

2ej 152

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

FACULTAD DE QUIMICA



**DESARROLLO Y ESTABILIDAD DE UNA SOLUCION
INYECTABLE DE CLORHIDRATO DE TIAMINA**



**EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO

P R E S E N T A :

MARTHA GORGONIO HERNANDEZ

MEXICO, D. F.

1987



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 está 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.

INDICE

	Pág
I OBJETIVO	1
II INTRODUCCION	1
III GENERALIDADES	3
1. Clorhidrato de Tiamina	3
2. Estabilidad	13
3. Productos Parenterales	24
IV PARTE EXPERIMENTAL	37
1. Valoración de Clorhidrato de Tiamina	37
2. Validación del Método Analítico	42
3. Valoración Estadística del Método	44
4. Desarrollo de Formulaciones	57
4.1 Selección del Estabilizador	57
4.2 Materiales	57
4.3 Procedimiento de Manufactura	60
4.4 Procedimiento para determinar la Estabilidad de Clorhidrato de Tiamina	67
4.5 Selección del Conservador	69
4.6 Evaluación de la Estabilidad de Clorhidrato de Tiamina	72
V RESULTADOS	73
VI CONCLUSIONES	89
VII BIBLIOGRAFIA	90

I. OBJETIVO

Desarrollar una solución inyectable de Clorhidrato de Tiamina la cual mantenga su potencia terapéutica y no presente precipitado o color indeseable durante su vida de anaquel.

II. INTRODUCCION

La Vitamina B₁ en solución inyectable, esta influenciada por una gran variedad de factores que afectan su estabilidad; dichos factores pueden ser: reacciones hidrolíticas en medio ácido, la oxidación, presencia de impurezas y las condiciones del medio ambiente.

La presencia de éstos factores, implican la degradación del Clorhidrato de Tiamina; tal es el caso del rompimiento del anillo de tiazol de Clorhidrato de Tiamina el cual da lugar a la formación de soluciones coloidales de sulfuro y otros productos de degradación que bajo la influencia de la temperatura, la presencia de impurezas y las condiciones durante su almacenaje, se presenta como partículas en suspensión o la formación de un sedimento (4, 15, 26).

Considerando éstos factores, es necesario desarrollar una solución inyectable de Vitamina B₁ estable, que no sufra degradación, cambio de color o formación de precipitado, cuando se almacena bajo ciertas condiciones; para éste propósito será necesario adicionar diversos agentes estabilizantes a las soluciones de Clorhidrato de Tiamina, con el fin de inhibir la degradación de la misma.

Una vez que se hayan elaborado las soluciones inyectables de Clorhidrato de Tiamina, serán sometidas a Pruebas Aceleradas de Estabilidad a diferentes temperaturas : 35°C, 45°C ,

60°C y 70°C, y las muestras serán analizadas a determinados tiempos por un Método Analítico Indicador de Estabilidad adecuado.

Mediante éste estudio se podrá seleccionar las soluciones inyectables de Clorhidrato de Tiamina más estables; para que posteriormente se desarrolle el Estudio de la Selección del Conservador más adecuado, el cual se realizará con las soluciones inyectables de Clorhidrato de Tiamina más estables (elegidas en el Estudio del Agente Estabilizante); las cuales se probarán con diferentes conservadores y asimismo serán sometidas a Pruebas Aceleradas de Estabilidad bajo las mismas condiciones de temperatura ya establecidas; y así obtener una solución de Vitamina B₁ estable.

Con los valores obtenidos se elaborarán gráficas de concentración contra tiempo para cada temperatura, con el fin de conocer el Orden de la Reacción.

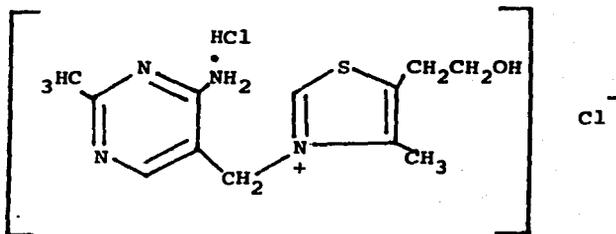
Una vez conocido el Orden de la Reacción se determinarán los valores respectivos de la constante de degradación k , para cada caso; y en base a éstos datos elaborar la gráfica de Arrhenius a partir de la cual será posible determinar el t_{90} de la solución inyectable de Clorhidrato de Tiamina.

III GENERALIDADES

III. GENERALIDADES

1. CLORHIDRATO DE TIAMINA.

1.1 F6rmula Desarrollada. (21)



1.2 Nombres qu6micos y sin6nimos.

- 3-[(4-Amino-2-metil-5-pirimidinil) metil] 5-(2-hidroxi--etil)-4-metil tiazolio cloruro, monoclorhidrato.
- Vitamina B₁ Clorhidrato.
- Cloruro de Tiamina - Clorhidrato.
- Aneurina, Clorhidrato de.

1.3 F6rmula Condensada : C₁₂H₁₈Cl₂N₄OS .

1.4 Peso Molecular : 337.28

1.5 Propiedades Ffsicas.

a) Descripci6n :

Cristales blancos peque1os o polvo cristalino, usualmente tiene un olor caracterfstico ligero, sabor amargo.

Cuando se expone al aire, el producto anhidro rápidamente absorbe cerca del 4% de agua.

b) Solubilidad.

Un gramo se disuelve en 1 ml de agua; 1 en 18 ml de glicerina, 1 en 100 ml de alcohol al 95%, 1 en 315 ml de alcohol absoluto.

c) Descomposición a 248°C (Punto de Fusión).

1.6 Incompatibilidades.

Incompatibilidad con cloruros, álcalis y sales alcali - nas incluyendo carbonato de magnesio, citrato de sodio, ci - trato de amonio, bases alcaloidales, tales sustancias al - calinas producen una base de Tiamina inestable. Incompati - ble con sales de fierro, cobalto y cobre; amortiguadores - de fosfatos y gluconatos.

Precipita con yoduros, carbonatos, bicarbonatos, aceta - tos, borato de sodio, fenobarbital sódico y solución de - Fowler's.

1.7 Espectro de Absorción
al Ultravioleta

En etanol exhibe máximos a
233 nm (E 1% , 1 cm 380)
267 nm (E 1% , 1 cm 240)

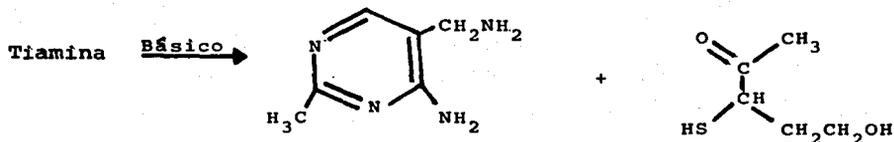
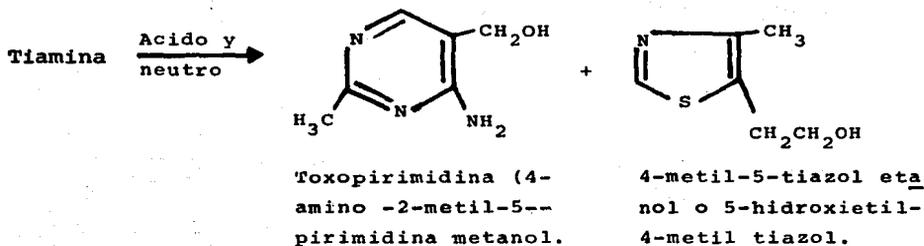
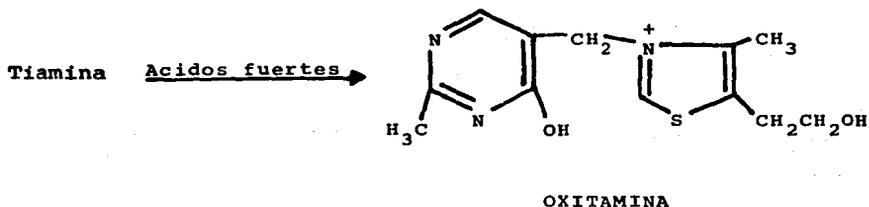
En ácido sulfúrico exhibe -
máximos a 247 nm (E 1% , -
1 cm 253) y una inflexión -
cerca de 260 nm

1.8 Identificación. (18)

- (A) Una reacción con ácido picrolónico para formar un precipitado insoluble en agua. Se forman cristales específicos de la vitamina B₁; los cuales se observan a una amplificación de 400. La sensibilidad de la reacción es de 0.0062 mcg/ml y límites de dilución de 1:150,000.
- (B) A 5 ml de una solución de Clorhidrato de Tiamina (contenido 50 mg) se añade 10 ml de una solución de trinitrofenol, se forma un precipitado el cual se seca a 105°C durante 30 minutos. El punto de fusión de este precipitado se encuentra arriba de 207°C; con descomposición y oscurecimiento.
- (C) A 10 ml de una solución que contenga 20 mg de Tiamina Clorhidrato se le añaden 2 ml de ácido acético diluido y 1.6 ml de hidróxido de sodio 0.1 N. La solución se calienta durante 30 minutos en un baño de agua y se enfría a temperatura ambiente. Se añaden 5 ml de una solución de hidróxido de sodio 0.1 N, 10 ml de una solución de ferricianuro de potasio al 1% y 10 ml de alcohol n-butílico; la mezcla se agita vigorosamente durante 2 minutos. Cuando se expone la capa alcohólica a la luz ultravioleta se produce una intensa fluorescencia de color azul.

1.9 CINETICA DEL FARMACO . (4)

En ausencia del oxígeno , las reacciones de tiamina son hidrolíticas . La naturaleza de la reacción depende del pH del medio . Las reacciones más probables son las siguientes :



1.10 FUNCION EN EL ORGANISMO. (8)

La tiamina funciona como una coenzima en la forma de - tiamina pirofosfato (1); y simultáneamente con otras vitaminas B: ácido α - lipóico, niacina (NAD), riboflavina (FDA) y el ácido pantoténico en reacciones que involucran la descarboxilación de α -cetoácidos.



Las reacciones más importantes son las siguientes :

- Descarboxilación de ácido pirúvico \longrightarrow Acetil Co.A (2)
- Descarboxilación de α -cetoglutarato \longrightarrow Succinil Co.A (3)

Las enzimas que catalizan estas reacciones es la tiamina pirofosfato y las carboxilasas.

La tiamina pirofosfato es un cofactor esencial intermedio diario en el metabolismo de carbohidratos; esta involucrada en - el Ciclo de los Acidos Cítricos y en el Ciclo de Embden-Meyerhof.

1.11 FARMACODINAMIA.

La tiamina se absorbe fácil y completamente cuando se administra por vía subcutánea o intramuscular; pero cuando se administra por vía oral, la absorción intestinal es limitada, perdiéndose una parte por las heces del 20 al 25%.

Parte de la tiamina absorbida es almacenada principalmente en el hígado, cerebro, riñon y corazón especialmente en forma de pirofosfato de tiamina , pero la capacidad de almacena-

miento es limitada, pues cuando usa el aporte de la vitamina los síntomas de deficiencia se desarrollan en 2 a 3 semanas parcialmente en el organismo y se excreta el resto.

