.25728 mg / ml
r = -0.9812
r² = 0.9612

CEFAZOLINA EN SOLUCION ESTERIL.

T = 20°C

1° ORDEN.

Tiempo (hrs.)	ln Concentración.
0	-1.3621
336	-1.4396
552	-1.5182
672	-1.5994
840	-1.6049



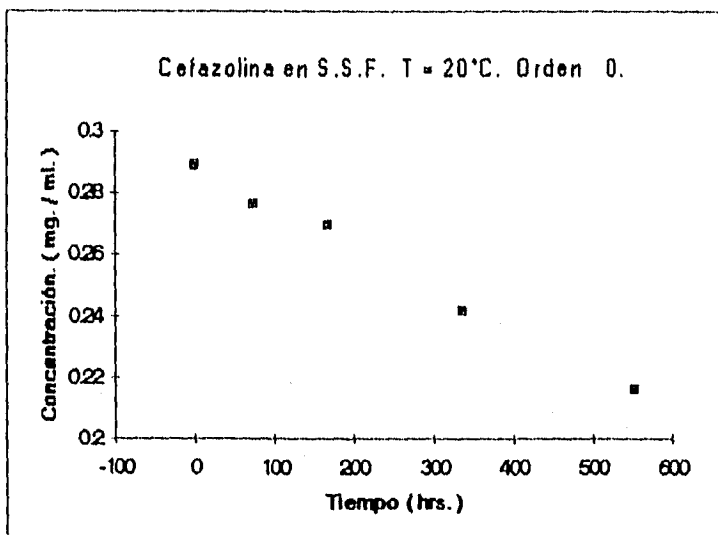
Regresión lineal:
$m = -0.0003 \text{ hr}^{-1}$
$b = -1.3637$
$r = -0.9781$
$r^2 = 0.9557$

CEFAZOLINA EN SOLUCION SALINA FISIOLÓGICA.

T = 20°C.

ORDEN 0.

Tiempo (hrs.)	Concentración. (mg. / ml.)
0	0.2891
72	0.2764
168	0.2693
336	0.2416
552	0.2163



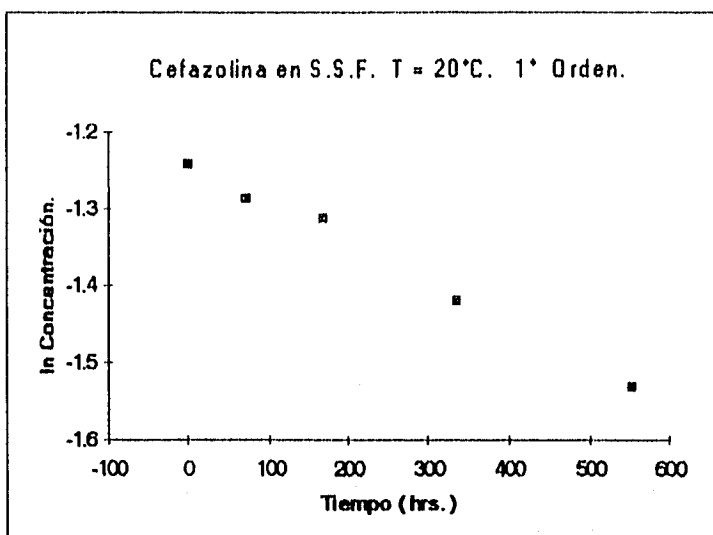
Regresión lineal:
$m = -0.0001 \text{ mg / ml hr}$
$b = 0.2882 \text{ mg / ml}$
$r = -0.9986$
$r^2 = 0.9933$

CEFAZOLINA EN SOLUCION SALINA FISIOLÓGICA.

T = 20°C.

1° ORDEN.

Tiempo (hrs.)	ln Concentración.
0	-1.2409
72	-1.2859
168	-1.3119
336	-1.4204
552	-1.531



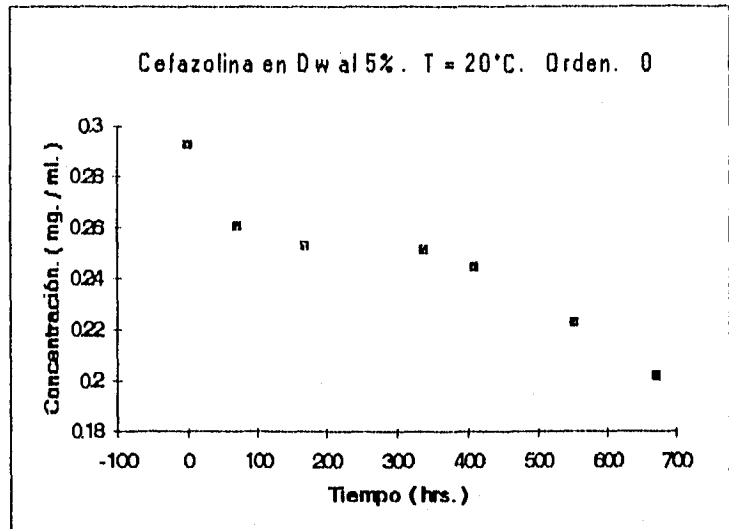
Regresión lineal:
$m = -0.0005 \text{ hr}^{-1}$
$b = -1.2392$
$r = -0.9968$
$r^2 = 0.9936$

CEFAZOLINA EN DEXTROSA AL 5%.

T = 20°C.

ORDEN 0.

Tiempo (hrs.)	Concentración. (mg. / ml.)
0	0.2929
72	0.2604
168	0.2529
336	0.2508
408	0.2449
552	0.2227
672	0.2019



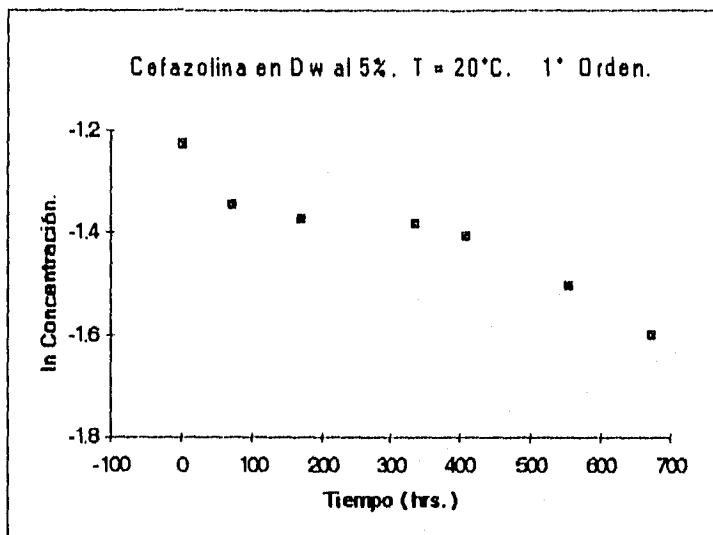
Regresión lineal:
m = -0.0001 mg / ml hr
b = 0.2809 mg / ml
r = -0.9430
r ² = 0.8893

CEFAZOLINA EN DEXTROSA AL 5%.

T = 20°C.

1° ORDEN.

Tiempo (hrs.)	ln Concentración.
0	-1.2279
72	-1.3455
168	-1.3747
336	-1.383
408	-1.4069
552	-1.5019
672	-1.5998



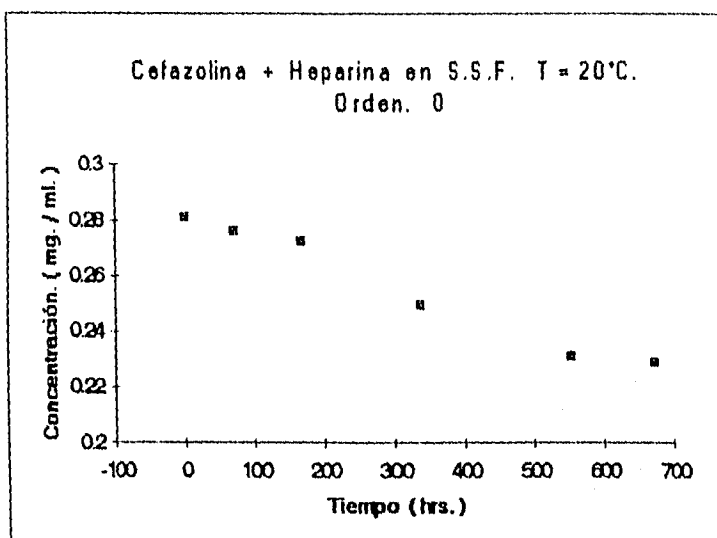
Regresión lineal:
$m = -0.0004 \text{ hr}^{-1}$
$b = -1.2643$
$r = -0.9455$
$r^2 = 0.8939$

CEFAZOLINA + HEPARINA EN S.S.F.

T = 20°C.

ORDEN 0.

Tiempo (hrs.)	Concentración. (mg./ml.)
0	0.2813
72	0.2764
168	0.2726
336	0.2497
552	0.2313
672	0.2291



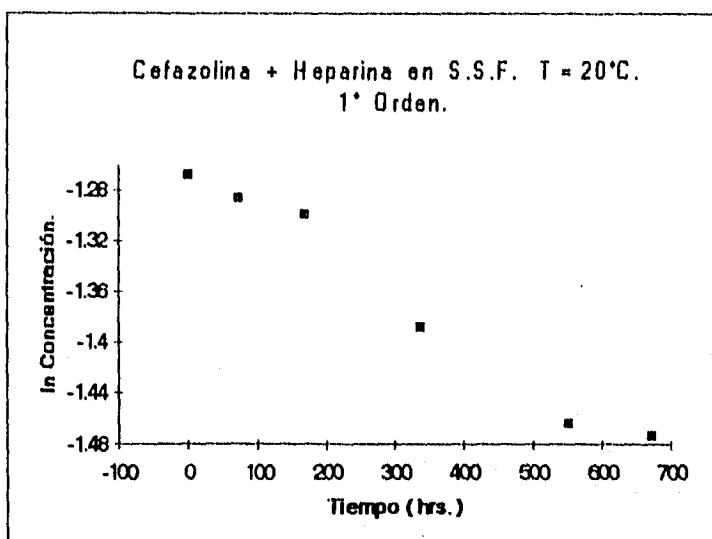
Regresión lineal:
$m = -0.00009 \text{ mg / ml hr}$
$b = 0.2822 \text{ mg / ml}$
$r = -0.9869$
$r^2 = 0.9739$

CEFAZOLINA + HEPARINA EN S.S.F.

T = 20°C.

1° ORDEN.

Tiempo (hrs.)	In Concentración.
0	-1.2683
72	-1.2859
168	-1.2997
336	-1.3874
552	-1.464
672	-1.4735



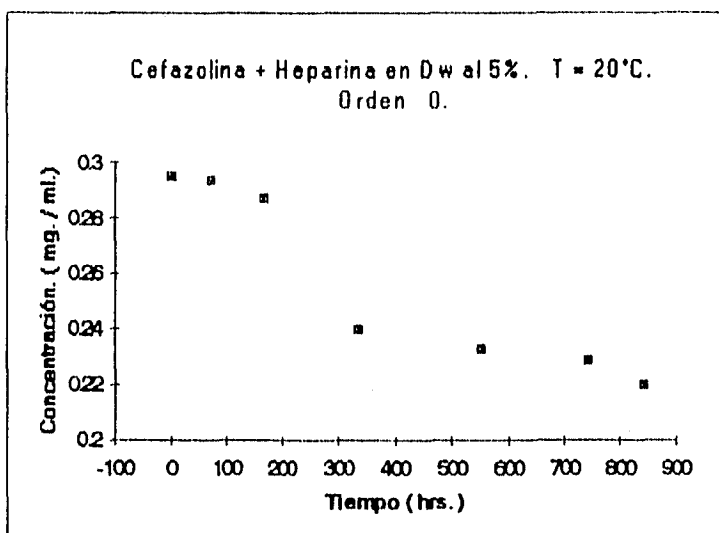
Regresión lineal:
$m = -0.0003 \text{ hr}^{-1}$
$b = -1.2623$
$r = -0.9877$
$r^2 = 0.9755$

CEFAZOLINA + HEPARINA EN DW. AL 5%.

T = 20°C.

ORDEN 0.

Tiempo (hrs.)	Concentración. (mg. / ml.)
0	0.2949
72	0.2933
168	0.2869
336	0.2392
552	0.2323
744	0.2285
840	0.2198



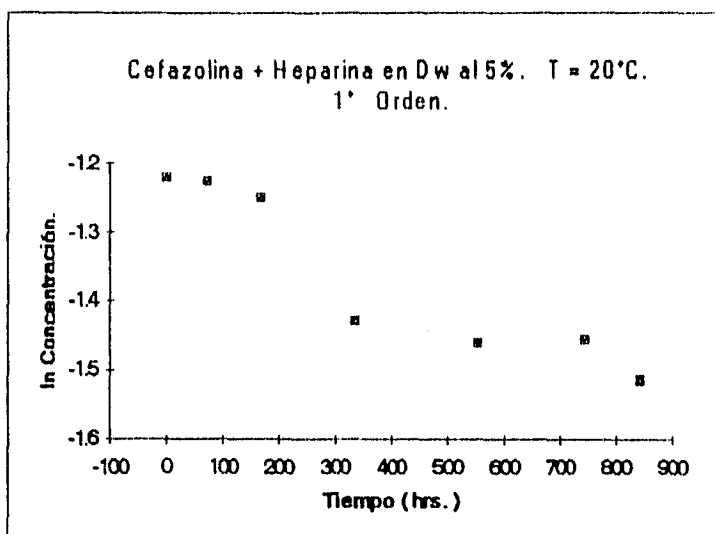
Regresión lineal:
m = -0.0001 mg / ml hr
b = 0.2933 mg / ml
r = -0.9406
r ² = 0.8847

CEFAZOLINA + HEPARINA EN DW. AL 5%.

T = 20°C.

1° ORDEN.

Tiempo (hrs.)	In Concentración.
0	-1.2211
72	-1.2265
168	-1.2486
336	-1.4304
552	-1.4597
744	-1.4762
840	-1.515



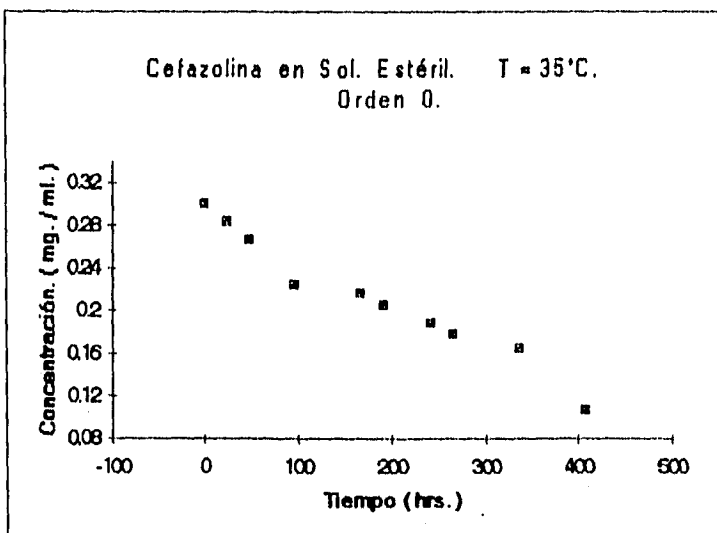
Regresión lineal:
$m = -0.00037 \text{ hr}^{-1}$
$b = -1.2243$
$r = -0.9461$
$r^2 = 0.9141$

CEFAZOLINA EN SOLUCION ESTERIL.

T = 35°C.

ORDEN 0.

Tiempo (hrs.)	Concentración. (mg./ml.)
0	0.3003
24	0.2842
48	0.2663
96	0.2251
168	0.2161
192	0.2043
240	0.1874
264	0.1787
336	0.1645
408	0.1062



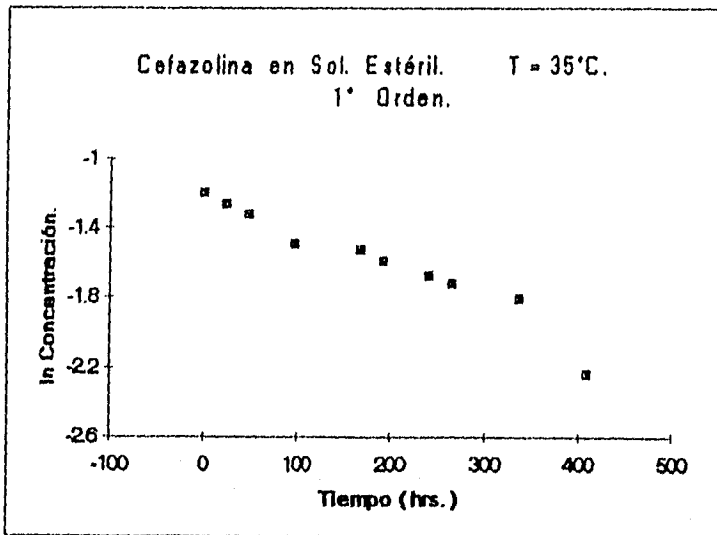
Regresión lineal:
$m = -0.00042 \text{ mg / ml hr}$
$b = 0.2885 \text{ mg / ml}$
$r = -0.9817$
$r^2 = 0.9638$

CEFAZOLINA EN SOLUCION ESTERIL.

T = 35°C.

1° ORDEN.

Tiempo (hrs.)	ln Concentración.
0	-1.2026
24	-1.2579
48	-1.3228
96	-1.4008
168	-1.532
192	-1.5879
240	-1.6744
264	-1.7217
336	-1.8042
408	-2.2418



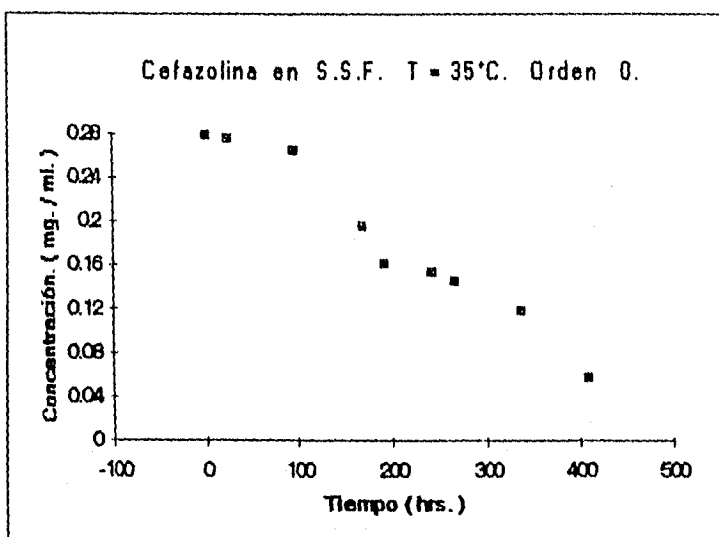
Regresión lineal:
$m = -0.0021 \text{ hr}^{-1}$
$b = -1.1999$
$r = -0.9673$
$r^2 = 0.9358$

CEFAZOLINA EN SOLUCION SALINA FISIOLÓGICA.

T = 35°C.

ORDEN 0.

Tiempo (hrs.)	Concentración. (mg. / ml.)
0	0.2784
24	0.2747
96	0.265
168	0.1963
192	0.1615
240	0.1531
264	0.146
336	0.118
408	0.0574



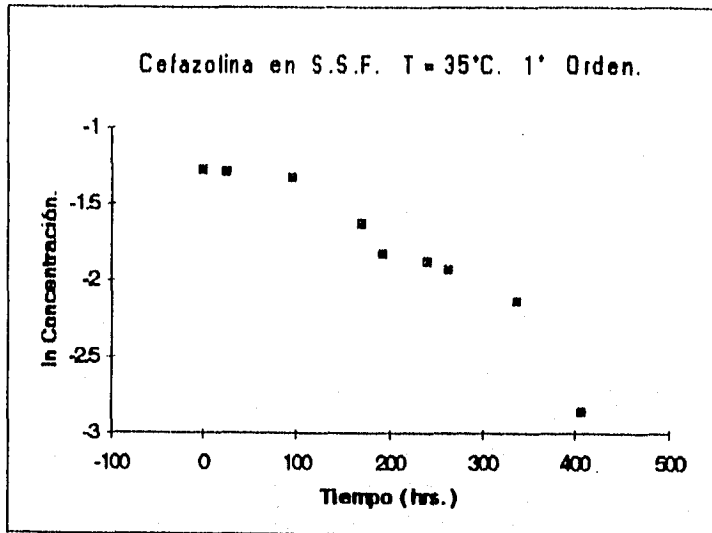
Regresión lineal:
$m = -0.00055 \text{ mg / ml hr}$
$b = 0.2891 \text{ mg / ml}$
$r = -0.9819$
$r^2 = 0.9643$

CEFAZOLINA EN SOLUCION SALINA FISIOLÓGICA.

T = 35°C.

1° ORDEN.

Tiempo (hrs.)	In Concentración.
0	-1.2786
24	-1.2919
96	-1.3279
168	-1.6278
192	-1.8226
240	-1.8761
264	-1.9235
336	-2.1367
408	-2.8568



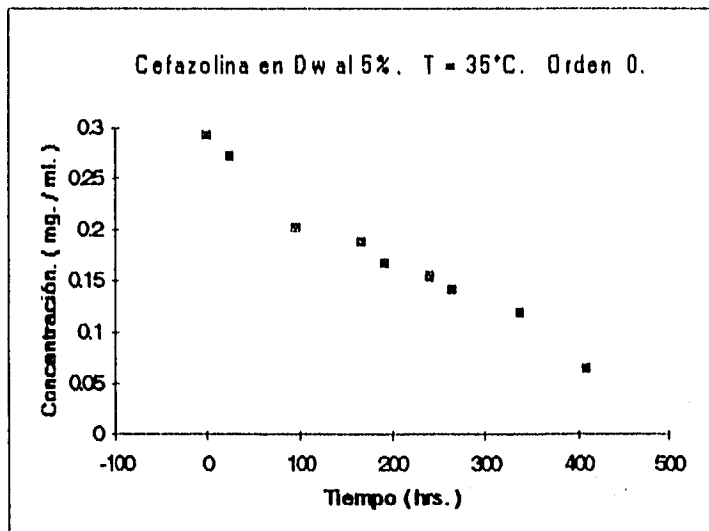
Regresión lineal:
m = -0.0035 hr ⁻¹
b = -1.1214
r = -0.9498
r ² = 0.9021

CEFAZOLINA EN DEXTROSA AL 5%.

T = 35°C.

ORDEN 0.

Tiempo (hrs.)	Concentración. (mg. / ml.)
0	0.292
24	0.2722
96	0.2021
168	0.188
192	0.1672
240	0.1545
264	0.1416
336	0.1191
408	0.0634



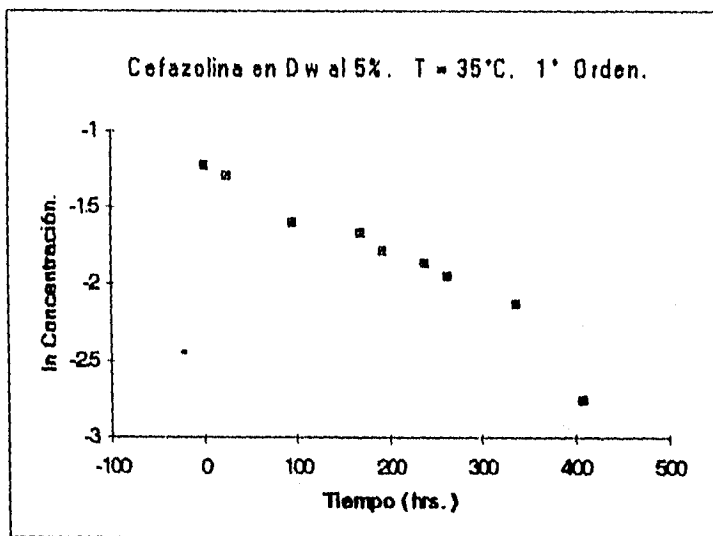
Regresión lineal:
m = -0.00051 mg / ml hr
b = 0.2768 mg / ml
r = -0.9841
r ² = 0.9685

CEFAZOLINA EN DEXTROSA AL 5%.

T = 35°C.

1° ORDEN.

Tiempo (hrs.)	ln Concentración.
0	-1.2308
24	-1.301
96	-1.5985
168	-1.8712
192	-1.7882
240	-1.8673
264	-1.9544
336	-2.1217
408	-2.7575



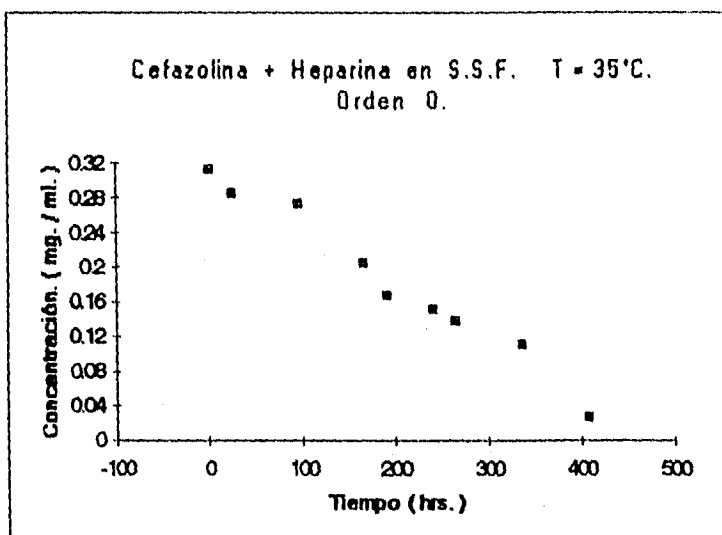
Regresión lineal:
$m = -0.0032 \text{ hr}^{-1}$
$b = -1.1903$
$r = -0.9641$
$r^2 = 0.9295$

CEFAZOLINA + HEPARINA EN S.S.F.

T = 35°C.

ORDEN 0.