Esta excreción depende de la dosis y el estado de deficiencia del organismo, si existe carencia, el organismo retiene la vitamina.

1.12 EFECTOS TOXICOS.

No ocurren efectos nocivos cuando la tiamina es administrada a ratones en cantidades mayores a la dosis terapéutica. Sin embargo, en raras ocasiones pueden producirse trastornos por sensibilización alérgica cuando se administra 50 mg por vía intravenosa, en estas circunstancias, se ha producido un cuadro de shock anafiláctico, que algunas veces ha llevado a la muerte por administración de 100 mg.

- Dosis tóxica intravenosa 125 a 350 mg.
- Dosis Tóxica oral es 40 veces más alta.
- DL (50) en ratones 3g/kg.

1.13 USOS TERAPEUTICOS Y PLAN DE ADMINISTRACION.

El uso principal de la tiamina es para prevenir o curar el beriberi o la deficiencia de tiamina.

El beriberi es caracterizado por la acumulación de ácido pirúvico y ácido láctico en la sangre y deterioro de los nervios cardiovasculares y el sistema gastrointestinal. Esto ocasionalmente se ve en alcoholismo crónico y en una mala nutrición.

En la deficiencia grave de tiamina o beriberi clásico ; el empleo de esta vitamina ha revolucionado el tratamiento ; los pacientes curan rápidamente y los resultados son espectaculares , - tanto en la forma neurítica , cardíaca o cardiopatía de origen dietético , como en la cerebral .

Conviene comenzar por la vía oral 50 a 100 mg diarios para pasar , cuando los síntomas mejoren , a no ser que hayan trans - tornos gastrointestinales , a la oral , siendo suficientes de los 10 a 25 mg diarios hasta la desaparición de los síntomas.

En la llamada polineuritis alcohólica ; la del embarazo y la neuritis de la pelagra , que obedecen todas a las misma causas , está indicada en la administración de Clorhidrato de Tiamina , a la dosis usuales .

1.14 SINTESIS. (23)

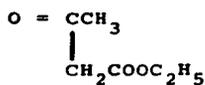
La vitamina consiste de dos anillos, una porción pirimidina y una porción tiazol unidos por un puente metileno.

La vitamina se puede sintetizar de la siguiente forma:

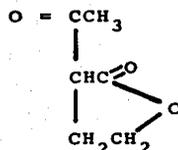
El acrilato de etilo se calienta con alcohol etílico formando el éster β -etoxipropiónico (1) el cual es condensado en la presencia de sodio metálico con ácido fórmico para formar el enol de etil sodioformil- β -etoxipropionato (2) luego es condensado con acetamida para dar el 2-metil-5-etoximetil-5-hidroxiimidina (3). Este compuesto es tratado con oxocloruro fosforoso de tal modo que reemplaza el OH del carbono 6 por Cl, y por la reacción resulta un derivado de Cloro; que con amoníaco el Cl es reemplazado por NH_2 . Finalmente tratando el producto anterior con HBr; se produce el 2-metil-5-Bromometil-6-aminimidina Bromhidrato (4).

La porción de tiazol de la molecula de tiamina se puede formar de la siguiente manera : El acetoacetato de etilo es tratado con óxido de etileno y da el acetil butiril lactona (5) cuando reacciona con cloruro de sulfuril, para dar el cloroacetil butiril lactona. Este compuesto es descarboxilado cuando se calienta con ácido clorhídrico, desprendiendo CO_2 y produciendo Cloroacetopropanol (6). Este cuando es condensado con tioformamida da el tiazol, 4-metil-5-hidroxiimidintiazol (7).

La etapa final de este proceso es la combinación de la imidina y el tiazol para dar un haloideo (metal-halógeno). Esta es una simple adición de un haloideo alquil (bromimidina) para dar una amina terciaria (el tiazol) esto se efectúa rápidamente por inducción de los 2 compuestos simultáneamente en un disolvente adecuado. La vitamina bromobromhidrato es obtenida y transformada en el compuesto de cloro correspondiente, la tiamina precipita con cloruro de plata y reemplaza el bromo y se forma el Cloruro de Tiamina Clorhidrato (8).



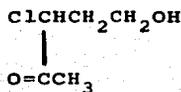
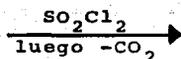
Aceto acetato de Etilo



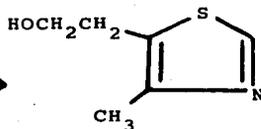
(5)

Acetil butiril lactona

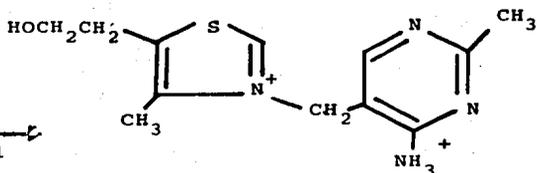
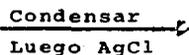
Acetil Butiril Lactona



(6)

 γ -Cloro- γ -Acetil propanol γ -Cloro- γ -Acetil
Propanol

(7)

Tioforma-
mida4-metil-5-(β -hidroxi-etil)tiazol2-metil-5-
Bromometil
-6-aminopi-
rimidina
Bromhidrato
+
4-metil-5-
(β -hidroxi-
etil)Tiazol 2Cl^-

Cloruro de Tiamina Clorhidrato

2. ESTABILIDAD

2.1 ESTABILIDAD (15,16,19) .

La evaluación de la estabilidad de un producto farmacéutico se divide en un estudio químico y en un estudio físico de las formulaciones; en verdad no existe una división absoluta.

El conocimiento de la estabilidad física de una formulación es muy importante por lo siguiente:

1. Un producto farmacéutico debe aparecer reciente, elegante y profesional; no debe presentar residuos de materia en el anaquel. Cualquier cambio en la apariencia física; como la disminución o cambio de color, puede causar que el paciente o el consumidor pierda confianza en el producto.
2. Algunos productos requieren ser acondicionados en contenedores de dosis múltiple. El contenido de dosis del ingrediente será uniforme.
3. La actividad del ingrediente activo debe ser aprovechada por el paciente; un cambio físico puede hacer que el medicamento no sea disponible al paciente.

Las causas químicas de la degradación de una formulación se clasifica de la siguiente forma:

A) INCOMPATIBILIDAD

Existen reacciones indeseables entre 2 o más fármacos como resultado de una incompatibilidad física, química o terapéutica.

Una incompatibilidad se define como una interacción física o química entre 2 o más fármacos; cuando existen cambios posteriores visibles y reconocibles, como puede ser la formación de un precipitado grueso-oscuro o un cambio de color.

Una incompatibilidad química se define como una reacción en la cual no ocurre un cambio visible.

Una incompatibilidad terapéutica se define como una interacción farmacológica indeseable entre 2 o más componentes la cual puede :

1. Potenciar los efectos terapéuticos de los componentes.
2. Destruir la efectividad de uno o más de los componentes.
3. Manifestar una reacción tóxica en el paciente.

B) OXIDACION-REDUCCION

La descomposición oxidativa de compuestos farmacéuticos es la responsable de la inestabilidad de un número considerable de preparaciones: por ejemplo, las vitaminas.

Con frecuencia, pero no siempre, es la adición de oxígeno o remoción de un hidrógeno. Cuando el oxígeno molecular está involucrado en la reacción se conoce como Autooxidación y esta ocurre espontáneamente y un poco lenta a temperatura ambiente.

La oxidación o la pérdida de electrones de un átomo, frecuentemente involucra radicales libres y subsecuentemente reacciones en cadena; solo una pequeña cantidad se requiere para iniciar una reacción en cadena.

La presencia de trazas de metales pesados como iones cúprico, crómico, ferroso y férrico; catalizan reacciones de oxidación. Por consiguiente; añadiendo agentes quelantes en el agua ,

libres de metales pesados y trabajando con un equipo de manufactura especial, reduce la influencia de metales pesados en una formulación.

El uso de antioxidantes puede inhibir la oxidación, protege o inhibe las cadenas de radicales libres que inducen la descomposición; el efecto de los antioxidantes es dispersar las cadenas formadas durante el proceso de propagación para proveer un átomo de hidrógeno o un electrón para los radicales libres y recibiendo el exceso de energía poseída por la molécula activa.

C) HIDROLISIS

Existen productos farmacéuticos que contienen ésteres o grupos funcionales ésteres o amidas, las cuales sufren hidrólisis en solución; ejemplo de estos fármacos son: los anestésicos, antibióticos, vitaminas y barbitúricos.

Cuando la hidrólisis ocurre, la concentración del principio activo decrece; mientras que la concentración de descomposición se incrementa.

El efecto de este cambio sobre la velocidad de la reacción depende del orden de la misma.

Los métodos para mejorar la estabilidad de los productos que sufren este tipo de degradación son los siguientes :

1. pH

Como varias reacciones hidrolíticas son catalizadas por iones hidronio e hidroxilo, el pH es un factor importante en la determinación de la velocidad de la reacción.

El intervalo de pH de mínima descomposición (o máxima estabilidad) depende del ión que tenga el máximo efecto sobre la

reacción .

2. TIPO DE DISOLVENTE .

Un reemplazo parcial o completo del agua por un disolvente de baja constante dieléctrica generalmente causa una considerable disminución en la velocidad de hidrólisis del éster . Ejemplos : etanol , glicoles , manitol , etc .

3. COMPLEJACION .

Las velocidades hidrolíticas pueden ser diferenciadas por dos vías :

- a) Formación de un complejo especialmente estérico o polar .
- b) Puede ser afectado por la influencia electrónica del agente-acomplejante , el cual puede alterar la afinidad del ión carbónico del éster .

4. SURFACTANTES .

Los surfactantes no iónicos , catiónicos y aniónicos estabilizan el fármaco contra catálisis básica .

5. MODIFICACION DE LA ESTRUCTURA QUIMICA .

Si se añaden ciertos sustituyentes a la cadena alquil o arcil de ésteres alifáticos o aromáticos o del anillo de benceno - de ésteres causa una disminución en la velocidad hidrolítica . Esto es posible si se atribuye a un efecto estérico y / o efecto polar del grupo sustituyente .

D) RACEMIZACION .

La racemización o el proceso de cambio de un compuesto o en una mezcla ópticamente activa conforme a las formas dextro - (d^+) y levo (l^-) es un factor para la estabilidad farmacéutica.

En general , la racemización sigue cinética de primer orden y depende de la temperatura , disolvente , catálisis y la presencia o ausencia de luz .

La racemización aparece y depende del grupo funcional que tiene el átomo de carbono asimétrico , tendiendo a acelerar el proceso .

E) DESCARBOXILACION .

La descarboxilación se refiere a la pérdida de dióxido - de carbono de una sustancia química como el ácido carboxílico .

La degradación a través de la descarboxilación usualmente no se encuentra en Farmacia . En este tipo de reacciones se requieren altas energías de activación (25 a 30 Kcal) .

F) FOTOLISIS .

Un fármaco puede ser afectado químicamente por radiaciones de una longitud de onda particular si :

1. Absorbe radiación a esa longitud de onda .
2. La energía excede en un principio .

La radiación ultravioleta que tiene un amplio nivel de energía es la causa de muchas reacciones de degradación.