Tiempo (hrs.)	Concentración. (mg. / ml.)
0	0.3128
24	0.2851
96	0.2725
168	0.2058
192	0.168
240	0.1524
264	0.139
336	0.1106
408	0.0268



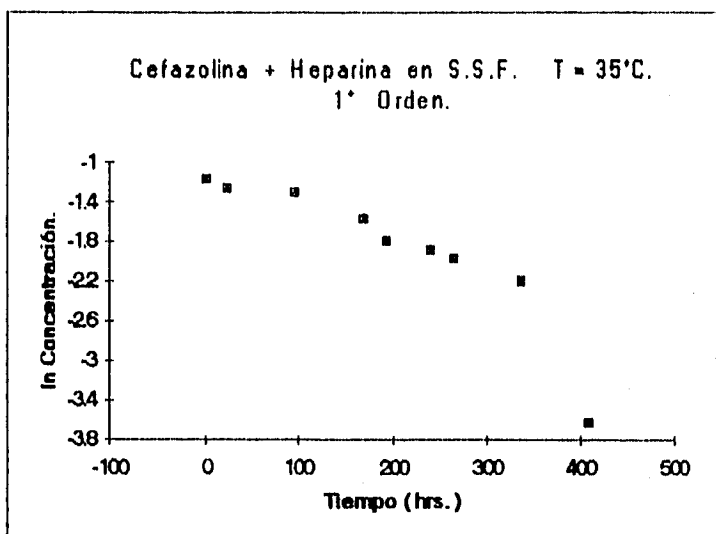
Regresión lineal:
$m = -0.00087 \text{ mg / ml hr}$
$b = 0.3141 \text{ mg / ml}$
$r = -0.9877$
$r^2 = 0.9755$

CEFAZOLINA + HEPARINA EN S.S.F.

T = 35°C.

1° ORDEN.

Tiempo (hrs.)	ln Concentración.
0	-1.1619
24	-1.2548
96	-1.2999
168	-1.5806
192	-1.7832
240	-1.8811
264	-1.9732
336	-2.2011
408	-3.6157



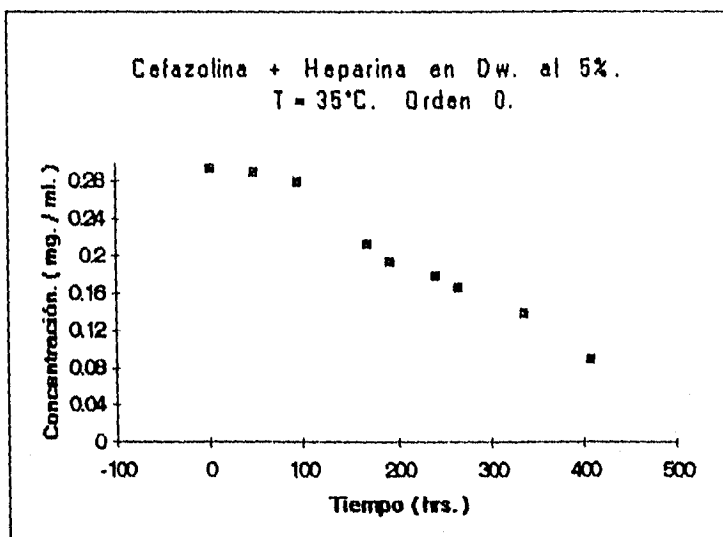
Regresión lineal:
m = -0.0049 hr ⁻¹
b = -0.9206
r = -0.8974
r ² = 0.8053

CEFAZOLINA + HEPARINA EN DW. AL 5%.

T = 35°C.

ORDEN 0.

Tiempo (hrs.)	Concentración. (mg. / ml.)
0	0.2932
48	0.2885
96	0.2784
168	0.2118
192	0.1928
240	0.1781
264	0.1669
336	0.1374
408	0.0892



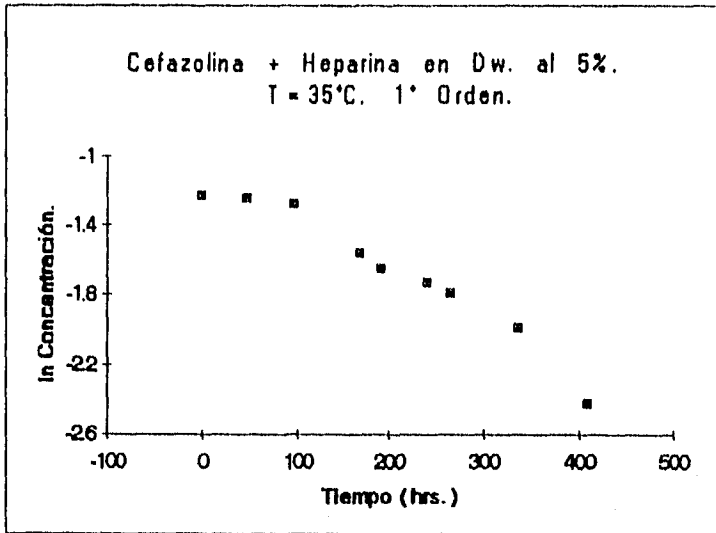
Regresión lineal:
m = -0.00053 mg / ml hr
b = 0.3086 mg / ml
r = -0.9875
r ² = 0.9751

CEFAZOLINA + HEPARINA EN Dw. AL 5%.

T = 35°C.

1° ORDEN.

Tiempo (hrs.)	In Concentración.
0	-1.2267
48	-1.243
96	-1.2783
168	-1.5519
192	-1.646
240	-1.7253
264	-1.79
336	-1.9842
408	-2.4159



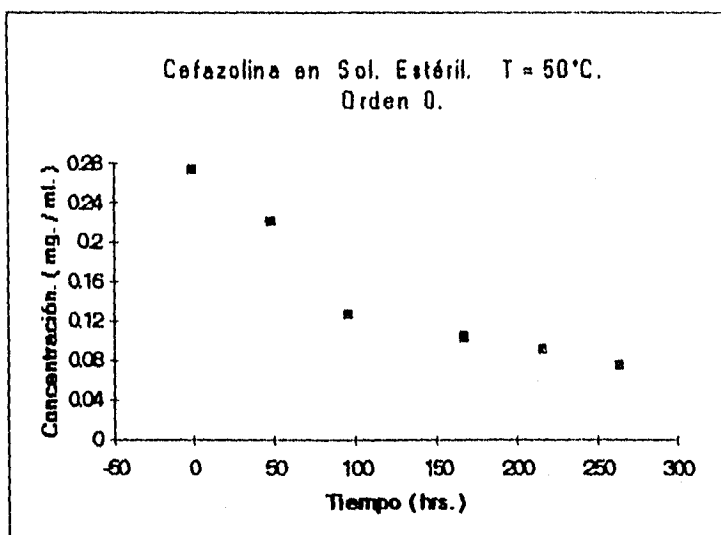
Regresión lineal:
m = -0.00285 hr⁻¹
b = -1.09666
r = -0.9742
r² = 0.9490

CEFAZOLINA EN SOLUCION ESTERIL.

T = 50°C.

ORDEN 0

Tiempo (hrs.)	Concentración. (mg. / ml.)
0	0.2742
48	0.2209
96	0.1276
168	0.1044
216	0.092
264	0.076



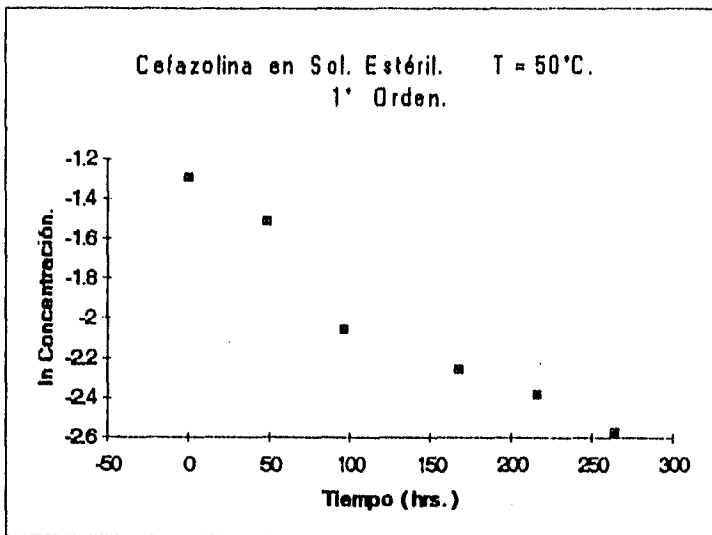
Regresión lineal:
$m = -0.00073 \text{ mg / ml hr}$
$b = 0.2460 \text{ mg / ml}$
$r = -0.9331$
$r^2 = 0.8708$

CEFAZOLINA EN SOLUCION ESTERIL.

T = 50°C.

1° ORDEN.

Tiempo (hrs.)	In Concentración.
0	-1.2938
48	-1.51
96	-2.0588
168	-2.2595
216	-2.3859
264	-2.5762



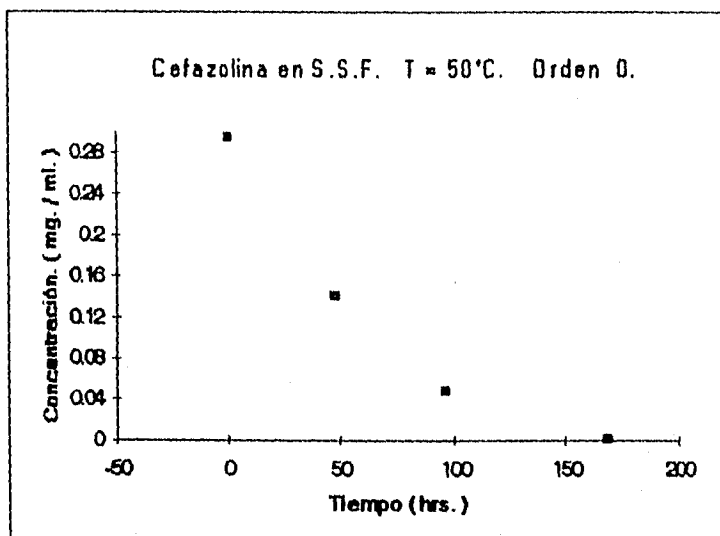
Regresión lineal:
$m = -0.0048 \text{ hr}^{-1}$
$b = -1.3737$
$r = -0.9699$
$r^2 = 0.9408$

CEFAZOLINA EN SOLUCION SALINA FISIOLÓGICA.

T = 50°C.

ORDEN 0

Tiempo (hrs.)	Concentración. (mg. / ml.)
0	0.2945
48	0.1404
96	0.0488
168	0.0016



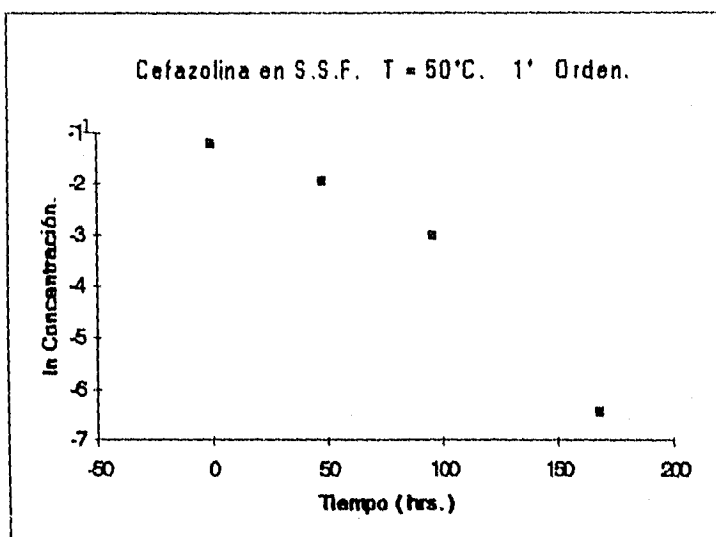
Regresión lineal:
$m = -0.0017 \text{ mg / ml hr}$
$b = 0.2537 \text{ mg / ml}$
$r = -0.9430$
$r^2 = 0.8892$

CEFAZOLINA EN SOLUCION SALINA FISIOLÓGICA.

T = 50°C.

1º ORDEN.

Tiempo (hrs.)	ln Concentración.
0	-1.2222
48	-1.963
96	-3.0193
168	-6.4288



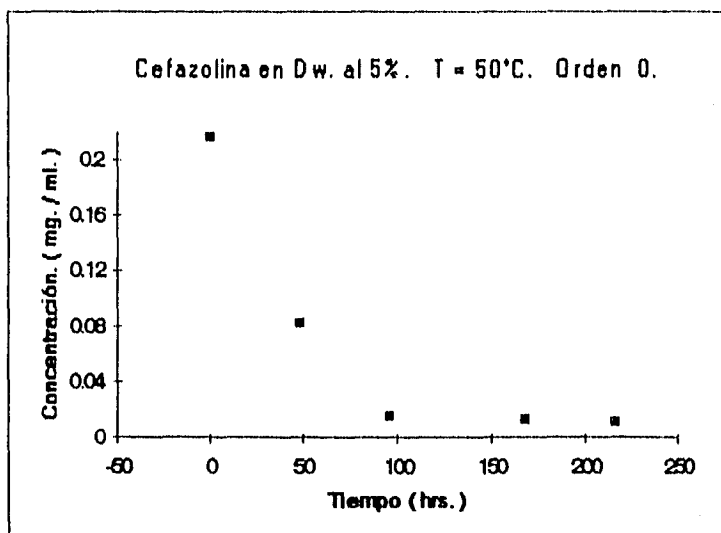
Regresión lineal:
m = -0.0310 hr ⁻¹
b = -0.7349
r = -0.9674
r ² = 0.9358

CEFAZOLINA EN DEXTROSA AL 5%.

T = 50°C.

ORDEN 0

Tiempo (hrs.)	Concentración. (mg. / ml.)
0	0.2169
48	0.0817
96	0.0157
168	0.0132
216	0.0122



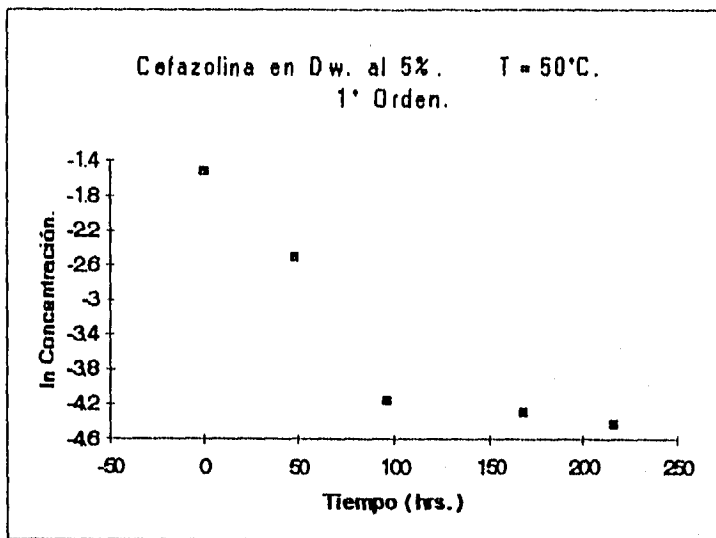
Regresión lineal:
$m = -0.0008 \text{ mg / ml hr}$
$b = 0.1561 \text{ mg / ml}$
$r = -0.8274$
$r^2 = 0.6845$

CEFAZOLINA EN DEXTROSA AL 5%.

T = 50°C.

1° ORDEN.

Tiempo (hrs.)	ln Concentración.
0	-1.5283
48	-2.5047
96	-4.154
168	-4.2886
216	-4.4063



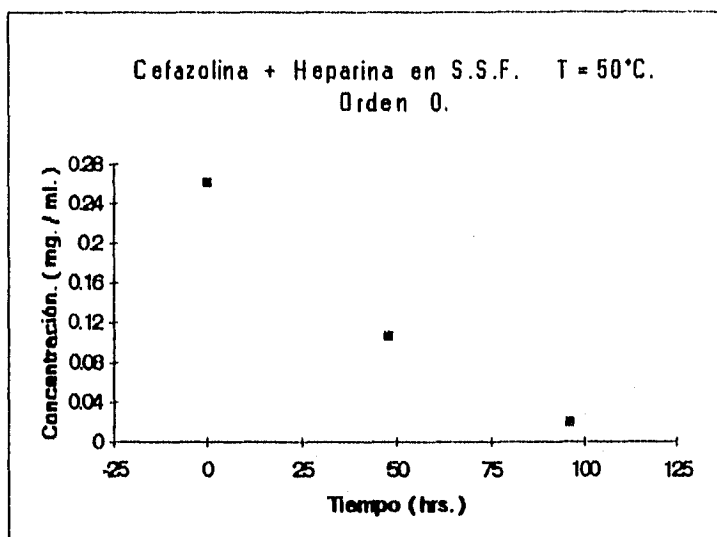
Regresión lineal:
$m = -0.0133 \text{ hr}^{-1}$
$b = -1.9685$
$r = -0.9034$
$r^2 = 0.8161$

CEFAZOLINA + HEPARINA EN S.S.F.

T = 50°C.

ORDEN 0.

Tiempo (hrs.)	Concentración. (mg. / ml.)
0	0.2624
48	0.1076
96	0.0199



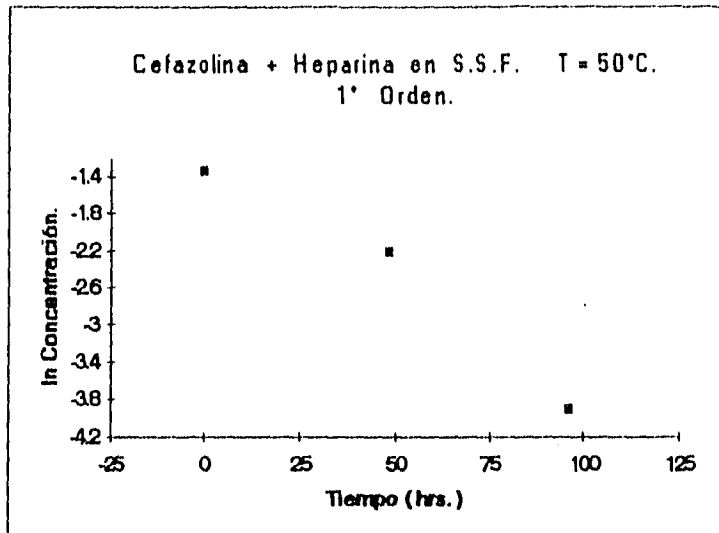
Regresión lineal:
m = -0.0025 mg / ml hr
b = 0.2512 mg / ml
r = -0.9874
r ² = 0.9751

CEFAZOLINA + HEPARINA EN S.S.F.

T = 50°C.

1° ORDEN.

Tiempo (hrs.)	ln Concentración.
0	-1.3378
48	-2.2293
96	-3.917



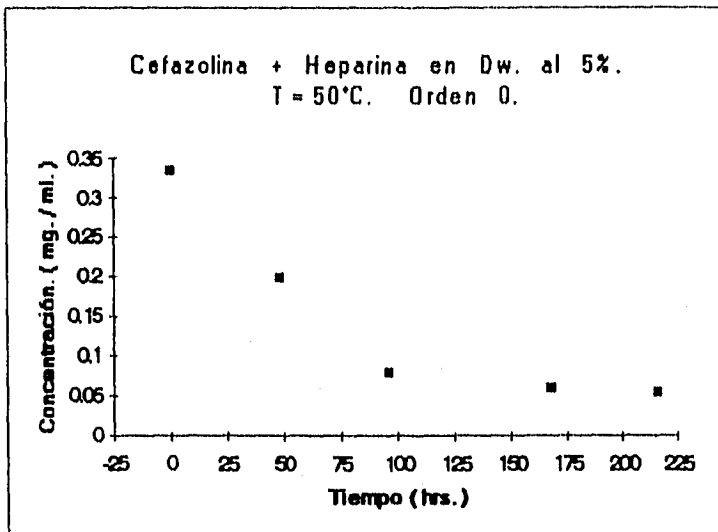
Regresión lineal:
m = -0.0268 hr⁻¹
b = -1.2051
r = -0.9844
r² = 0.9692

CEFAZOLINA + HEPARINA EN DW AL 5%.

T = 50°C.

ORDEN 0.

Tiempo (hrs.)	Concentración. (mg. / ml.)
0	0.3353
48	0.1991
96	0.079
168	0.0603
216	0.0537



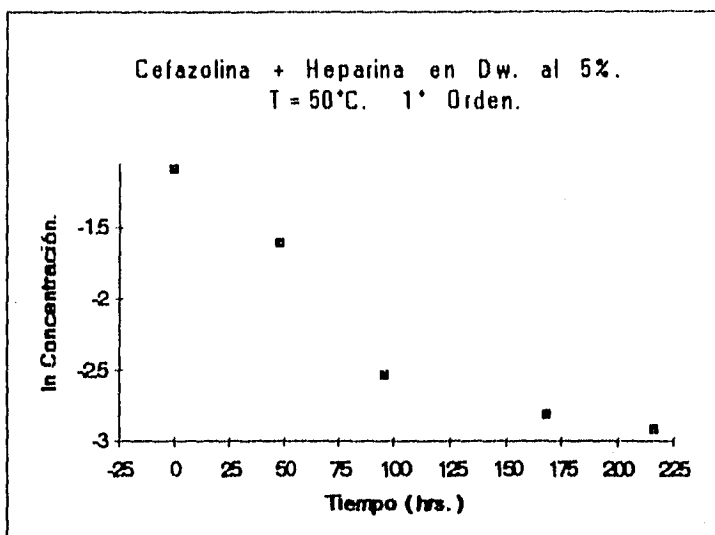
Regresión lineal:
$m = -0.0012 \text{ mg / ml hr}$
$b = 0.2762 \text{ mg / ml}$
$r = -0.8923$
$r^2 = 0.7861$

CEFAZOLINA + HEPARINA EN Dw. AL 5%.

T = 50°C.

1° ORDEN.

Tiempo (hrs.)	In Concentración.
0	-1.0927
48	-1.6139
96	-2.5383
168	-2.8084
216	-2.9234



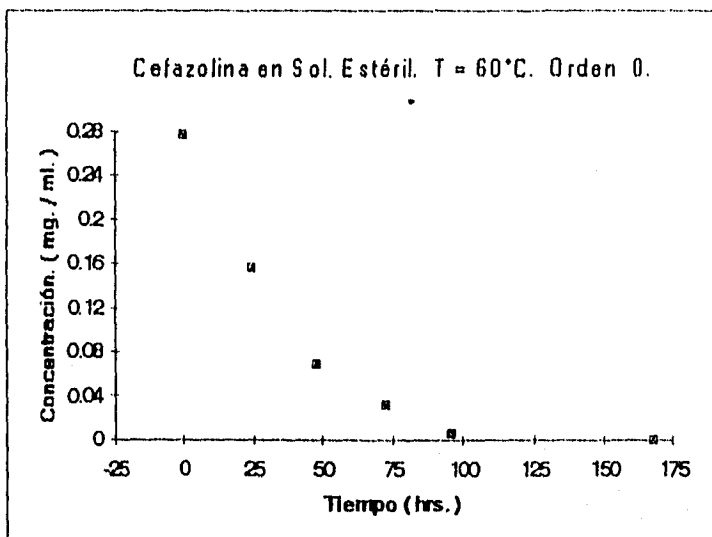
Regresión lineal:
$m = -0.0086 \text{ hr}^{-1}$
$b = -1.2811$
$r = -0.9439$
$r^2 = 0.8909$

CEFAZOLINA EN SOLUCION ESTERIL.

T = 60°C.

ORDEN 0.

Tiempo (hrs.)	Concentración. (mg./ml.)
0	0.2761
24	0.1569
48	0.0683
72	0.032
96	0.0054
168	0.0001



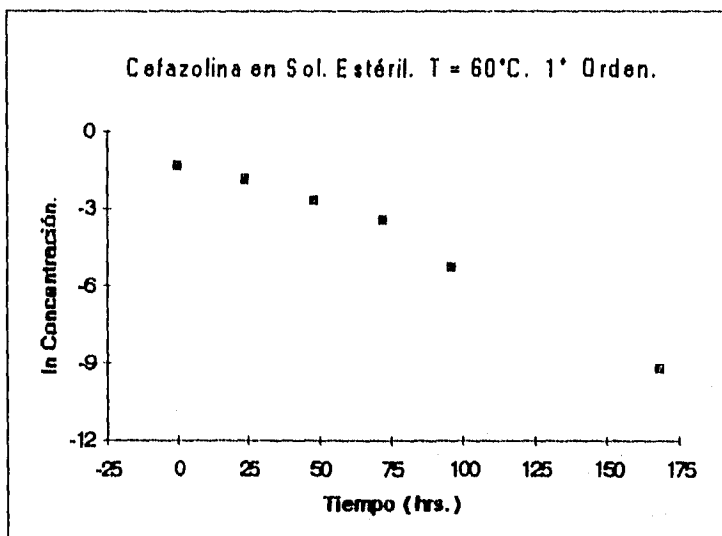
Regresión lineal:
$m = -0.0015 \text{ mg / ml hr}$
$b = 0.1922 \text{ mg / ml}$
$r = -0.8323$
$r^2 = 0.6927$

CEFAZOLINA EN SOLUCION ESTERIL.

T = 60°C.

1° ORDEN.

Tiempo (hrs.)	In Concentración.
0	-1.2868
24	-1.8517
48	-2.6838
72	-3.442
96	-5.2213
168	-9.2103



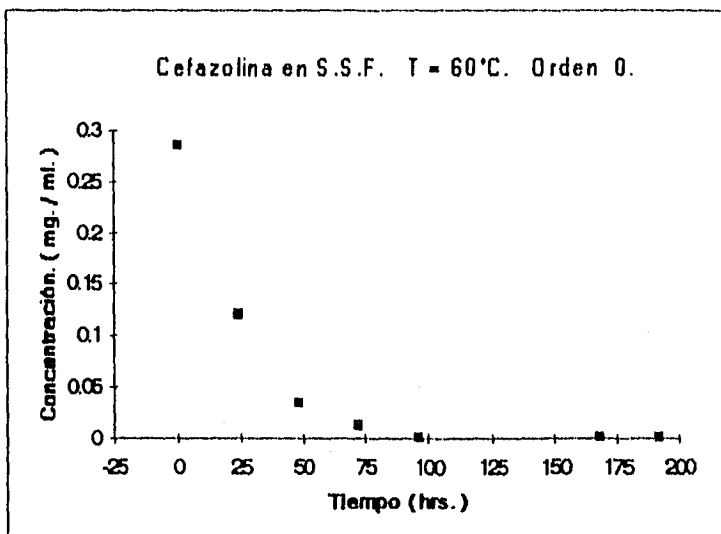
Regresión lineal:
$m = -0.0483 \text{ hr}^{-1}$
$b = -0.6628$
$r = -0.9863$
$r^2 = 0.9727$

CEFAZOLINA EN S.S.F.

T = 60°C.

ORDEN 0.