La velocidad de la reacción puede ser afectada por la intensidad de la luz , la longitud de onda de la luz , la medida , la forma , la composición y el color de los contenedores .

G) RADIACION DE IONIZACION

La radiación ionizante, particularmente de rayos gamma se usan para la esterilización de ciertos productos farmacéuticos, la dosis usual de esterilización raramente causa apreciable degradación química.

En general las formulaciones que se encuentran en estado sólido son más resistentes a la degradación de radiación ionizante.

2.2 EVALUACION ACELERADA DE LA ESTABILIDAD

A) SUSTANCIA FARMACEUTICA

Las muestras sólidas y en solución se someten a varias pruebas, para establecer el efecto del calor, luz, oxígeno y estabilidad del pH de las sustancias farmacéuticas.

1. ESTABILIDAD FRENTE AL CALOR

La estabilidad frente al calor de una sustancia farmacéutica, tiene mayor influencia en su forma física del producto inyectable.

Los fármacos que no son estables en solución, requieren ser almacenados en refrigeración o ser liofilizados.

Una sustancia farmacéutica puede adquirir el siguiente programa de estabilidad frente al calor:

Se pesan exactamente las muestras de la sustancia farmacéutica, se colocan en contenedores adecuados (ejemplo: ampollitas) y se efectúan las siguientes variaciones:

- a) Se adiciona a la sustancia farmacéutica una humedad del 5% (ejemplo: el agua).
- b) Se equilibra el fármaco a una humedad relativa del 75%.
- c) Se cubre el espacio de la ampollita con atmósfera de nitrógeno o argón (previo al sellado).

Las ampollitas se sellan y se colocan a varias condiciones de temperatura.

Las muestras se prueban, de acuerdo al esquema de la Tabla (1). El investigador seleccionará el tiempo y las mejores condiciones para utilizar la información adecuada. Las muestras a refrigeración y a temperatura ambiente sirven como controles para el procedimiento de valoración y con frecuencia se prueban solo si se ha observado una pérdida a altas temperaturas'

TABLA (1)

Temperatura °C	Duración (Semanas)			
	1	2	3	8
REFRIGERACION	(X)	(X)	(X)	(X)
TEMPERATURA AMBIENTE	(X)	(X)	(X)	(X)
55	X	X	X	X
75	X	X	X	X
95	X	X	X	X

*

Los paréntesis indican la salida de las muestras sin valorar.

2. ESTABILIDAD FRENTE A LA LUZ

El efecto de la luz sobre la estabilidad física o química de un fármaco se examina para determinar si se requiere la protección a la luz de la sustancia farmacéutica solamente en la forma de dosificación final. Los cambios de estabilidad pueden ocurrir en un cambio de color, precipitación, cambio de pH

o descomposición. Aunque no se demuestran métodos para la extrapolación de los datos de estabilidad acelerada a la luz a las condiciones normales de la luz.

Las muestras de una sustancia farmacéutica se colocan en una caja petri abierta para exponer una superficie amplia.

Los controles se colocan en contenedores resistentes a la luz como: el vidrio ámbar, envoltura de aluminio o cajas de cartón; una solución o suspensión de un fármaco se empaqueta en ampollitas claras y protegidas de la luz, las muestras se colocan en un anaquel de dimensiones específicas provisto de un monitor de temperatura y un tragaluz, las muestras serán expuestas durante 4 semanas y se examinarán semanalmente.

Si ocurre un cambio de color perceptible, cambio de pH o precipitación de un sólido o una solución en ampollitas claras el compuesto puede considerarse potencialmente sensible a la luz.

Los cambios significativos pueden ser una limitación a la estabilidad física de un fármaco en estado seco o en la formulación, igual si la estabilidad química no es afectada significativamente.

3. EFECTO DEL OXIGENO

Para estudiar el efecto del oxígeno de una sustancia farmacéutica o bien de una solución de una sustancia farmacéutica. Las muestras se colocan en ampollitas, previo al sellado el espacio de la ampollita es evacuado y purgado con un gas inerte como el argón o el nitrógeno. Se usan muestras con aire como controles positivos. Las muestras se colocan a 75°C durante una semana para después ser analizados.

El efecto de la oxidación es más notable cuando se usan

cantidades pequeñas de fármaco. La oxidación significativa puede ser evidente por pérdida de la potencia, o cambio de color.

Los siguientes métodos se usan para reducir o eliminar la oxidación de preformulación.

- a) Purgando la solución o suspensión y el espacio del contenedor con un gas inerte como el nitrógeno o el argón.
- b) Uso de antioxidantes como bisulfito de sodio, sulfito de sodio y sulfoxilato formaldehído de sodio.
- c) Uso de complejantes como edetato de sodio, el cual sirve para complejar iones de trazas de metales, capaces de acelerar las reacciones oxidativas.
- d) Uso de contenedores bien sellados como ampollitas, evitando el uso de viales de dosis múltiple.

4. PERFIL DE pH-ESTABILIDAD

Se desarrolla con muestras en solución entre pH 2 a 12 a una temperatura elevada seleccionada. Se preparan soluciones de referencia, cerca de la concentración deseada del producto ; usando soluciones amortiguadores dentro del intervalo de pH seleccionado y envasado en ampollitas. Las muestras se colocan en un baño de temperatura entre 55 a 95°C durante 2 semanas. Nuevamente el aire de la ampollita es reemplazado con nitrógeno o argón para evitar cualquier efecto oxidante.

A intervalos preseleccionados, las muestras se sacan y se valoran por un procedimiento que separa el fármaco principal de los productos de degradación. Y se grafican los datos.

5. ESTUDIOS DE AUTOCLAVEADO

Ya que el autoclaveado es un medio preferido de esterilización de soluciones, se hará una determinación anticipada de autoclaveado. Las ampollitas que contienen soluciones a un intervalo de pH previamente establecido se exponen a condiciones de autoclaveado a 121°C a 30 psig durante 20, 30, 45 y 90 minutos. Los puntos superiores del tiempo se usan para forzar la degradación. Los datos de la valoración se registran al mismo tiempo con la evaluación del cambio de color, pH y contenido de partículas de materia.

3. PRODUCTOS PARENTERALES (15 , 19)

Un producto parenteral puede definirse como una solución o suspensión estéril que es acondicionado de una manera adecuada, para ser administrada por vía hipodérmica.

3.1 DESARROLLO DEL PRODUCTO

1. TIPO DE VEHICULOS.

ACUOSOS

La mayoría de los productos inyectables son administrados en solución acuosa por la compatibilidad fisiológica del agua con los tejidos del cuerpo. Adicionalmente, la alta constante dieléctrica del agua hace posible disolver electrólitos ionizables; y su puente de hidrógeno facilita la solución de alcoholes, aldehídos, cetonas y aminas.

El agua es el disolvente de preferencia para preparar parenterales, la cual debe ser fresca y libre de pirógenos.

Otros requerimientos incluyen no más de 10 partes por millón (ppm) de sólidos totales, un pH de 5.0 a 7.0, ausencia de cloruros, sulfatos, calcio, iones amónico y dióxido de carbono y límites para metales pesados y material orgánico (taninos, ligninas).

MISCIBLES CON EL AGUA

Los cosolventes son empleados en aquellos sistemas en la cual una solución acuosa es totalmente inadecuada por razones

químicas o físicas. Aunque estos disolventes miscibles con agua son usados en productos parenterales; principalmente para mejorar la solubilidad del fármaco, también sirven como estabilizadores para aquellos fármacos que se degradan por hidrólisis.

Los disolventes más comunes incluyen la glicerina, alcohol etílico, propilenglicol y polietilenglicol 300 y 400.

NO ACUOSOS. Los fármacos que son insolubles en sistemas acuosos y son con frecuencia incorporados en aceites vegetales, como el cacahuate, sésamo, maíz y olivo. Las soluciones inyectables oleosas son solo administradas intramuscularmente.

2. SUSTANCIAS AÑADIDAS.

Las sustancias añadidas como antioxidantes, amortiguadores, agentes quelantes, agentes antimicrobianos, agentes solubilizantes y agentes que ajustan la tonicidad frecuentemente se incorporan en fórmulas parenterales, para proporcionar seguridad, eficacia y formas de dosificación elegantes.

Las sustancias añadidas no deben ser tóxicas (en la cantidad administrada al paciente), no deben interferir con el efecto terapéutico, ni con la valoración de la actividad terapéutica del componente.

a) AMORTIGUADORES.

Una preparación farmacéutica puede sufrir cambios de pH durante su almacenamiento, como consecuencia de las reacciones de degradación del producto, la interacción con los componentes del contenedor (ej: vidrio o plástico) o la disolución de gases y vapores.

Para evitar estos problemas es necesario la adición de sustancias amortiguadoras con el fin de resistir el cambio de pH.

Un sistema amortiguador puede ser cualquier base débil y la sal de una base débil o un ácido débil y la sal de un ácido débil; el cual deberá mantener el pH del producto a un valor estable. Los sistemas más comunes para productos inyectables son: acetatos, citratos, fosfatos y glutamatos.

b) ANTIOXIDANTES.

Muchos fármacos en solución están sujetos a degradación oxidativa. Tales reacciones son influenciadas por radicales libres o por el oxígeno molecular y con frecuencia involucra la adición de oxígeno o remoción de hidrógeno. La descomposición oxidativa es catalizada por iones metálicos, hidrógeno e hidroxilo.

Los agentes que tienen un potencial de oxidación bajo se llaman antioxidantes; tales agentes son añadidos a soluciones parenterales ya sea solos o en combinación con un agente quelante u otro oxidante y funcionan por diversos caminos:

1. Por bloqueamiento de una reacción oxidativa en cadena, los cuales no son consumidos usualmente.
2. Preferentemente son oxidados y se consumen gradualmente.

Con frecuencia un simple antioxidante, no puede ser eficiente para proteger totalmente al producto; por lo que se encontró que ciertos compuestos (ejem: ácido ascórbico y ácido cítrico) actúan como sinergistas, de manera que incrementan la eficiencia de los antioxidantes, particularmente aquellos que bloquean las

reacciones oxidativas.

c) **ANTIMICROBIANOS.**

Los agentes con actividad antimicrobiana son adicionados a las preparaciones que son envasadas en contenedores de dosis múltiple; en el caso de que se trate de un agente bacteriostático (el antimicrobiano no será añadido o también en el caso que la monografía lo prohíba).

Los antimicrobianos son adicionados también a soluciones de dosis única (las cuales no son esterilizadas en la etapa final de su manufactura) . En el caso de preparaciones de dosis múltiple, el agente microbiano es un bacteriostático el cual inhibe cualquier microorganismo introducido accidentalmente, mientras se retira la dosis. Los agentes antimicrobianos también pueden servir como auxiliar en el proceso aséptico del producto (jeringas) donde el producto puede ser expuesto durante las operaciones de transferencias, envasado y tapado.

Los agentes antimicrobianos son excluidos específicamente en soluciones inyectables de gran volumen, los cuales se usan para proporcionar fluidos, nutrientes o electrólitos.

d) **TONICIDAD.**

Las soluciones isotónicas ejercen la misma presión osmótica del plasma de la sangre; otras soluciones pueden ejercer menos presión osmótica del plasma (hipotónicas) o mayor presión osmótica (hipertónicas). Las células rojas de la sangre (eritrocitos) se hinchan cuando se introducen en soluciones hipotónicas, asimismo las células rojas pueden perder agua y contraer

se (deshidratación).