Tiempo (hrs.)	Concentración. (mg./ml.)
0	0.2866
24	0.1205
48	0.0355
72	0.0135
96	0.0022
168	0.0016
192	0.0014



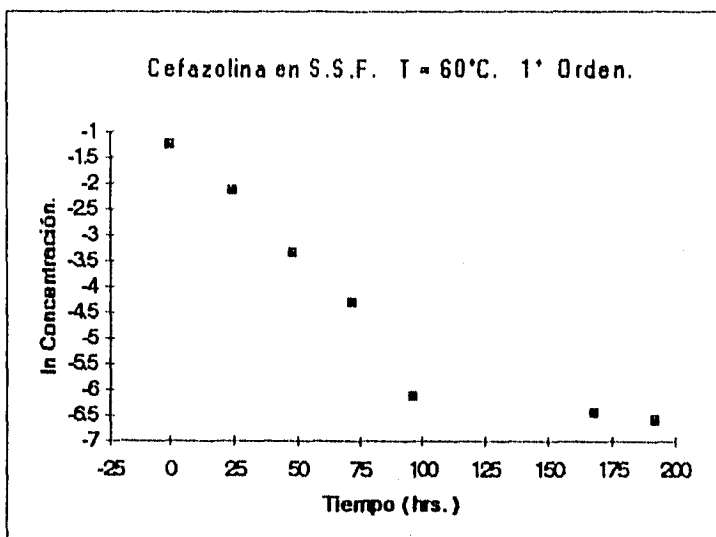
Regresión lineal:
$m = -0.0010 \text{ mg / ml hr}$
$b = 0.1579 \text{ mg / ml}$
$r = -0.7258$
$r^2 = 0.5267$

CEFAZOLINA EN S.S.F.

T = 60°C.

1° ORDEN.

Tiempo (hrs.)	ln Concentración.
0	-1.2496
24	-2.1161
48	-3.3382
72	-4.305
96	-6.1192
168	-6.4377
192	-6.5712



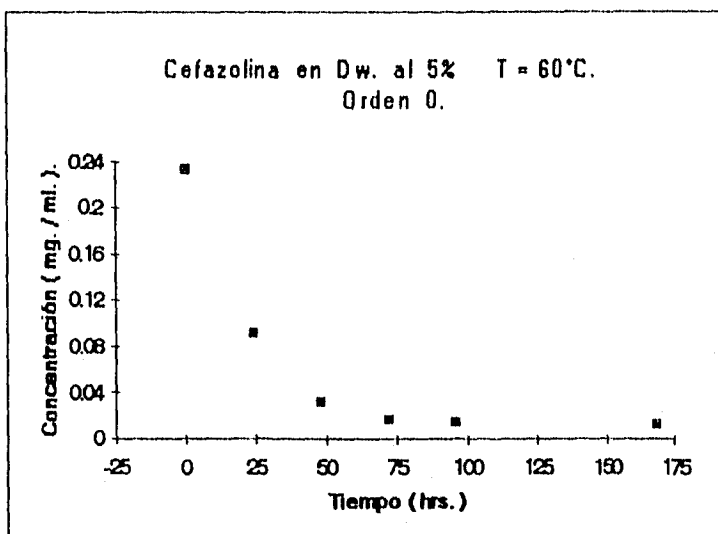
Regresión lineal:
$m = -0.0260 \text{ hr}^{-1}$
$b = -1.8993$
$r = -0.9324$
$r^2 = 0.8694$

CEFAZOLINA EN DW. AL 5%.

T = 60°C.

ORDEN 0.

Tiempo (hrs.)	Concentración. (mg. / ml.)
0	0.2334
24	0.0923
48	0.0321
72	0.0162
96	0.0153
168	0.01218



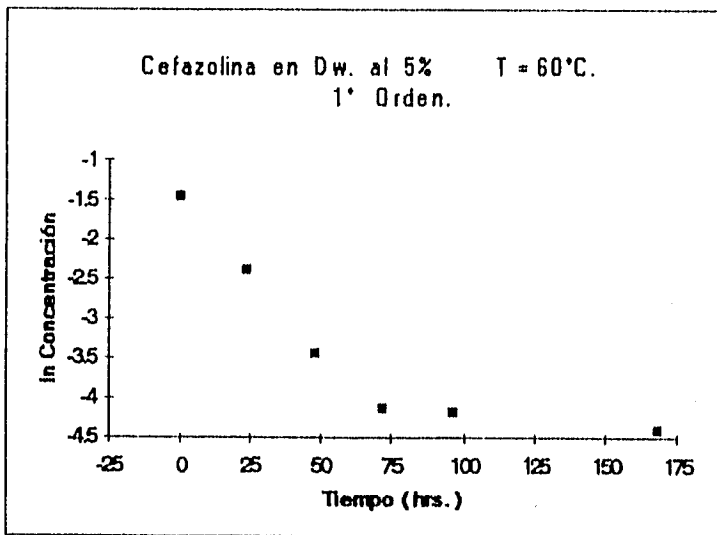
Regresión lineal:
m = -0.00106 mg / ml hr
b = 0.1391 mg / ml
r = -0.7282
r ² = 0.5302

CEFAZOLINA EN DW. AL 5%.

T = 60°C.

1° ORDEN.

Tiempo (hrs.)	ln Concentración.
0	-1.455
24	-2.3827
48	-3.4388
72	-4.1227
96	-4.1799
168	-4.4079



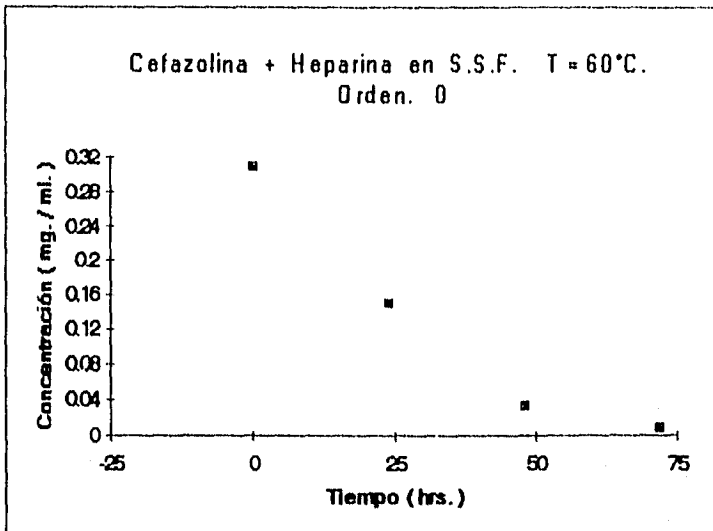
Regresión lineal:
$m = -0.01699 \text{ hr}^{-1}$
$b = -2.1757$
$r = -0.8597$
$r^2 = 0.7390$

CEFAZOLINA + HEPARINA EN S.S.F.

T = 60°C.

ORDEN 0.

Tiempo (hrs.)	Concentración. (mg. / ml.)
0	0.3101
24	0.1496
48	0.0345
72	0.0079



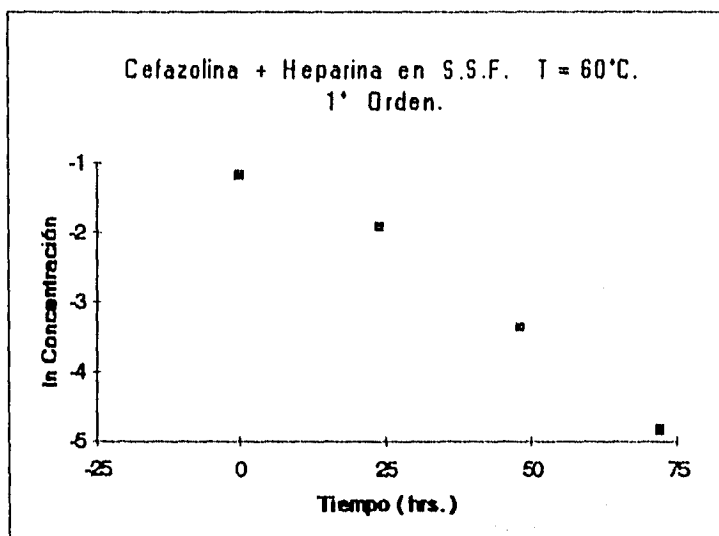
Regresión lineal:
$m = -0.0042 \text{ mg / ml hr}$
$b = 0.2787 \text{ mg / ml}$
$r = -0.9588$
$r^2 = 0.9194$

CEFAZOLINA + HEPARINA EN S.S.F.

T = 60°C.

1º ORDEN.

Tiempo (hrs.)	ln Concentración.
0	-1.1708
24	-1.8997
48	-3.3667
72	-4.8408



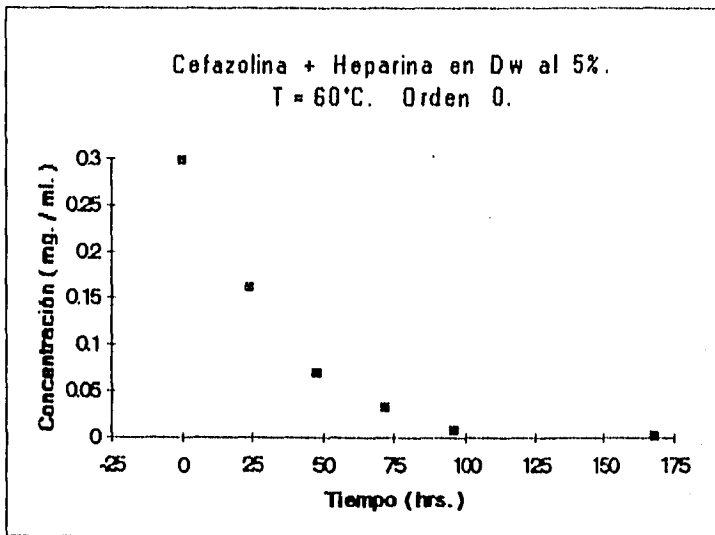
Regresión lineal:
$m = -0.05199 \text{ hr}^{-1}$
$b = -0.9479$
$r = -0.9895$
$r^2 = 0.9791$

CEFAZOLINA + HEPARINA EN DW. AL 5%.

T = 60°C.

ORDEN 0.

Tiempo (hrs.)	Concentración. (mg. / ml.)
0	0.2982
24	0.1625
48	0.0692
72	0.0321
96	0.007
168	0.0011



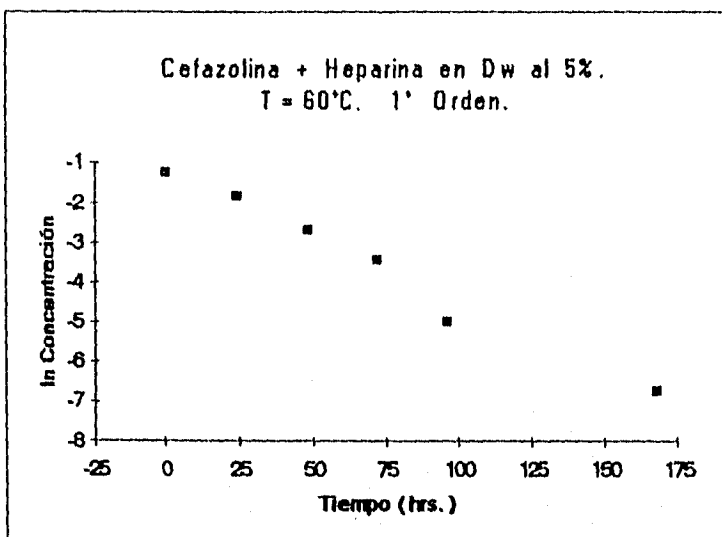
Regresión lineal:
m = -0.0016 mg / ml hr
b = 0.2036 mg / ml
r = -0.8224
r² = 0.6764

CEFAZOLINA + HEPARINA EN DW. AL 5%.

T = 60°C.

1° ORDEN.

Tiempo (hrs.)	ln Concentración.
0	-1.2099
24	-1.817
48	-2.6707
72	-3.4388
96	-4.9618
168	-6.7371



Regresión lineal:
$m = -0.03439 \text{ hr}^{-1}$
$b = -1.1340$
$r = -0.9911$
$r^2 = 0.9824$

Es importante aclarar que no se trabajó con los resultados obtenidos a la temperatura de 5°C, dado que no se observó la degradación del principio activo durante el tiempo que duro el estudio. Por tal razón no se construyeron gráficos que mostraran el orden de reacción de la descomposición pues no hubo tal.

Después de someter los resultados obtenidos a regresión lineal para identificar el orden de reacción. Se trabajó con las ecuaciones obtenidas en cada caso para calcular los intervalos que nos indiquen la amplitud de la banda en donde se encuentran dispersos los puntos que conforman el gráfico para cada sistema. Lo cual se calculó mediante la siguiente ecuación $C_t = C_0 \pm 2\sigma + \overline{Kt}$. A continuación se muestran estos intervalos en las siguientes tablas.

" ORDEN 0 "

Cefazolina en Solución Estéril.

Temperatura	Ecuación representativa
20°C	$Ct = 0.2599 \pm 0.0154 + 3.3588 \times 10^{-3} t$
35 °C	$Ct = 0.3003 \pm 0.0245 + 0.0207 t$
50 °C	$Ct = 0.2742 \pm 0.0423 + 0.0266 t$
60 °C	$Ct = 0.2367 \pm 0.1118 + 0.1012 t$

Cefazolina en Solución Salina Fisiológica.

Temperatura	Ecuación representativa
20°C	$Ct = 0.2980 \pm 0.0109 + 0.0102 t$
35 °C	$Ct = 0.2784 \pm 0.0392 + 0.0124 t$
50 °C	$Ct = 0.2945 \pm 0.0320 + 0.0565 t$
60 °C	$Ct = 0.2866 \pm 0.0248 + 0.1878 t$

Cefazolina en Dextrosa al 5 %.

Temperatura	Ecuación representativa
20°C	$Ct = 0.2929 \pm 1.0714 \times 10^{-3} + 8.3612 \times 10^{-3} t$
35°C	$Ct = 0.2919 \pm 6.90 \times 10^{-5} + 0.0508 t$
50°C	$Ct = 0.2169 \pm 6.884 \times 10^{-3} + 0.0450 t$
60°C	$Ct = 0.2097 \pm 8.206 \times 10^{-3} + 0.1157 t$

Cefazolina + Heparina en Solución Salina Fisiológica

Temperatura	Ecuación representativa
20°C	$Ct = 0.2813 \pm 0.0101 + 2.9444 \times 10^{-3} t$
35°C	$Ct = 0.3128 \pm 0.0119 + 0.0146 t$
50°C	$Ct = 0.2624 \pm 0.0482 + 0.0933 t$
60°C	$Ct = 0.3101 \pm 0.0318 + 0.2017 t$

Cefazolina + Heparina en Dextrosa al 5 %.

Temperatura	Ecuación representativa
20°C	$Ct = 0.2948 \pm 5.614 \times 10^{-4} + 3.6158 \times 10^{-3} t$
35°C	$Ct = 0.2932 \pm 4.406 \times 10^{-4} + 7.4361 \times 10^{-3} t$
50°C	$Ct = 0.2939 \pm 0.0102 + 0.0314 t$
60°C	$Ct = 0.2982 \pm 1.0062 \times 10^{-3} + 0.13576 t$

"1° ORDEN"

Cefazolina en Solución Estéril.

Temperatura	Ecuación representativa
20°C	$Ct = -1.3475 \pm 0.0598 + 4.8956 \times 10^{-3} t$
35 °C	$Ct = -1.2003 \pm 0.0815 + 0.0715 t$
50 °C	$Ct = -1.2967 \pm 0.1511 + 0.1071 t$
60 °C	$Ct = -1.4730 \pm 0.5274 + 1.9168 t$

Cefazolina en Solución Salina Fisiológica.

Temperatura	Ecuación representativa
20°C	$Ct = -1.2413 \pm 0.0375 + 0.0126 t$
35 °C	$Ct = -1.2812 \pm 0.1440 + 0.0454 t$
50 °C	$Ct = -1.2236 \pm 0.1074 + 0.2734 t$
60 °C	$Ct = -1.2503 \pm 0.0869 + 1.0843 t$

Cefazolina en Dextrosa al 5 %.

Temperatura	Ecuación representativa
20°C	$Ct = -1.2297 \pm 0.1265 + 0.0293 t$
35 °C	$Ct = -1.2312 \pm 0.0333 + 0.0602 t$
50 °C	$Ct = -1.5508 \pm 0.4166 + 0.3340 t$
60 °C	$Ct = -1.5910 \pm 0.4744 + 0.8593 t$

Cefazolina + Heparina en Solución Salina Fisiológica.

Temperatura	Ecuación representativa
20°C	$Ct = -1.2683 \pm 0.0363 + 2.9444 \times 10^{-3} t$
35 °C	$Ct = -1.1622 \pm 0.0384 + 0.0146 t$
50 °C	$Ct = -1.3420 \pm 0.1897 + 0.0933 t$
60 °C	$Ct = -1.1721 \pm 0.1037 + 0.2017 t$

Cefazolina + Heparina en Dextrosa al 5 %.

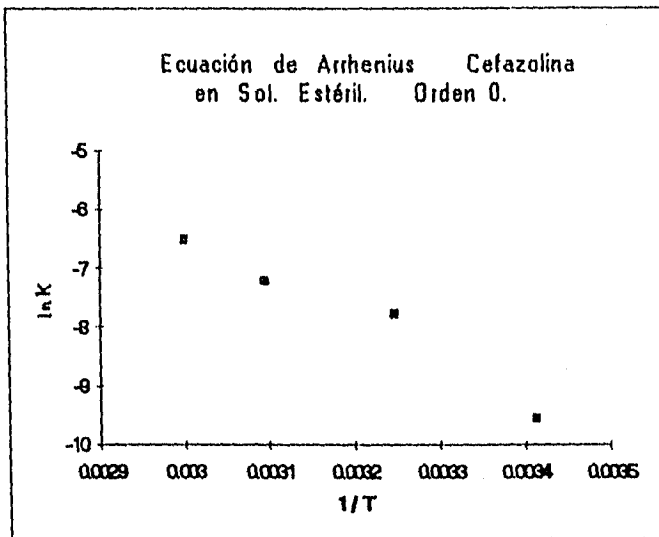
Temperatura	Ecuación representativa
20°C	$Ct = -1.2222 \pm 0.0913 + 0.0125 t$
35 °C	$Ct = -1.2275 \pm 0.0727 + 0.1153 t$
50 °C	$Ct = -1.2476 \pm 0.4346 + 0.1221 t$
60 °C	$Ct = -1.2115 \pm 0.1203 + 0.2223 t$

De lo anterior, se pudo observar que los datos de la regresión lineal, sugieren tanto la cinética de orden 0 como la cinética de primer orden en su degradación. Ya que al observar la tendencia de los gráficos para ambas cinéticas y los valores de regresión lineal, estos no presentan diferencias significativas que nos orienten sobre un comportamiento en particular. Por lo tanto ahora se toman las K (constantes de degradación) en cada caso para trabajar con la ecuación de Arrhenius como se muestra ahora: (7)

GRAFICOS PARA LA ECUACION DE ARRHENIUS

CEFAZOLINA EN S.E. ORDEN 0.

1/ Temperatura	ln K
0.0034129	-9.5670
0.0032467	-7.7752
0.0030959	-7.2224
0.003003	-6.5022

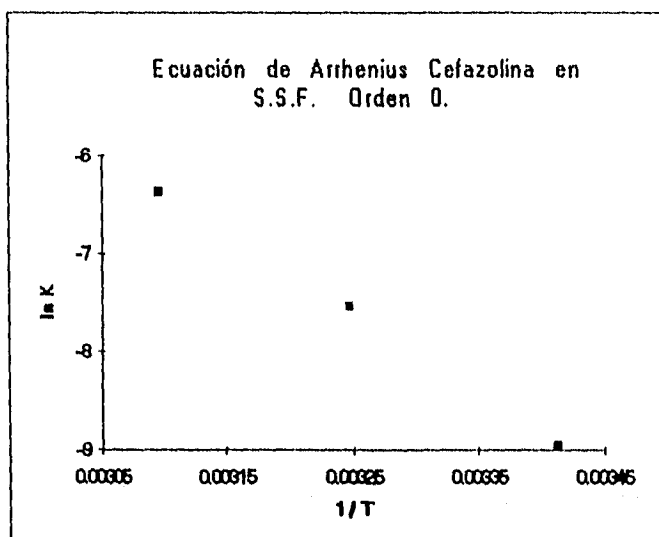


Regresion Lineal
b = 14.9692
m = -7128.10 °K
r = -0.9781
r ² = 0.9567

CÉFAZOLINA EN S.S.F.

ORDEN 0.

1/ Temperatura	ln K
0.0034129	-8.9479
0.0032467	-7.5426
0.0030959	-6.3771

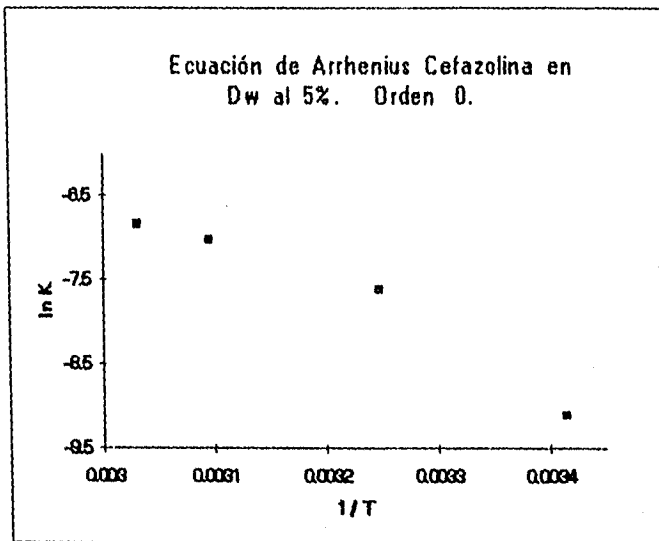


Regresion Lineal
b = 18.7681
m = -8115.84 °K
r = -0.9996
r ² = 0.9993

CEFAZOLINA EN Dw. AL 5%

ORDEN 0.

1/ Temperatura	ln K
0.0034129	-9.1150
0.0032467	-7.6211
0.0030959	-7.0242
0.003003	-6.8494

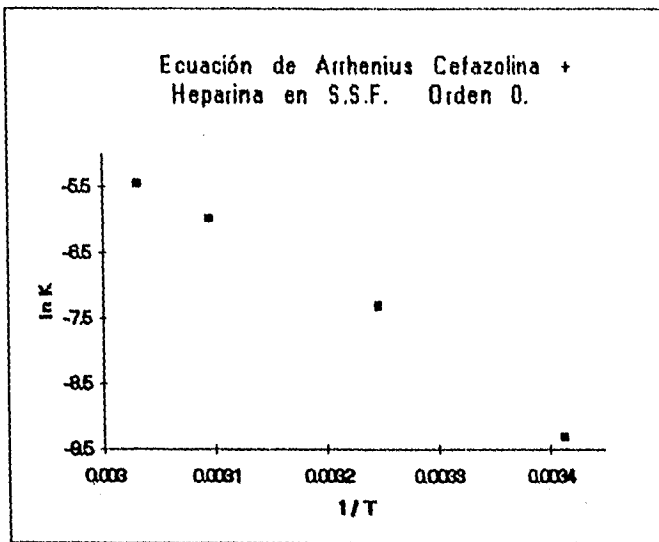


Regresion Lineal
b = 15.4806
m = -7178.24 °K
r = -0.9881
r ² = 0.9764

CEFAZOLINA + HEPARINA EN S.S.F.

ORDEN 0.

1/Temperatura	ln K
0.0034129	-9.3157
0.0032467	-7.3082
0.0030959	-5.39795
0.003003	-5.4584

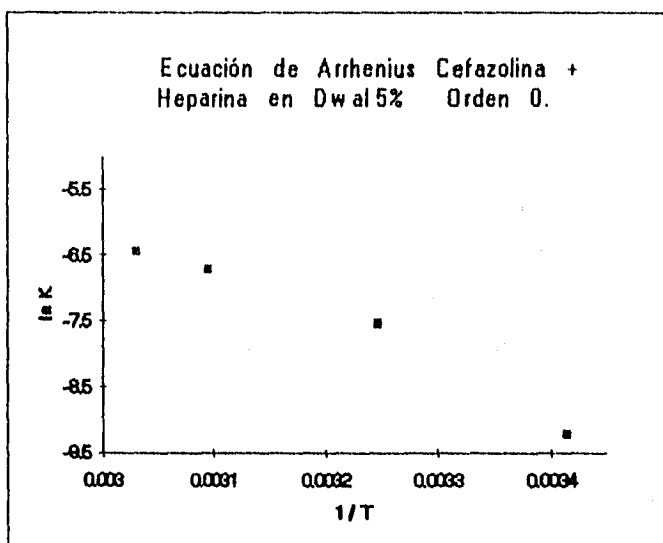


Regresion Lineal
b = 23.2566
m = -9490.81 °K
r = -0.9908
r ² = 0.9817

CEFAZOLINA + HEPARINA EN Dw. AL 5%

ORDEN 0.

1/Temperatura	ln K
0.0034129	-9.2103
0.0032467	-7.5426
0.0030959	-6.7254
0.0030000	-6.4377

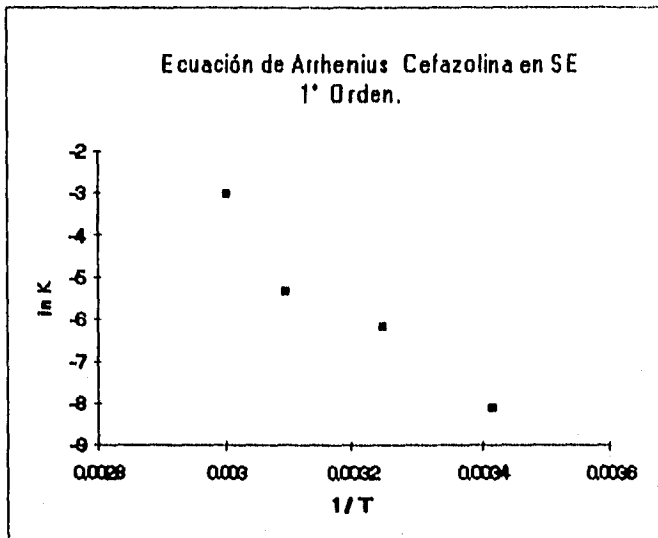


Regresion Lineal
b = 38.3745
m = -14004.96 °K
r = -0.9851
r ² = 0.9704

CEFAZOLINA EN SE

1° ORDEN.