En una solución de cloruro de sodio al 0.9% las células mantienen su tono, de manera que la solución es isotónica con los eritrocitos humanos.

La administración de una solución hipertónica será lenta para permitir la dilución en la sangre. En algunos casos las soluciones inyectables pueden producir dolor, por lo cual será necesario adicionar un anestésico local.

4. VALIDACION DE UN METODO ANALITICO. (3, 9, 20)

La capacidad de un procedimiento analítico se evalúa determinando una o más de sus características funcionales. Con el propósito de conocer sus posibles desviaciones y ver como lo afectan. Para validar un método analítico es necesario conocer : la Especificidad, Linearidad, Precisión y Exactitud.

4.1 ESPECIFICIDAD.

En estabilidad, un método analítico es específico si al determinar sus mediciones, éstas se deben solo a la sustancia - por analizar y no a otras sustancias que estén presentes en el - producto.

El método analítico se considera validado bajo el si - guiente criterio:

- No debe presentar interferencias con los excipientes del producto.
- La valoración no tendrá interferencias con los productos de degradación.
- No debe presentar interferencias de contaminantes o impurezas de síntesis.

4.2 LINEARIDAD.

Es una medida, del grado en el cual la curva de calibración analítica se aproxima a una línea recta o el grado en el - cual la sensibilidad es constante.

Esta línea se obtiene al graficar; el número de mues - tras obtenidas en el procedimiento de referencia. La línea tiene

una pendiente (b) cercana a la unidad y un intercepto a la ordenada (a) de cero; y todos los puntos caerán sobre la línea.

X - relaciona las concentraciones de las muestras.

Y - relaciona los valores de las señales usadas para derivar esa concentración.

En este caso se presenta la ecuación :

$$Y = X$$

donde (Y) resulta de la prueba del método y (X) resulta del método de referencia, y así obtener la siguiente ecuación:

$$Y = a + b x$$

Idealmente los resultados estarán correlacionados y el coeficiente de correlación (r) será igual a la unidad.

4.3 PRECISION Y EXACTITUD

La precisión y la exactitud determina simultáneamente el error de una determinación individual. Y su magnitud es uno de los criterios más importantes para juzgar un procedimiento analítico y así obtener una opinión válida de los resultados.

4.3.1 CATEGORIA DE ERRORES EN QUIMICA ANALITICA.

- a) Errores al azar (indeterminados), la causa son mediciones imprecisas, y por eso se imponen medidas de precisión o imprecisión.

- b) Errores sistemáticos (determinados) los resultados están en términos de la exactitud.

4.3.2. PRECISION.

La precisión se refiere a el grado de concordancia de mediciones repetidas de una misma propiedad y se expresa en términos de Repetibilidad y Reproducibilidad.

A) REPETIBILIDAD.

Se expresa como la concordancia entre los resultados sucesivos obtenidos con el mismo método bajo las mismas condiciones (analista, aparatos, laboratorios y tiempos).

B) REPRODUCIBILIDAD.

Se expresa como la concordancia entre los resultados individuales obtenidos con el mismo método pero bajo condiciones diferentes (analistas, aparatos, laboratorios y tiempos).

4.3.3 EXACTITUD.

La exactitud se define como el grado de concordancia entre el promedio de los resultados obtenidos experimentalmente y el valor verdadero.

La exactitud de un Método Analítico se puede determinar por el Método de Adición o por Método de Recobro.

1. METODO DE RECOBRO

Se realiza con placebos cargados y consiste en la adición de una cantidad conocida del principio activo a una mezcla de excipientes del producto y después se valora esta mezcla. Los resultados obtenidos se comparan con el resultado esperado.

2. METODO DE ADICION.

Este método consiste en valorar antes la muestra, después se le adiciona una cantidad conocida del principio activo y se vuelve a valorar la mezcla. La diferencia entre los resultados de las dos valoraciones se comparan con la respuesta esperada. Ambas cantidades serán idénticas, pero debido a la presencia de errores al azar, generalmente esto no ocurre; los procedimientos mencionados pueden ser examinados por diferentes caminos:

- A) Se pueden comparar las pendientes de la regresión lineal obtenida en la curva de calibración de la sustancia de referencia; con el propósito de observar si ambas difieren significativamente o si la sensibilidad es diferente.
- B) Se pueden comparar los resultados obtenidos de la adición con los obtenidos en la determinación directa.

MEDIA.

Se define como la suma de todos los valores de una población

o muestra, dividida entre el número de valores que se sumaron.

$$\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$$

DESVIACION ESTANDAR.

Es la raíz cuadrada de la (suma de los cuadrados de las desviaciones individuales resultantes de la media), dividida entre el número de resultados menos uno.

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

COEFICIENTE DE VARIACION.

Expresa la desviación estándar como un porcentaje de la media. La fórmula está dada por:

$$C.V. = \frac{s}{\bar{X}} \quad (100)$$

ERROR ESTANDAR.

Es una medida de la variabilidad de la media. Estadísticamente es igual a la desviación estándar de los datos, dividida por \sqrt{N} , donde N es el número de muestras.

$$\frac{s}{\bar{X}} = \frac{s}{\sqrt{N}}$$

LIMITE DE CONFIANZA.

L.C. = (Estimador) (Coeficiente de Confiabilidad) (Error estandar).

3. HIPOTESIS.

En la prueba de hipótesis se trabaja con dos hipótesis que se deben enunciar explícitamente. La primera es la hipótesis que debe probarse, conocida como la hipótesis nula y que se designa con el símbolo H_0 y en general se establece con el propósito de ser desacreditada. En el proceso de prueba, la hipótesis nula se rechaza o bien no se rechaza.

Si la hipótesis nula no se rechaza los datos proporcionan evidencia suficiente que provoque el rechazo. Si la prueba rechaza, se concluirá que los datos no son compatibles con la hipótesis nula, pero son apoyo de alguna hipótesis que se conoce como hipótesis alternativa y que se designa como H_A .

Para determinar si la técnica es exacta o no se establecen las siguientes hipótesis :

Hipótesis nula H_0 : $\mu = \mu_0$

Hipótesis alternativa H_A : $\mu \neq \mu_0$

La decisión de rechazar o no rechazar la hipótesis nula depende de la magnitud de prueba y se determina con el estadígrafo " t " expresado por:

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

Donde :

\bar{x} = Promedio de los porcentos de recuperación de las -
muestras.

μ = Parámetro que representa el valor real del porcenta-
je de recobro.

S/\sqrt{n} = Error estándar .

La decisión por lo que respecta a cuales valores van hacia la región de rechazo y cuales a la región de aceptación se toman con base en el nivel de significación deseado que se designa por α .

Para evaluar la hipótesis con un error de tomar una deci-
sión equivocada $\alpha = 0.05$.

PRECISION .

La evaluación de la repetibilidad se efectúa mediante el cálculo de la desviación estándar del conjunto de datos.

Para inferir la variabilidad a partir de los datos muestrales se emplea una estadístico de prueba Ji Cuadrada (χ^2) .

$$\chi^2 \text{ calculado} = \frac{(n - 1) (s^2)}{\sigma_0^2}$$

Donde :

n = Número de observaciones de muestras independientes.

s^2 = Varianza muestral.

σ_0^2 = Es el parámetro que nos representa la variabilidad -
del método, llamada varianza poblacional.

Dado que la variación debe ser menor al 2% ; se establecen las siguientes hipótesis .

$$H_0 : \sigma^2 = 0.02$$

$$H_A : \sigma > 0.02$$

y una región de rechazo o aceptación de $\alpha = 0.05$.

Se determina el intervalo de confianza del 95% para la estimación de σ , para evaluar dentro de que intervalos se localiza el valor verdadero del parámetro, mediante la siguiente expresión :

$$\sqrt{\frac{(n - 1) s^2}{\chi^2_{1-\frac{\alpha}{2}}}} < \sigma < \sqrt{\frac{(n - 1) s^2}{\chi^2_{\frac{\alpha}{2}}}}$$

Donde :

n = Número de muestras independientes.

s^2 = Varianza de los datos de porcentaje de recobro.

χ^2 = Valor teórico del estadígrafo que tiene asociada una confianza del 95% .

σ = Desviación estándar poblacional.

IV PARTE EXPERIMENTAL

1. VALORACION DE CLORHIDRATO DE TIAMINA.

Es necesario establecer un Método Analítico adecuado - que permita cuantificar el Clorhidrato de Tiamina en solución inyectable. Existen diversas técnicas para valorar el Clorhidrato de Tiamina; en este caso se aplicará un Método Fluorométrico ; - por ser altamente específico, el cual se basa en la oxidación - del Clorhidrato de Tiamina en medio básico para formar el Tio - cromo el cual fluoresce a la luz ultravioleta. Así mismo es nece-sario la Validación del Método Analítico.

1.1 MATERIALES.

1.1.1 REACTIVOS

Clorhidrato de Tiamina	Prod. Roche.
Metanol absoluto R.A	J.T. Baker.
Acetonitrilo R.A	J.T. Baker.
Acido Clorhídrico R.A	J.T. Baker.
Ferricianuro de potasio R.A	J.T. Baker.
Hidróxido de sodio R.A	J.T. Baker.
Alcohol isobutílico R.A	J.T. Baker.
Alcohol etílico absoluto R.A	J.T. Baker.

1.1.2 EQUIPO

Cromatoplacas de sílica gel	
60 F ₂₅₄ de 20 X 20 cm.	
Microjeringa de 100 mcl	Hamilton
Cronómetro	
Agitador mecánico	

Cámara para Cromatografía en Capa Fina.	
Fluorómetro	Turner Model 111
Revelador de Ultravioleta	Ultraviolet Products Inc.
Papel filtro	Whatman # 1
Embudos de filtración	Pyrex
Matraces volumétricos de 10, 25 y 100 ml.	Pyrex
Pipetas volumétricas de 1, 2 y 5 ml	Pyrex
Pipetas graduadas de 5 y 10 ml	Pyrex
Tubos de ensaye	Pyrex
Probetas de 10 y 25 ml	Pyrex
Matraces erlenmeyer de 250 ml	Pyrex
Frascos ámbar de 50 ml	
Gradilla	

1.2 METODO ANALITICO

VALORACION DE CLORHIDRATO DE TIAMINA

PREPARACION DE LA SOLUCION DE REFERENCIA.

Pesar con exactitud alrededor de 100 mg de Clorhidrato de Tiamina sustancia de referencia y colocarlos en un matraz volumétrico de 25 ml; agregar 20 ml de metanol y agitar mecánicamente hasta disolución. Completar el aforo con el mismo disolvente. (Conc. 4.0 mg/ml).

PREPARACION DE LA SOLUCION PROBLEMA.

Colocar en un matraz volumétrico de 25 ml, un volumen de solución inyectable de Clorhidrato de Tiamina equivalente a cerca de 100 mg de ella; agregar 15 ml de metanol y agitar hasta homogeneizar la muestra. Completar el aforo con el mismo disolvente. (Conc. 4.0 mg/ml).