1/ Temperatura	ln K
0.0034129	-8.0789
0.0032467	-6.1376
0.0030959	-5.3287
0.003003	-3.0297

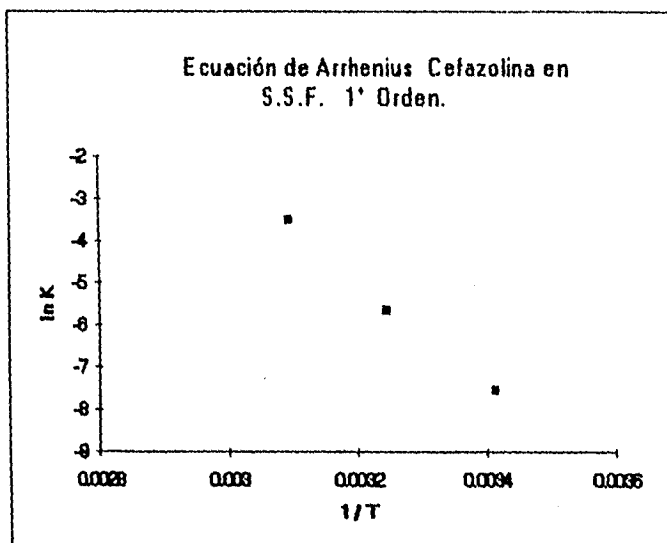


Regresion Lineal
b = 30.2771
m = -11261.79 °K
r = -0.9674
r ² = 0.9359

CEFAZOLINA EN S.S.F.

1° ORDEN.

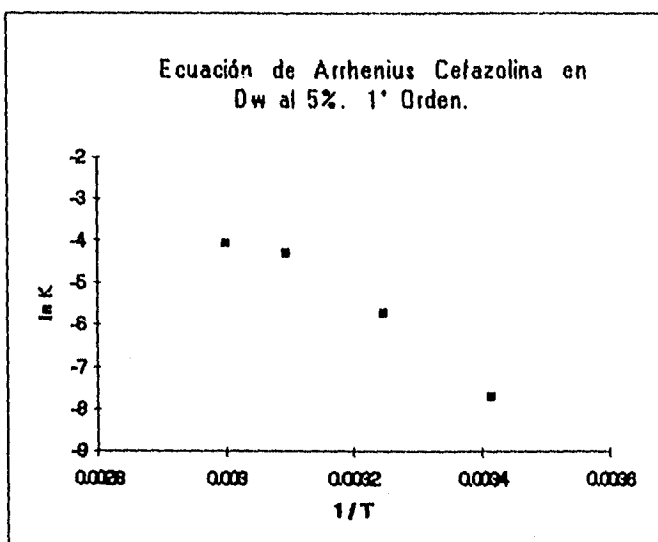
1/Temperatura	ln K
0.0034129	-7.5426
0.0032467	-5.6549
0.0030959	-3.4715



Regresion Lineal
b = 36.1237
m = -12617.39 °K
r = -0.9975
r ² = 0.9951

CEFAZOLINA EN DW AL 5% 1° ORDEN.

1/ Temperatura	ln K
0.0034129	-7.7062
0.0032467	-5.7352
0.0030659	-4.3177
0.003	-4.0751

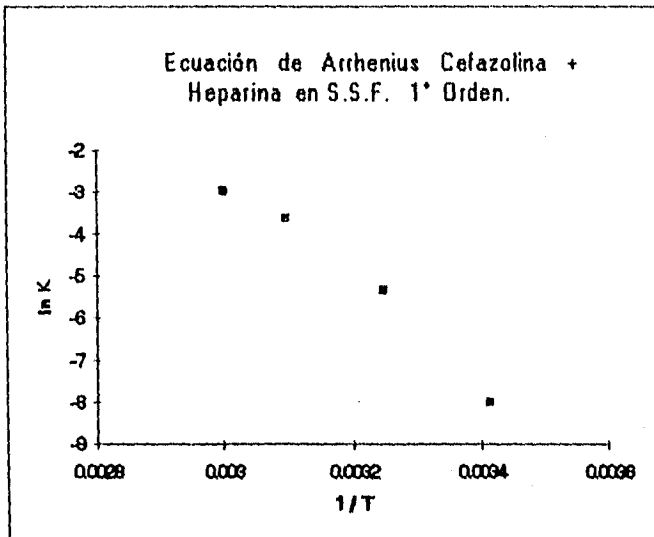


Regresion Lineal
b = 23.6518
m = -9126.58 °K
r = -0.9826
r ² = 0.9655

CEFAZOLINA + HEPARINA EN S.S.F.

1° ORDEN.

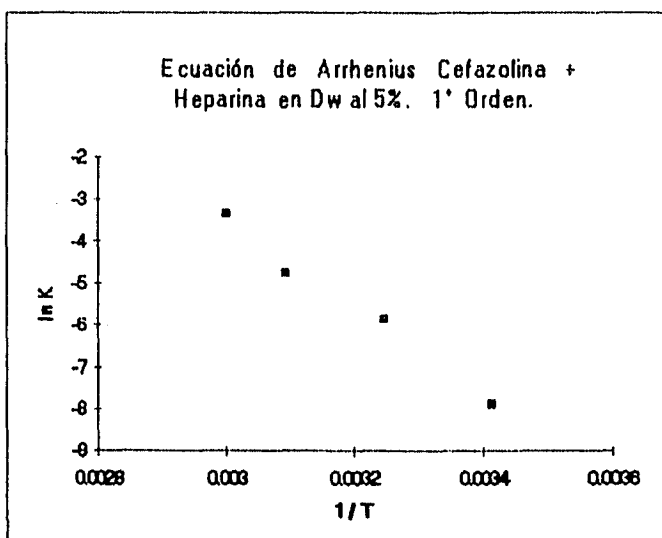
1/ Temperatura	ln K
0.0034129	-7.9865
0.0032467	-5.3185
0.0030959	-3.6167
0.003	-2.9567



Regresion Lineal
b = 34.45
m = -12364.95 °K
r = -0.9894
r ² = 0.9789

CEFAZOLINA + HEPARINA EN DW AL 5%

1 / Temperatura	ln K
0.0034129	-7.902
0.0032467	-5.8604
0.0030959	-4.749
0.003	-3.3699



Regresion Lineal
b = 28.32
m = -10595.18 °K
r = -0.9936
r ² = 0.9873

Con los datos anteriores se puede calcular la E_a (Energía de activación.) que enseguida presentamos.

Tomando el valor de la pendiente de cada regresión lineal, sustituimos en la siguiente fórmula:

$$m = -\frac{E_a}{R}$$

Y al despejar obtendremos el valor de la energía de activación E_a para cada tipo de sistema:

$$-E_a = mR$$

Otro cálculo importante a realizar es el de t_{90} para cada uno de los sistemas a sus diferentes temperaturas.

Para el caso de las temperaturas de 20, 35, 50 y 60°C se trabajó la siguiente fórmula:

$$t_{90} = \frac{0.105}{K_1}$$

Siendo K_1 la constante de degradación para cada sistema en la correspondiente temperatura.

Pero para la temperatura de 5°C dado que no se obtuvieron regresiones lineales, se trabajó con la ecuación de Arrhenius para despejar de ahí la K_1 correspondiente y después sustituir en la fórmula con que ya se trabajó para las otras temperaturas.

$$\ln K_1 = \ln A - \frac{Ea}{R} \cdot \frac{1}{T}$$

En esta fórmula se sustituyen los valores de $\ln A$ y Ea para cada tipo de sistema y $T=5^\circ\text{C}$ de esta forma se despeja y resuelve la ecuación para obtener K_1 .

$$K_1 = e^{(\ln A - \frac{Ea}{R} \cdot \frac{1}{T})}$$

Una vez obtenidas las K_1 se sustituyen en la fórmula:

$$t_{90} = \frac{0.105}{K_1}$$

(26)

RESULTADOS OBTENIDOS PARA 1º ORDEN

Tipo de Sistema	Ea (kcal / mol)
Cefazolina en Sol. Estéril	22.37
Cefazolina en S.S.F.	25.46
Cefazolina en Dw.	18.13
Cefazolina + Hep. en S.S.F.	24.56
Cefazolina + Hep. en Dw.	21.05

Temperatura de estudio	5°C	20°C	35°C	50°C	60°C
Tipo de sistema.	K ₁ (hrs. -1)	K ₁ (hrs. -1)	K ₁ (hrs. -1)	K ₁ (hrs. -1)	K ₁ (hrs. -1)
Cefazolina en S. E.	3.5968 x10 ⁻⁵	0.00031	0.00216	0.00485	0.04833
Cefazolina en S.S.F.	4.6235 x10 ⁻⁵	0.00053	0.0035	0.03107	0.02807
Cefazolina en Dw.	1.0334 x10 ⁻⁴	0.0004	0.0032	0.1333	0.01699
Cefazolina + Hep en S.S.F.	5.3528 x10 ⁻⁵	0.00034	0.0049	0.02887	0.05199
Cefazolina + Hep en Dw.	5.5629 x10 ⁻⁵	0.00037	0.0028	0.00866	0.03439

Temperatura de estudio	5°C	20°C	35°C	50°C	60°C
Tipo de sistema.	t ₉₀ (días)	t ₉₀ (días)	t ₉₀ (días)	t ₉₀ (días)	t ₉₀ (días)
Cefazolina en S. E.	121.63	14.11	2.02	0.90	0.09
Cefazolina en S.S.F.	94.62	8.25	1.25	0.14	0.15
Cefazolina en Dw.	42.33	10.93	1.36	0.32	0.25
Cefazolina + Hep en S.S.F.	81.73	12.86	0.89	0.16	0.08
Cefazolina + Hep en Dw.	78.64	11.82	1.56	0.5	0.12

RESULTADOS OBTENIDOS PARA ORDEN 0

Tipo de Sistema	Ea (kcal / mol)
Cefazolina en Sol. Estéril	14.16
Cefazolina en S.S.F.	16.12
Cefazolina en Dw.	14.26
Cefazolina + Hep. en S.S.F.	18.85
Cefazolina + Hep. en Dw.	27.82

Temperatura de estudio	5°C	20°C	35°C	50°C	60°C
Tipo de sistema.	K_0 (mg / ml hr)	K_0 (mg / ml hr)	K_0 (mg / ml hr)	K_0 (mg / ml hr)	K_0 (mg / ml hr)
Cefazolina en S. E.	2.32×10^{-5}	7.00×10^{-5}	4.2×10^{-4}	7.3×10^{-4}	1.5×10^{-3}
Cefazolina en S.S.F.	2.82×10^{-5}	1.39×10^{-4}	5.5×10^{-4}	1.6×10^{-3}	1.0×10^{-3}
Cefazolina en Dw.	5.06×10^{-5}	1.00×10^{-4}	5.1×10^{-4}	8.4×10^{-4}	1.06×10^{-3}
Cefazolina + Hep en S.S.F.	1.88×10^{-5}	8.50×10^{-5}	6.6×10^{-4}	2.5×10^{-3}	4.25×10^{-3}
Cefazolina + Hep en Dw.	5.56×10^{-6}	1.00×10^{-4}	5.2×10^{-4}	1.2×10^{-3}	1.6×10^{-3}

Temperatura de estudio	5°C	20°C	35°C	50°C	60°C
Tipo de sistema.	t_{90} (días)	t_{90} (días)	t_{90} (días)	t_{90} (días)	t_{90} (días)
Cefazolina en S. E.	53.69	15.24	2.86	1.40	0.0008
Cefazolina en S.S.F.	41.46	9.26	2.19	0.66	0.65
Cefazolina en Dw.	24.05	12.20	2.26	0.75	0.36
Cefazolina + Hep en S.S.F.	64.11	13.78	1.98	0.41	0.27
Cefazolina + Hep en Dw.	225.75	12.28	2.45	0.96	0.53

RESULTADOS DEL ESTUDIO ESTADISTICO.

" ANALISIS DE VARIANZA POR BLOQUES AL AZAR "

Temperatura	Orden 0	1° Orden
5°C	2.7340	1.6919
20°C	1.7407	1.5074
35°C	18.8385**	18.8957**
50°C	44.0089***	40.9563***
60°C	2.1334	5.5470*

* Significativa

** Muy Significativa

*** Altamente Significativa

(9)

" ANALISIS POR COMPARACIONES MULTIPLES "

PRUEBA DVS TUKEY

" RESULTADOS PARA ORDEN 0 "

Comparacion	5°C	20°C	35°C	50°C	60°C
Cef+SE=Cef+SSF	No se rechaza	No se rechaza	Se rechaza	Se rechaza	No se rechaza
Cef+SE=Cef+Dw	No se rechaza	No se rechaza	Se rechaza	Se rechaza	No se rechaza
Cef+SE=Cef+Hep+SSF	No se rechaza	No se rechaza	Se rechaza	Se rechaza	Se rechaza
Cef+SE=Cef+Hep+Dw	No se rechaza	No se rechaza	Se rechaza	Se rechaza	No se rechaza
Cef+SSF=Cef+Dw	No se rechaza	No se rechaza	No se rechaza	No se rechaza	No se rechaza
Cef+SSF=Cef+Hep+SSF	No se rechaza	No se rechaza	No se rechaza	No se rechaza	No se rechaza
Cef+SSF=Cef+Hep+Dw	No se rechaza	No se rechaza	No se rechaza	Se rechaza	No se rechaza
Cef+Dw=Cef+Hep+SSF	No se rechaza	No se rechaza	No se rechaza	No se rechaza	No se rechaza
Cef+Dw=Cef+Hep+Dw	No se rechaza	No se rechaza	No se rechaza	Se rechaza	No se rechaza
Cef+Hep+SSF=Cef+Hep+Dw	No se rechaza	No se rechaza	Se rechaza	Se rechaza	No se rechaza

RESULTADOS PARA 10 ORDEN

Comparacion	5°C	20°C	35°C	50°C	60°C
Cef+SE=Cef+SSF	No se rechaza	No se rechaza	Se rechaza	Se rechaza	No se rechaza
Cef+SE=Cef+Dw	No se rechaza	No se rechaza	Se rechaza	Se rechaza	No se rechaza
Cef+SE=Cef+Hep+SSF	No se rechaza	No se rechaza	Se rechaza	Se rechaza	se rechaza
Cef+SE=Cef+Hep+Dw	No se rechaza	No se rechaza	Se rechaza	Se rechaza	No se rechaza
Cef+SSF=Cef+Dw	No se rechaza	No se rechaza	No se rechaza	No se rechaza	No se rechaza
Cef+SSF=Cef+Hep+SSF	No se rechaza	No se rechaza	Se rechaza	No se rechaza	No se rechaza
Cef+SSF=Cef+Hep+Dw	No se rechaza	No se rechaza	No se rechaza	Se rechaza	No se rechaza
Cef+Dw=Cef+Hep+SSF	No se rechaza	No se rechaza	Se rechaza	No se rechaza	se rechaza
Cef+Dw=Cef+Hep+Dw	No se rechaza	No se rechaza	No se rechaza	Se rechaza	No se rechaza
Cef+Hep+SSF=Cef+Hep+Dw	No se rechaza	No se rechaza	Se rechaza	Se rechaza	Se rechaza

(9, 25 y 33).