Cromatografía

Usar cromatoplasmas de sílica gel - 60 P₂₅₄ de 20 x 20 cm.

Fase móvil : Acetonitrilo : Metanol : Agua (38:3:3). Colocar la fase móvil en una cámara cromatográfica dejando saturar la misma un mínimo de 2 horas a una temperatura entre 25 y 30 °C.

Aplicación de las Muestras :

Aplicar 75 microlitros tanto del problema como de la solución de referencia (por duplicado), dejando un carril como blanco (cantidad aplicada 300 mcg). Dejando correr la placa 18 cm; secar con aire frío y revelar con luz ultravioleta.

Identificación de Manchas :

La mancha correspondiente a Tiamina Clorhidrato se encuentra localizada en el sitio de aplicación. Raspar cada una de las manchas correspondientes de Clorhidrato de -

Tiamina y colocarlos en tubos de ensaye de 10 ml, continuando con el siguiente tratamiento :

Adicionar a cada tubo 5 ml de ácido clorhídrico 0.1 N y agitar fuertemente por 3 minutos. Filtrar las muestras a través de papel Whatman # 1 recolectando los filtrados en matraces volumétricos de 100 ml. Lavar con suficiente solución de ácido clorhídrico tanto los tubos como el papel filtro, hasta completar el volumen. Es conveniente filtrar completamente los primeros 5 ml y después comenzar con los lavados para evitar retener la muestra. (Conc . 3.0 mcg/ml).

De la solución anterior tomar 2 ml y colocarlos en un matraz volumétrico de 25 ml completando a volumen con ácido clorhídrico 0.1 N . (Conc. 0.24 mcg/ml) .

Colocar 5 ml de esta solución en un frasco ámbar de 120 ml de boca ancha con tapón con cierre hermético.

Tratar de la misma manera la solución de referencia y finalizar el tratamiento de la siguiente manera :

Adicionar rápidamente a cada frasco 3 ml de reactivo oxidante y 25 ml de alcohol isobutílico, tapando de inmediato los mismos (lo anterior debe efectuarse en 60 segundos o menos para dos muestras tratadas simultáneamente).

Agitar vigorosamente por 90 segundos (no debe escurrir líquido fuera del frasco durante la agitación). Destapar y agregar a cada frasco 5 ml de etanol absoluto.

Homogeneizar suavemente evitando la formación de una emulsión. Con una pipeta de 10 ml extraer el isobutanol (fase superior) y colocarlos en celdas para fluorómetro (la muestra debe ser transparente).

Leer las soluciones en un fluorómetro adecuado tanto del problema como de la solución de referencia tratada de la misma manera que el problema, en un tiempo no mayor a 2 minutos contando después de la adición de etanol.

PREPARACION DEL REACTIVO OXIDANTE.

Preparar una solución de ferricianuro de potasio al 1.0% en agua (es estable solo 1 día) .

Tomar 2 ml de la solución de ferricianuro y colocarlos en un matraz volumétrico de 25 ml completando a volumen con hidróxido de sodio 3.5 N (14%). (Solución oxidante) . Estabilidad 4 horas.

CALCULOS .

$$\frac{F_m}{F_{ref.}} \times \frac{C_{ref.}}{C_m} \times \text{pureza ref.} = \% \text{ de Clorhidrato de Tiamina}$$

F_m = Fluorescencia del problema.

F_{ref} = Fluorescencia de la muestra de referencia.

C_{ref} = Concentración de la muestra de referencia.

C_m = Concentración del problema.

2. VALIDACION DEL METODO ANALITICO

2.1 ESPECIFICIDAD

La prueba de especificidad se realizó mediante las siguientes pruebas :

- a) Se analizó el Placebo de la solución inyectable de Clorhidrato de Tiamina.
- b) Se sometió la solución inyectable de Clorhidrato de Tiamina y el Placebo de Clorhidrato de Tiamina a una temperatura de 100°C durante 24 horas.
- c) Se prepararon soluciones de Clorhidrato de Tiamina a la misma concentración y a diferentes pH ; las cuales se analizaron después de 2 horas de su preparación.
 1. Solución de Fosfatos. pH 6.8
 2. Solución de Hidróxido de sodio 0.1 N
 3. Solución de Hidróxido de sodio 1.0 N
 4. Solución de Acido clorhídrico 1.0 N
 5. Agua

Las soluciones nos permiten observar los productos de degradación del Clorhidrato de Tiamina, obtenidos a diferentes pH .

- d) Se verificó la existencia de los productos de degradación del Clorhidrato de Tiamina mediante Cromatografía en Capa Fina.

2.2 LINEARIDAD DE LA SUSTANCIA DE REFERENCIA.

La linealidad de la sustancia de referencia se realizó bajo las condiciones siguientes :

- A) Se realizó con un mínimo de cinco puntos; dentro de un intervalo de concentración de Clorhidrato de Tiamina de 50 a 150 % .
- B) La linealidad se efectuó por duplicado para obtener el promedio de cada punto.
- C) Se graficó la respuesta contra las concentraciones respectivas de Clorhidrato de Tiamina.

2.3 LINEARIDAD DE LA MUESTRA.

La linealidad de la muestra se realizó con el fin de asegurar que se sigue conservando ésta relación en el producto ; - pese a la presencia de los ingredientes del vehículo. La prueba se realizó bajo las condiciones siguientes :

- A) Se prepararon Placebos de Clorhidrato de Tiamina a los cuales se les adicionaron cantidades conocidas del principio activo dentro de un intervalo de concentración de 50 a 150 % .
- B) Los placebos se cargaron en un mínimo de cinco concentraciones.
- C) El análisis se hizo por duplicado para obtener el promedio de cada punto.

2.4 PRECISION Y EXACTITUD.

La precisión del método se basa en la Repetibilidad y la Reproducibilidad, ambas se analizan en esta prueba. La Exactitud también se determina conforme a lo siguiente:

- A) Se preparan placebos cargados a las concentraciones de 80, 100 y 120% del principio activo.
- B) Se analizan 6 veces las muestras para cada concentración.
- C) Se calculan los mg agregados, los mg encontrados y el % de Recuperación.

3.0 VALORACION ESTADISTICA DEL METODO (3,9)

3.1 ESPECIFICIDAD DEL METODO ANALITICO.

1. En el análisis del Placebo por Cromatografía en Capa Fina se observó que no presenta ninguna mancha, lo cual indica que no hay interferencias por parte del Placebo.
2. Las manchas producidas por los productos de degradación obtenidos (durante el calentamiento de la solución inyectable de Clorhidrato de Tiamina) no interfieren con la mancha de Clorhidrato de Tiamina.
3. En el análisis de cada una de las soluciones de Clorhidrato de Tiamina (sometidas a diferentes pH), se observó que sólo las soluciones de Hidróxido de sodio 0.1 N, Hidróxido de sodio 1.0 N y Acido Clorhídrico 1.0 N presentan productos de degradación, pero éstos no interfieren con el principio activo analizado.

A continuación se presentan los Rf de los productos de degradación de cada una de las soluciones:

A. Solución de Hidróxido de sodio 1.0 N

1. Rf = 0.187
2. Rf = 0.277

B. Solución de Hidróxido de sodio 0.1 N

1. Rf = 0.193
2. Rf = 0.297

C. Solución de Acido Clorhídrico 1.0 N

1. Rf = 0.773

D. Solución de Clorhidrato de Tiamina sometida a calentamiento.

1. Rf = 0.576

CRITERIO :

Los productos de degradación obtenidos durante la prueba de Especificidad y los componentes del vehículo; no interfieren con el Clorhidrato de Tiamina. Por lo tanto se asegura que el Método Analítico es ESPECIFICO.

3.2 LINEARIDAD DE LA SUSTANCIA DE REFERENCIA.

MUESTRA	% DE CLORHIDRATO DE TIAMINA SUSTANCIA DE REFERENCIA.	LECTURA FLUORESCENCIA (%)
1	50	28
2	75	35
3	100	48
4	125	62
5	150	74
	Duplicado	
6	50	23
7	75	35
8	100	48
9	125	61.5
10	150	76

% DE CLORHIDRATO DE TIAMINA SUSTANCIA DE REFERENCIA.	LECTURA (PROMEDIO)	CONC. (mcg/ml) DE CLORHIDRATO DE TIAMINA
50	25.5	0.120
75	35.0	0.181
100	47.0	0.240
125	61.7	0.302
150	75.0	0.360

RESULTADOS OBTENIDOS DEL ANALISIS DE
REGRESION DE LA SUSTANCIA DE REFERENCIA

$$\begin{aligned}m &= 209.19 \\b &= -1.4834 \\r &= 0.9969\end{aligned}$$

ECUACION DE LA RECTA AJUSTADA

$$y = m x + b$$

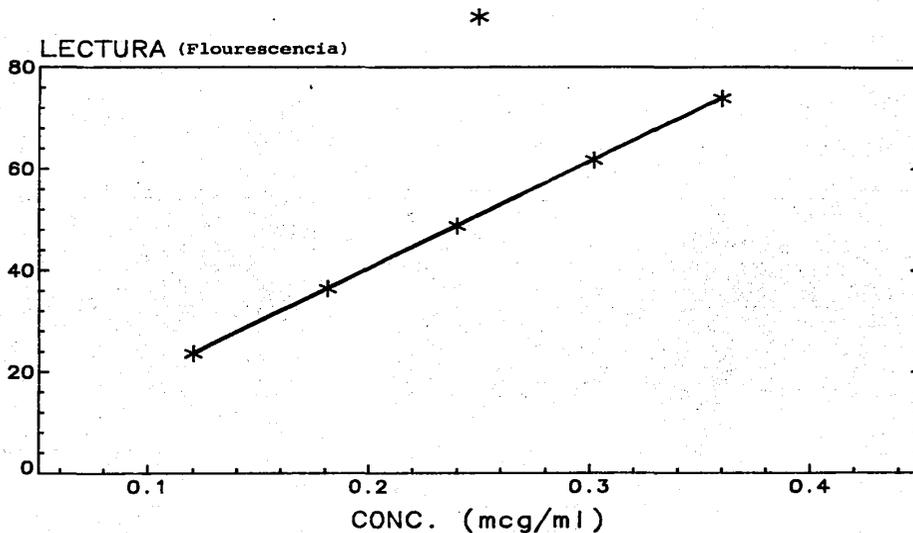
$$y = 209.19 x + (-1.4834)$$

Obteniendo los siguientes valores :

X	Y
0.120	23.62
0.181	36.38
0.240	48.72
0.302	61.69
0.360	73.82

Como se puede ver , la respuesta de la curva de calibración de la sustancia de referencia sigue una línea recta (con un coeficiente de correlación cercano a la unidad).

LINEARIDAD DE CLORHIDRATO DE TIAMINA
SUBSTANCIA DE REFERENCIA



GRAFICA # 1

3.3. LINEARIDAD DE LA MUESTRA.

MUESTRA	% DE CLORHIDRATO DE TIAMINA	LECTURA FLUORESCENCIA (%)
1	50	19
2	75	35
3	100	45
4	125	56
5	150	69
	Duplicado	
6	50	21
7	75	35
8	100	45
9	125	56
10	150	67

% DE CLORHIDRATO DE TIAMINA SUSTANCIA DE REFERENCIA	LECTURA (PROMEDIO) FLUORESCENCIA	CONC. (mcg/ml) DE CLORHIDRATO DE TIAMINA
50	20	0.120
75	35	0.180
100	45	0.240
125	56	0.300
150	68	0.360

**RESULTADOS OBTENIDOS DEL ANALISIS
DE REGRESION DE LA MUESTRA**

$$m = 195.0$$

$$b = -2.0$$

$$r = 0.9979$$

ECUACION DE LA RECTA AJUSTADA

$$y = m x + b$$

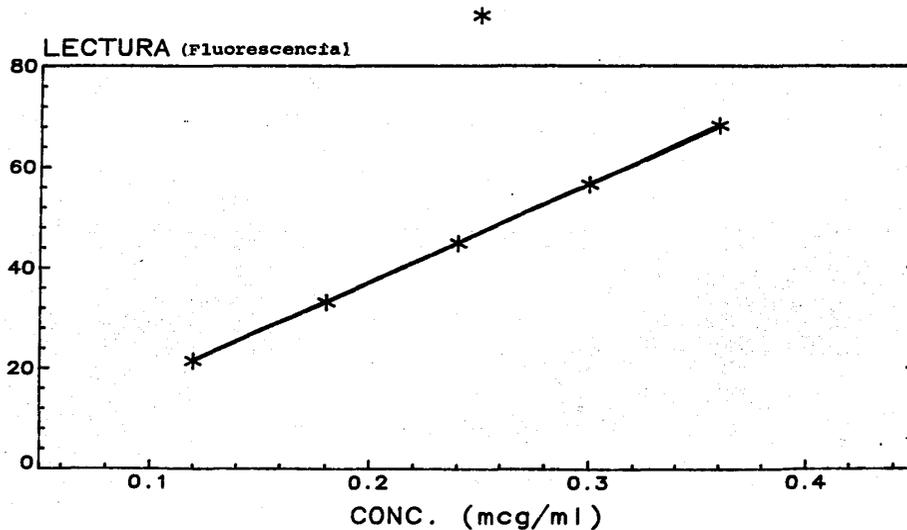
$$y = 195 x + (2.0)$$

Obteniéndose los siguientes valores :

X	Y
0.120	21.40
0.180	33.10
0.240	44.80
0.300	56.50
0.360	68.20

Como se puede ver, la respuesta de la curva de calibración de la muestra sigue una línea recta (con un coeficiente de correlación cercano a la unidad) .

LINEARIDAD DE CLORHIDRATO DE TIAMINA MUESTRA



GRAFICA # 2

3.4 PRECISION Y EXACTITUD

MUESTRAS	mcg AGREGADOS	mcg RECUPERADOS	% RECUPERACION
80%	1	0.1926	100.00
	2	0.1926	98.41
	3	0.1926	98.41
	4	0.1926	100.00
	5	0.1926	100.00
	6	0.1926	104.76
100%	7	0.2403	100.56
	8	0.2403	97.17
	9	0.2403	98.30
	10	0.2403	97.17
	11	0.2403	100.56
	12	0.2403	99.43
120%	13	0.2880	99.97
	14	0.2880	101.40
	15	0.2880	102.35
	16	0.2880	98.57
	17	0.2880	100.23
	18	0.2880	100.23

EVALUACION DE LA PRECISION Y EXACTITUD
 POR MEDIO DEL PORCIENTO DE RECUPERACION

	$\bar{X} = 100.25$		$\bar{X} = 98.86$
80%	$s = 1.55$	100%	$s = 1.55$
	$C.V = 1.546$		$C.V = 1.572$

	$\bar{X} = 100.45$
120%	$s = 1.294$
	$C.V = 1.288$

1. Resultados de los 18 valores del % de Recuperación :

$\bar{X} = 99.85$	$n = 18$
$s = 1.8274$	Grados de Libertad (n-1)=
$C.V = 1.830$	17 .
	$s/\sqrt{n} = 0.4307$

2. Intervalo de Confianza de la Media :

$$\bar{X} \pm t \cdot \frac{s}{n}$$

$$t_{0.95} = 1.7396$$

$$99.85 \pm 1.7396 \times 0.4307$$

$$99.85 \pm 0.7492$$

Límite inferior al 95% = 99.10

Límite superior al 95% = 100.59

3.0 EXACTITUD

a) Hipótesis contrastada :

$$H_0 : \mu \neq \mu_0 \quad H_A : \mu = \mu_0$$

$$\text{Donde : } \mu_0 = 100\%$$

b) Nivel de significancia

$$\alpha = 0.05$$

c) Estadígrafo de Contraste

$$t = \frac{\bar{x} - \mu}{\sigma/n}$$

$$t = \frac{99.85 - 100}{0.4307}$$

$$t = -0.3482$$

$$\text{Donde } t_{0.95} = 1.7396$$

d) Región crítica bilateral a nivel de significancia.

$$1.7396 < -0.3482 < 1.7396$$

EL METODO ES EXACTO

4.0 PRECISION

REPETIBILIDAD

$$\begin{array}{rcl}
 s & = & 1.8274 \qquad \qquad \chi^2 = 27.587 \\
 s^2 & = & 3.3393 \qquad \qquad \chi^2 = 30.191 \\
 n & = & 18 \qquad \qquad \chi^2 = 7.564
 \end{array}$$

a) Hipótesis contrastada :

$$H_0 : \sigma^2 \neq \sigma_0^2$$

$$H_A : \sigma^2 = \sigma_0^2$$

Donde

$$\sigma_0^2 = (2)^2$$

b) Nivel de significancia $\alpha = 0.05$

c) Estadígrafo de contraste :

$$\chi^2 = \frac{(n - 1) (s^2)}{\sigma_0^2}$$

$$\chi^2 = \frac{(17) (3.3393)}{(2)^2}$$

$$\chi^2 = 14.192$$

d) Región crítica a nivel α unilateral superior.

$$\chi^2 > \chi^2_{1-\frac{\alpha}{2}}$$

$$\chi^2 = 14.192$$

calculada

$\chi^2 < 27.587$ se acepta H_0 y el método es repetible.
calculada

c) Intervalo de confianza del 95% para σ

$$\text{Límite inferior del 95\% } \sqrt{\frac{(17)(3.3393)}{30.191}} = 1.3712$$

$$\text{Límite superior del 95\% } \sqrt{\frac{(17)(3.3393)}{7.564}} = 2.7395$$

4.0 DESARROLLO DE FORMULACIONES.

4.1 SELECCION DEL ESTABILIZADOR (1,2,5,6,7,10,12,13,14,16,17,22,24,25).

Una vez delineados los objetivos, la siguiente etapa es el desarrollo de las soluciones inyectables de Clorhidrato de Tiamina; en el cual se tomarán en cuenta las propiedades fisicoquímicas del principio activo. Con el fin de seleccionar los disolventes y componentes del vehículo más adecuados.

A cada una de las soluciones inyectables de Clorhidrato de Tiamina; se les serán adicionados diversos agentes estabilizantes a una concentración de éstos del 0.5% (se puede usar un poco más del 0.5%, debido a la baja toxicidad de éstos).

El diseño de las formulaciones parenterales se muestra en la TABLA # 1 ; con sus respectivas concentraciones de los agentes estabilizantes.

4.2 MATERIALES

MATERIAS PRIMAS.

1. Tiamina Clorhidrato
2. Propilenglicol
3. EDTA
4. Nipagin sódico
5. Hidroquinona
6. Tartrato de sodio
7. Acido Tartárico
8. Clorobutanol

9. Alcohol bencílico
10. Sorbitol
11. Manitol
12. Metionina
13. Galato de Propilo
14. Glicerina
15. Tween 80
16. Alcohol etílico absoluto

EQUIPO

1. Vasos de precipitado de 50, 100, 500 y 1000 ml
2. Probetas graduadas de 500 ml
3. Parrilla de agitación
4. Tanque de nitrógeno
5. Equipo de filtración
6. Bomba de vacío
7. Membrana de 0.22 μ m
8. Revisor de inyectables
9. Potenciómetro Beckman
10. Estufas
11. Engargolador
12. Papel rojo
13. Frasco ámbar de boca ancha de 20 mm
14. Tapón de hule gris de 20 mm
15. Casquillo de aluminio

TABLA 1. DISEÑO DE FORMULACIONES DE CLORHIDRATO DE TIAMINA.

MATERIAS PRIMAS		FORMULACIONES								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
Clorhidrato de Tiamina	PRINCIPIO ACTIVO	10g	10g	10g	10g	10g	10g	10g	10g	10g
Sorbitol	ESTABILIZADOR	50g	-	-	-	-	-	-	-	-
Metionina	ESTABILIZADOR	-	500mg	-	-	-	-	-	-	-
Manitol	ESTABILIZADOR	-	-	60g	-	-	-	-	-	-
Tween 80	ESTABILIZADOR	-	-	-	100mg	-	-	-	-	-
Propilenglicol	ESTABILIZADOR	-	-	-	-	10g	-	-	-	-
Glicerina	ESTABILIZADOR	-	-	-	-	-	10g	-	-	-
Galato de Propilo	ESTABILIZADOR	-	-	-	-	-	-	150mg	100mg	-
Tartrato de sodio	ESTABILIZADOR	-	-	-	-	-	-	-	100mg	100mg
Acido Tartárico	ESTABILIZADOR	-	-	-	-	-	-	-	-	82mg
Hidroquinona	ESTABILIZADOR	-	-	-	-	-	-	-	-	30mg
EDTA	AGENTE QUELANTE	5mg	5mg	5mg	5mg	5mg	5mg	5mg	-	-
Hipagin ácido	CONSERVADOR	200mg	200mg	200mg	-	200mg	200mg	200mg	200mg	200mg
Alcohol etílico	DISOLVENTE	-	-	-	-	-	-	5ml	1ml	-
Agua c.b.p.	DISOLVENTE	100ml	100ml	100ml	100ml	100ml	100ml	100ml	100ml	100ml

4.3 PROCEDIMIENTO DE MANUFACTURA.

La producción de las formulaciones farmacéuticas de - Clorhidrato de Tiamina se especifica en cada uno de los Procedimientos de Manufactura.

Las cantidades marcadas en cada operación se hicieron en base al volumen final.

FORMULACION No.1

1. Proteger los recipientes de la luz.
2. Disolver el sorbitol en 100 ml de agua destilada con agitación durante 6 horas.
3. Disolver el Clorhidrato de Tiamina en 50 ml de agua destilada; en presencia de atmósfera de nitrógeno, con agitación durante 10 minutos.
4. Disolver el EDTA en 5 ml de agua destilada con agitación durante 5 minutos.
5. Disolver el nipagin sódico en 10 ml de agua destilada con agitación durante 5 minutos.
6. Agregar la solución de Clorhidrato de Tiamina a la solución de sorbitol; en presencia de atmósfera de nitrógeno con agitación durante 10 minutos.
7. A la solución del paso No.6; agregar la solución de EDTA con agitación durante 5 minutos.
8. A la solución del paso No.7; agregar la solución de nipagin sódico con agitación durante 5 minutos.
9. Medir el pH de la solución (2.5 - 3.5). Ajustar con HCl 0.1 N o NaOH 0.1 N.
10. Aforar a 400 ml con agua destilada.
11. Filtrar la solución a través de una membrana de 0.22 μ m.