ANALISIS DE RESULTADOS

Los métodos espectrofotométricos en general han permitido realizar mediciones de manera fácil y rápida con una precisión excelente en muchos casos, pero en otros carecen de significancia. Esta es el caso de la Cefazolina sódica, ya que su estudio espectrofotométrico no nos demuestra si la Cefazolina sódica es estable o no, lo cual puede deberse a la influencia de los disolventes, al pH, la temperatura y otras variables de la solución sobre su espectro de absorción. Otra justificante puede ser el que sustancias muy distintas pueden dar espectros UV casi idénticos, por lo cual se hace el método poco específico debido a que posiblemente se sumaron las absorbancias de la cefazolina sódica con sus productos de degradación y ésta era la medición que se obtenía, lo cual es justificable ya que la absorbancia es una propiedad aditiva (23).

Se decidió utilizar los métodos de cromatografía de líquidos de alta resolución y espectrofotometría UV/Visible, por varias razones: son métodos ampliamente conocidos y utilizados para estudios de estabilidad, además en el área donde se realizaron los estudios correspondientes a este trabajo, se tenía la disponibilidad del instrumental necesario para trabajar con dichos métodos; por otra parte, en base a la hemerografía consultada, se comprobó que el método cromatográfico, se utiliza para realizar estudios de estabilidad correspondientes a cefalosporinas y otros antibióticos, dentro de los cuales se encuentra clasificada nuestra sustancia de estudio; en cuanto al método espectrofotométrico, se propuso su utilización porque es un método analítico básico en el estudio de diferentes sustancias.

En cuanto al pH, no hubo cambios notables a 5°C, a los 20°C ya se comenzaron a detectar algunos cambios importantes para las soluciones preparadas con S.S.F. y S.E. y mientras mayor fue la temperatura mayor el cambio en el pH registrado para cada solución.

La cromatografía de líquidos de alta resolución realizada a la cefazolina a diferentes temperaturas demostró que su concentración se iba decrementando conforme al tiempo y que la temperatura ejercía una influencia en cada una de las soluciones, ya que conforme se incrementaba ésta, también disminuía la concentración de cefazolina contenida en cada una de las soluciones a medida que transcurría el tiempo. Estos datos fueron fundamentales para determinar el orden de reacción que informaba el comportamiento de degradación de la cefazolina, ya que al someter los datos a una regresión lineal y por el comportamiento de los gráficos no fue posible determinar un orden de reacción.

En relación a los picos cromatográficos, se realizaron pruebas con diferentes condiciones, establecidas previamente en el cromatógrafo, y se decidió trabajar con las utilizadas para obtener los cromatogramas presentes, debido a que con dichas condiciones, los picos más pequeños fueron fácilmente detectables, lo que nos ayudó a visualizar la degradación de algunos productos que de otra manera, por ser tan pequeño no podría haber sido evidente; en cuanto al pico cromatográfico representativo de la cefazolina, se observó que los resultados obtenidos en cuanto al tiempo de retención y área, no cambiaron con las diferentes condiciones probadas por lo que se decidió que las condiciones elegidas para el estudio realizado, cumplieran con los requerimientos de nuestro trabajo.

En cuanto a la compatibilidad de los fármacos Cefazolina y Heparina, fisicoquímicamente no se observaron cambios al momento de realizar la mezcla, es decir, no cambió la apariencia de la solución, no hubo ni precipitación, ni cambio de color, de pH o enturbiamiento; sin embargo, a medida que transcurrió el tiempo, las muestras que contenían Dw 5% sometidas a temperaturas altas (50 y 60°C) presentaron un cambio de coloración de transparentes e incoloras a un amarillo que finalmente llegó a ser de color café, lo cual puede indicarnos la descomposición de la dextrosa.

Basandonos en los cromatogramas obtenidos es posible observar que la presencia de la Heparina en la solución no altera el pico representativo de la Cefazolina; por otra parte, notamos que al comparar la estabilidad que presentaron las soluciones, las que contenían Heparina fueron más estables que las que no la contenían.

Cabe señalar que los cromatogramas mostraron la formación de productos de degradación de la Cefazolina, ya que conforme disminuía el área del pico representativo de la Cefazolina, emergían de él otros picos que iban creciendo; sin embargo no fue posible su caracterización.

CONCLUSIONES

Se concluye que el espectrofotómetro UV / VISIBLE por sí solo no fue un instrumento adecuado para la realización de los objetivos planteados.

Después de analizar los resultados obtenidos se afirma que la Cefazolina en solución presenta una estabilidad bastante aceptable. Al reportar los siguientes t_{90} a temperatura ambiente para orden 0 y 1° orden respectivamente:

Cefazolina en S.S.F. $t_{90} = 9.26$ días

Cefazolina en Dw 5% $t_{90} = 12.20$ días

Cefazolina + Heparina en S.S.F. $t_{90} = 13.78$ días

Cefazolina + Heparina en Dw 5% $t_{90} = 12.28$ días

Cefazolina en S.S.F. $t_{90} = 8.25$ días

Cefazolina en Dw 5% $t_{90} = 10.93$ días

Cefazolina + Heparina en S.S.F. $t_{90} = 12.86$ días

Cefazolina + Heparina en Dw 5% $t_{90} = 11.82$ días

Para determinar la estabilidad de la Cefazolina se estudió y analizó el orden de reacción de esta en las diferentes soluciones.

Al realizar el estudio estadístico, para ambos órdenes se presentaron diferencias significativas entre las soluciones a 35°C y 50°C y solamente para el 1° Orden a 60°C se detectó una mínima diferencia. Por medio de lo anterior se confirma que a temperaturas mayores de 35°C la estabilidad de Cefazolina fue muy variable entre las diferentes soluciones de estudio.

GLOSARIO

Absorbancia : *A*, es el logaritmo en base 10 del recíproco de la transmitancia, *T*, en el que el disolvente puro es el material de referencia; esto es:

$$A = \log_{10} 1 / T = -\log_{10} T \quad (28).$$

Aforar : Llevar una solución a un volumen determinado

Amortiguar : Mantener una solución en un intervalo de pH determinado

Dw 5% : Solución glucosada al 5%

H.P.L.C. : Cromatografía líquida de alta resolución. Sus siglas en español son C.L.A.R. pero no se sustituyeron en lugar de H.P.L.C. porque C.L.A.R. no es un término muy conocido en el medio científico.

I.M. : Intramuscular

I.V. : Intravenoso (a)

M.I.V. : Mezcla intravenosa.

S.E. : Solución Estéril.

Solubilidad : Cuando un sólido en exceso se pone en contacto con un líquido las moléculas que la forman son removidas a la superficie hasta que se establece un equilibrio entre las moléculas del sólido y el líquido (7).

S.S.F. : Solución Salina Fisiológica

t_{90} : Tiempo en el cual un medicamento ha perdido el 10% de su concentración inicial.

BIBLIOGRAFIA

1. Adorjan Aszalos, Modern Analysis of Antibiotics, Marcel Dekker, Inc., Serie Drugs and the Pharmaceutical Sciences Analysis. New York USA 1986 Vol 27 pag. 160, 218-230 272.
2. Abbot D. Introducción a la Cromatografía, Alhambra 3a Edición España 1983 pag. 1-8.
3. Banks J.F., Jr.; Novothy M. V.J Microcolumn Sep1990 pag. 84-87.
4. Bergoglio R. Antibióticos 4a Edición Panamericana Argentina 1986 pag.152-159.
5. Bosso John A. and Townsed Raymond J. Stability of clindamicin phosphate and cefizoxime sodium cefoxitin sodium, cefamandole nafate or cefazolin sodium in two intravenous solutions. American Journal of Hospital Pharmacy Vol 42 Oct 1987 pag. 2211-2214.
6. Budavari S. (et al) The Merck Index Eleventh Edition Published by Merck & Co. Inc. Rahway N.J. U.S.A. 1991 pag. 1924.
7. Castellan G. W. Fisicoquímica 2a Edición Addison Wesley Iberoamericana México 1988 Cap. 33 pag. 893-895.
8. Connors K. Curso de Análisis Farmacéutico 2a Edición, Reverté S.A. Barcelona, España 1992 Cap. 8 Espectroscopía de absorción pag. 195-205.

9. Daniel Wayne W Bioestadística 3a Edición Limusa México 1988 pag. 306-309, 312-320, 633 y 637.
10. Debets A.J.J.; Hupe, K. P.; Brinkman, V.A.T.; Kok. Pat Chromatographic 1990, Cap. 29, pag. 217-222.
11. De la Torre Borant M. y Font A. Marina Cromatografía. Toray Masson S.A. Barcelona 1971 pag. 1-12.
12. Edward J. Cromatografía, principios y técnicas El Manual Moderno. Cap 1 México 1975.
13. H.J. Rehm and G. Reed Vol 4 Microbial Products II. Biotechnology VCH Publishers Republic of Germany 1986 pag. 259-263.
14. H.J. Rehm and G. Reed Vol 6a Biotechnology VCH Publishers Republic of Germany 1984 pag. 252-267.
15. H.J. Rehm and G. Reed Vol 7a Biotechnology VCH Publishers Republic of Germany 1987 pag. 663-665.
16. Hagan Robert L High Performance Liquid Chromatography for small-scale Studies of drug stability. American Journal of Hospital Pharmacy Vol 51 Sep 1994. pag. 2162-2175.

17. Hue, X.; Slouffi, A.M. *Spestra* 20001990 Suppl. 15 pag. 21-23.
18. J. de Bolos (et al) Prediction of Stability of Cefazolin sodium in perfusion fluids. *International of Pharmaceutics* Vol. 40 1987 pag. 175-177.
19. Japan Medical Product International Trade Association. Japan Pharmaceutical reference / Administration and Products In Japan. 3th Edition. Tanaka printing Co. Ltd. Tokio 1993. pag. 245-249.
20. Kazuro Inagaki (et al) Chemical Compatibility of Cefmetazole Sodium with Ranitidina Hydrochloride During Simulated Y-site Administration. *Journal of Parenteral Science & Tecnology* Vol. 47, No1 January-February 1993 pag. 35-39.
21. Kumate, J. Antibióticos y Quimioterápicos 2a Edición Francisco Mendez Cervantez. México 1981 pag. 105-115.
22. Magrico P.; Martin, M.J. Chromatografía 1990 México 1990 pag. 31-49 y 517.
23. Martin P. A. Métodos Fisicoquímicos de Análisis. Urmo, España 1975, pag. 50-54, 68 y 70.
24. Mc Nair Harold. y Esquivel H. Benjamín; Cromatografía Líquida de Alta Resolución. Eva V. Chesneau Cap. 1 y 2 Chile 1980.

25. Montgomery D. C. Diseño y Análisis de Experimentos. Grupo Editorial Iberoamérica, S.A. de C.V. México 1991 pag. 70-71.
26. N. Martín Alfred (et al) Physical Pharmacy (Physical Chemical Principles in the Pharmaceutical Sciences) Lea & Febiger Philadelphia 1973 Capítulo 14 (Kinetics) pag. 354-412.
27. Obst. D. Ger (East) D. D. 278838 A1 16 May 1990 4 pag.
28. Peckson, L.R y Shields, LL. Métodos Modernos de Análisis Químicos. Limusa México 1983 pag. 61 y 62.
29. Perkin Elmer; Manual Introducción a la Cromatografía líquida de alta resolución UNAM México 1989.
30. Shalon Y PCT Int Appl. WO9114490 A1 3 Oct 1991 38 pag.
31. Snyder L. R. y Kirkland J. J; Introduction to Modern Liquid Chromatography 2a Edición Wiley Cap 3, 4, 5 y 6 Nueva York 1979.
32. Valdés Santurio J.R. Ventajas y Limitaciones de la Cinética Química en los Estudios de Estabilidad. Departamento de Estabilidad. L. T. M. Conferencia pronunciada en la 1a Jornada Científica de la Industria Medico-Farmacéutica. Sept. 1984 pag. 54-70.

33. Walpole R. E. y Meyers R. H. Probabilidad y Estadística para Ingenieros 3a Edición
Mc Graw- Hill México 1988 pag. 485-487.

34. Ying P.T. Dorsey J.G. Talata 1991. 38 pag. 237-243.

35. Zogg, G. C; Nyredy S. ; Sticher, O. J. Liq. Chromatography 1989. 12 pag. 2031-
2038.