FORMULACION No.2

1. Proteger los recipientes de la luz.
2. Disolver el Clorhidrato de Tiamina en 50 ml de agua destilada; en presencia de atmósfera de nitrógeno con agitación durante 10 minutos.
3. Disolver la metionina en 100 ml de agua destilada con agitación durante 20 minutos.
4. Disolver el EDTA en 5 ml de agua destilada con agitación durante 5 minutos.
5. Disolver el nipagin sódico en 10 ml de agua destilada con agitación durante 5 minutos.
6. Agregar la solución de Clorhidrato de Tiamina a la solución de metionina agitando 10 minutos.
7. A la solución del paso No.6 ; agregar la solución de EDTA - con agitación durante 5 minutos.
8. A la solución del paso No.7 ; agregar la solución de nipagin sódico con agitación durante 5 minutos.
9. Medir el pH de la solución (2.5 - 3.5). Ajustar con HCl 0.1N o NaOH 0.1 N.
10. Aforar a 400 ml con agua destilada.
11. Filtrar la solución a través de una membrana de 0.22 μ m.

FORMULACION No.3

1. Proteger los recipientes de la luz.
2. Disolver el manitol en 200 ml de agua destilada con agitación durante 30 minutos.
3. Disolver el Clorhidrato de Tiamina en 50 ml de agua destilada, en presencia de atmósfera de nitrógeno con agitación durante 10 minutos.

4. Disolver el EDTA en 10 ml de agua destilada con agitación - durante 5 minutos.
5. Disolver el nipagin sódico en 10 ml de agua destilada con - agitación durante 5 minutos.
6. Agregar a la solución de Clorhidrato de Tiamina; la solu - ción de manitol, agitando durante 10 minutos y en presencia de atmósfera de nitrógeno.
7. A la solución del paso No.6 ; agregar la solución de EDTA - con agitación durante 5 minutos.
8. A la solución del paso No.7 ; agregar la solución de nipa - gin sódico con agitación durante 5 minutos.
9. Medir el pH de la solución (2.5 - 3.5) . Ajustar con HCl 0.1 N o NaOH 0.1 N .
10. Aforar a 400 ml con agua destilada .
11. Filtrar la solución a través de una membrana de 0.22 μ m.

FORMULACION No.4

1. Proteger los recipientes de la luz.
2. Disolver el Clorhidrato de Tiamina en 100 ml de agua desti - lada; en presencia de atmósfera de nitrógeno con agitación - durante 10 minutos.
3. Disolver el EDTA en 5 ml de agua destilada con agitación du - rante 10 minutos.
4. Adicionar a la solución de Clorhidrato de Tiamina el Tween - 80; en presencia de atmósfera de nitrógeno con agitación du - rante 10 minutos.
5. A la solución del paso No.4; agregar la solución de EDTA con agitación durante 5 minutos.
6. Medir el pH de la solución (2.5 - 3.5) . Ajustar con HCl 0.1 N o NaOH 0.1 N.

7. Aforar a 400 ml con agua destilada.
8. Filtrar la solución a través de una membrana de 0.22 μm .

FORMULACION No.5

1. Proteger los recipientes de la luz.
2. Disolver el Clorhidrato de Tiamina en 100 ml de agua destilada; en presencia de atmósfera de nitrógeno con agitación durante 10 minutos.
3. Disolver el EDTA en 5 ml de agua destilada con agitación durante 5 minutos.
4. Disolver el nipagin sódico en 10 ml de agua destilada con agitación durante 5 minutos.
5. Adicionar a la solución de Clorhidrato de Tiamina el propilenglicol; en presencia de atmósfera de nitrógeno con agitación durante 10 minutos.
6. A la solución del paso No.5; agregar la solución de EDTA , - con agitación durante 5 minutos.
7. A la solución del paso No.6 ; agregar la solución de nipagin sódico con agitación durante 5 minutos.
8. Medir el pH de la solución (2.5 - 3.5) . Ajustar con HCl 0.1 N o NaOH 0.1 N.
9. Aforar a 400 ml con agua destilada.
10. Filtrar la solución a través de una membrana de 0.22 μm .

FORMULACION No.6

1. Proteger los recipientes de la luz.
2. Disolver el Clorhidrato de Tiamina en 100 ml de agua destilada; en presencia de atmósfera de nitrógeno con agitación durante 10 minutos.
3. Disolver el EDTA en 10 ml de agua destilada con agitación

durante 5 minutos.

4. Disolver el nipagin sódico en 10 ml de agua destilada con agitación durante 5 minutos.
5. Adicionar a la solución de Clorhidrato de Tiamina la glicerina; en presencia de atmósfera de nitrógeno con agitación durante 5 minutos.
6. A la solución del paso No.5 ; agregar la solución de EDTA con agitación durante 5 minutos.
7. A la solución del paso No.6 ; agregar la solución de nipagin sódico con agitación durante 5 minutos.
8. Medir el pH de la solución (2.5 - 3.5) . Ajustar con HCl 0.1 N o NaOH 0.1 N.
9. Aforar a 400 ml con agua destilada.
10. Filtrar la solución a través de una membrana de 0.22 μ m.

FORMULACION No.7

1. Proteger los recipientes de la luz.
2. Disolver el galato de propilo en 5 ml de alcohol etílico absoluto; agitando durante 5 minutos.
3. Disolver el Clorhidrato de Tiamina en 100 ml de agua destilada; en presencia de atmósfera de nitrógeno con agitación durante 10 minutos.
4. Disolver el EDTA en 5 ml de agua destilada con agitación durante 5 minutos.
5. Disolver el nipagin sódico en 10 ml de agua destilada con agitación durante 5 minutos.
6. A la solución de galato de propilo , adicionar la solución de Clorhidrato de Tiamina; en presencia de atmósfera de nitrógeno y con agitación durante 10 minutos.
7. A la solución del paso No.6 ; adicionar la solución de EDTA

con agitación durante 5 minutos.

8. A la solución del paso No.7; agregar la solución de nipagin sódico con agitación durante 5 minutos.
9. Medir el pH de la solución (2.5 - 3.5) . Ajustar con HCl 0.1 N o NaOH 0.1 N.
10. Aforar a 400 ml con agua destilada.
11. Filtrar la solución a través de una membrana de 0.22 μ m.

FORMULACION No.8

1. Proteger los recipientes de la luz.
2. Disolver en 250 ml de agua destilada y saturada con nitrógeno el tartrato de sodio con agitación durante 5 minutos.
3. A la solución del paso No.2; adicionar el ácido tartárico - hasta obtener un pH de 4.5 .
4. A la solución del paso No.3; adicionar el Clorhidrato de Tiamina en presencia de atmósfera de nitrógeno y con agitación durante 10 minutos.
5. Disolver el galato de propilo en 1 ml de alcohol etílico absoluto.
6. Adicionar a la solución del paso No.5; a la solución del paso No.4 ; con agitación durante 5 minutos.
7. A la solución del paso No.6 ; adicionar el nipagin sódico , agitando durante 10 minutos.
8. Aforar a 400 ml con agua destilada.
9. Filtrar la solución a través de una membrana de 0.22 μ m

FORMULACION No.9

1. Proteger los recipientes de la luz.
2. Disolver en 250 ml de agua destilada y saturada con nitrógeno

- no el tartrato de sodio con agitación durante 5 minutos.
3. A la solución del paso No.2 ; adicionar el ácido tartárico-hasta obtener un pH de 4.5 .
 4. A la solución del paso No.3 ; adicionar el Clorhidrato de Tiamina; en presencia de atmósfera de nitrógeno y con agitación durante 10 minutos.
 5. A la solución del paso No.4 ; adicionar la hidroquinona con agitación durante 10 minutos.
 6. A la solución del paso No.5 ; adicionar el nipagin sódico - agitando durante 10 minutos.
 7. Aforar a 400 ml con agua destilada.
 8. Filtrar la solución a través de una membrana de 0.22 μm .

4.4 PROCEDIMIENTO PARA DETERMINAR LA ESTABILIDAD DE CLORHIDRATO DE TIAMINA

Una vez elaboradas las soluciones de Clorhidrato de Tiamina, con respecto al agente estabilizador; se procedió al siguiente tratamiento :

Se colocaron 5 ml de cada una de las soluciones de Clorhidrato de Tiamina en frascos viales ámbar. Previo al sellado, el aire del frasco es evacuado y purgado con un gas inerte, como el nitrógeno. Esta etapa del proceso se efectúa bajo la protección de la luz.

Se identifican los frascos y se someten bajo las condiciones siguientes :

TEMPERATURA (°C)	SALIDA DE LA MUESTRA	TIEMPO (dfas)
45	Cada/15 dfas	56
Ambiente	Cada/30 dfas	60
Ciclado (Refrigeración-45°)	Cada/7 dfas	21

El estudio químico se realiza; analizando cada una de las muestras en la fecha indicada; con el objeto de conocer la concentración de Clorhidrato de Tiamina presente en la formulación y de esta forma predecir la estabilidad de cada una de las formulaciones y así mismo elegir la formulación más estable.

La evaluación del Estudio Físico se determina por medio del Ciclado (Refrigeración $\approx 45^{\circ}\text{C}$) ; anotando las características físicas de cada una de las muestras en la fecha indicada.

RESULTADOS DEL ESTUDIO DEL AGENTE ESTABILIZANTE

Los resultados del presente estudio se encontrarán de la siguiente manera :

1. Los cambios físicos de cada formulación se muestran en las Tablas de CONTROLES FISICOS.
2. En la TABLA III se indican los resultados de los estudios de Estabilidad de Clorhidrato de Tiamina.
3. En la GRAFICA # 3 se muestra la degradación de Clorhidrato de Tiamina en (%) contra el tiempo en días.
4. La comparación de los resultados obtenidos en la Gráfica # 3 permite determinar la formulación más estable . Conforme a los resultados se seleccionaron las 2 formulaciones más estables y a continuación se mencionan :

FORMULACION # 5

Clorhidrato de Tiamina
 Propilenglicol
 EDTA
 Nipagin sódico
 Agua

FORMULACION # 9

Clorhidrato de Tiamina
 Tartrato de sodio
 Acido Tartárico
 Nipagin sódico
 Agua

4.5 SELECCION DEL CONSERVADOR

Una vez finalizado el Estudio del Agente Estabilizante; el siguiente paso es la Selección del Conservador más adecuado; para éste propósito se emplearon los siguientes conservadores :

- 1) Alcohol bencílico
- 2) Clorobutanol
- 3) Nipagin sódico

Se probaron cada uno de los conservadores con las 2 soluciones de Clorhidrato de Tiamina más estables; elegidas durante el estudio de las formulaciones de acuerdo al agente estabilizante.

Así mismo se realizó una combinación de las dos formulaciones mencionadas anteriormente; surgiendo de esta forma 2 formulaciones más.

En la TABLA II se muestran las formulaciones de Clorhidrato de Tiamina con sus respectivos conservadores a una concentración adecuada.

PROCEDIMIENTO PARA DETERMINAR LA ESTABILIDAD

Una vez elaboradas las soluciones inyectables de Clorhidrato de Tiamina, se procedió al siguiente tratamiento :

Se colocaron 5 ml de cada una de ellas en frascos viales ámbar. Previo al sellado, el aire del frasco es evacuado y purgado con un gas inerte como el nitrógeno. Esta etapa del proceso se efectúa bajo la protección de la luz.

Se identifican los frascos y se someten a una temperatura de 60°C durante 1 mes, analizando las muestras cada 7 días.

TABLA II. SELECCION DEL CONSERVADOR EN LAS FORMULACIONES.

MATERIAS PRIMAS	ACCION	F O R M U L A C I O N E S							
		1	2	3	4	5	6	7	8
Tiamina Clorhidrato	Principio activo.	10 g	10 g	10 g	10 g	10 g	10 g	10 g	10 g
Propilenglicol	Estabilizador	10 g	-	10 g	-	10 g	-	10 g	10 g
Hidroquinona	Estabilizador	-	10 mg	-	10 mg	-	10 mg	10 mg	10 mg
Tartrato de sodio	Estabilizador	-	50 mg	-	50 mg	-	50 mg	50 mg	50 mg
Acido tartárico	Estabilizador	-	41.1 mg	-	41.1 mg	-	41.1 mg	41.1 mg	41.1 mg
Nipagin sódico	Conservador	200 mg	200 mg	-	-	-	-	-	-
Clorobutanol	Conservador	-	-	500 mg	500 mg	-	-	-	500 mg
Alcohol bencílico	Conservador	-	-	-	-	100 mg	100 mg	100 mg	-
EDTA	Agente Quelante.	5 mg	-	5 mg	-	5 mg	-	5 mg	5 mg
Alcohol etílico	Disolvente	-	-	2 ml	-	-	-	-	2 ml
Agua cdp.		100 ml	100 ml	100 ml	100 ml	100 ml	100 ml	100 ml	100 ml

RESULTADOS DE LA SELECCION DEL CONSERVADOR

Los resultados de éste estudio se encontrarán de la siguiente manera :

1. En la TABLA IV se muestran los resultados de la estabilidad de las soluciones de Clorhidrato de Tiamina a 60 °C.
2. En las GRAFICAS 4 y 4' se muestra la degradación de Clorhidrato de Tiamina a 60 °C ; obtenida al graficar el (%) de Clorhidrato de Tiamina contra el tiempo en días.
3. La comparación de los resultados obtenidos en las Gráficas 4 y 4' permite determinar la formulación más estable y a continuación se muestra :

FORMULACION # 3

Clorhidrato de Tiamina

Propilenglicol

Alcohol bencílico

EDTA

Agua

4.6 EVALUACION DE LA ESTABILIDAD DE CLORHIDRATO DE TIAMINA

La evaluación de la estabilidad de la solución inyectable de Clorhidrato de Tiamina más estable (FORMULACION # 3) se realizará bajo las siguientes condiciones :

TEMPERATURA (°C)	TIEMPO (DIAS)
35	140
45	120
60	70
70	134

El procedimiento para determinar la estabilidad de la solución inyectable de Clorhidrato de Tiamina; se realizó de la siguiente forma :

Se colocaron 5 ml de la solución en frascos viales ámbar. Previo al sellado, el aire del frasco es evacuado y purgado con un gas inerte como el nitrógeno. Esta etapa del proceso se efectúa bajo la protección de la luz.

Se identifican los frascos y se someten a cada una de las temperaturas mencionadas. Analizando cada muestra de la siguiente forma : 35°C cada/mes , 45°C cada/20 días , 60°C cada/15 días y - 70°C cada/ 7 días.

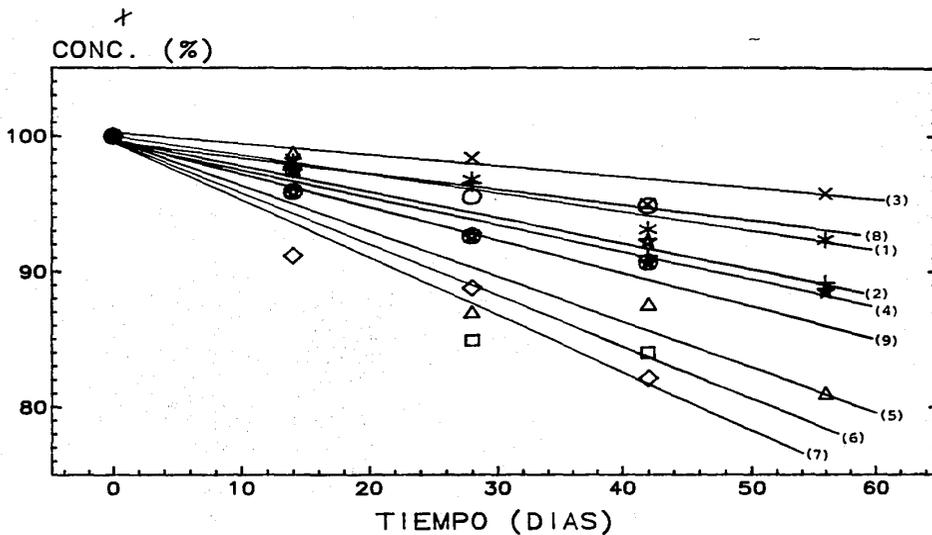
V RESULTADOS

TABLA III .

VALORES OBTENIDOS DE LA ESTABILIDAD DE CLORHIDRATO DE TIAMINA A 45 °C DE ACUERDO AL AGENTE ESTABILIZADOR.

CONCENTRACION DE CLORHIDRATO DE TIAMINA (%)									
Tiempo (días)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	*	+	×	☆	△	□	◇	○	⊗
0	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
14	98.09	97.51	98.26	97.53	98.62	97.48	91.20	95.94	95.91
28	96.78	96.49	98.39	92.65	86.88	84.93	88.82	95.55	92.64
42	93.10	91.10	94.96	92.21	87.44	84.03	82.16	94.86	90.71
56	92.32	89.12	95.74	88.53	80.88				

AGENTES ESTABILIZADORES



GRAFICA # 3

**CONTROLES FISICOS
DE
CLORHIDRATO DE TIAMINA
(CICLADO)**

FORMULACION No.1

CARACTERISTICAS	CONTROL INICIAL	TIEMPO (DIAS)		
		7	14	21
ASPECTO	Transparente	Transparente	Transparente	Transparente
COLOR	Incoloro	Incoloro	Ligeramente amarillo paja	Ligeramente amarillo paja
OLOR	Característico	Característico	Característico	Característico
pH	3.5	3.6	3.6	3.6
PRESENCIA DE PARTICULAS	no	no	no	no

FORMULACION No.2

CARACTERISTICAS	CONTROL INICIAL	TIEMPO (DIAS)		
		7	14	21
ASPECTO	Transparente	Transparente	Transparente	Transparente
COLOR	Incoloro	Incoloro	Ligeramente amarillo paja	Ligeramente amarillo paja
OLOR	Característico	Característico	Característico	Característico
pH	3.6	3.5	3.6	3.6
PRESENCIA DE PARTICULAS	no	si	si	si

FORMULACION No.3

CARACTERISTICAS	CONTROL INICIAL	TIEMPO (DIAS)		
		7	14	21
ASPECTO	Transparente	Transparente	Transparente	Transparente
COLOR	Incoloro	Incoloro	Incoloro	Ligeramente amarillo paja
OLOR	Característico	Característico	Característico	Característico
pH	3.6	3.6	3.6	3.6
PRESENCIA DE PARTICULAS	no	si	si	si

FORMULACION No.4

CARACTERISTICAS	CONTROL INICIAL	TIEMPO (DIAS)		
		7	14	21
ASPECTO	Transparente	Transparente	Transparente	Transparente
COLOR	Incoloro	Ligeramente amarillo paja	Amarillo paja	Amarillo paja
OLOR	Característico	Característico	Característico	Característico
pH	3.5	3.6	3.7	3.7
PRESENCIA DE PARTICULAS	no	si	si	si

FORMULACION No.5

CARACTERISTICAS	CONTROL INICIAL	TIEMPO (DIAS)		
		7	14	21
ASPECTO	Transpa- rente	Transpa- rente	Transpa- rente	Transpa- rente
COLOR	Ligeramen- te amari- llo paja	Ligeramen- te amari- llo paja	Ligeramen- te amari- llo paja	Ligeramen- te amari- llo paja
OLOR	Caracte- rístico	Caracte- rístico	Caracte- rístico	Caracte- rístico
pH	3.7	3.8	3.7	3.8
PRESENCIA DE PARTICULAS	no	si	si	si

FORMULACION No.6

CARACTERISTICAS	CONTROL INICIAL	TIEMPO (DIAS)		
		7	14	21
ASPECTO	Transpa- rente	Transpa- rente	Transpa- rente	Transpa- rente
COLOR	Incoloro	Incoloro	Ligeramen- te amari- llo paja	Ligeramen- te amari- llo paja
OLOR	Caracte- rístico	Caracte- rístico	Caracte- rístico	Caracte- rístico
pH	3.5	3.7	3.6	3.6
PRESENCIA DE PARTICULAS	no	si	si	si

FORMULACION No.7

CARACTERISTICAS	CONTROL INICIAL	TIEMPO (DIAS)		
		7	14	21
ASPECTO	Transparente	Transparente	Transparente	Transparente
COLOR	Incoloro	Incoloro	Incoloro	Incoloro
OLOR	Característico	Característico	Característico	Característico
pH	2.8	3.1	3.4	3.6
PRESENCIA DE PARTICULAS	no	si	si	si

FORMULACION No.8

CARACTERISTICAS	CONTROL INICIAL	TIEMPO (DIAS)		
		7	14	21
ASPECTO	Transparente	Transparente	Transparente	Transparente
COLOR	Incoloro	Incoloro	Incoloro	Incoloro
OLOR	Característico	Característico	Característico	Característico
pH	3.8	3,8	3,8	3.8
PRESENCIA DE PARTICULAS	no	si	si	si

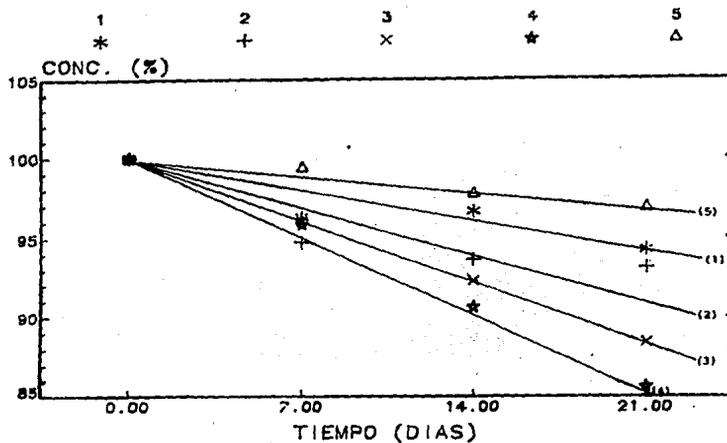
FORMULACION No.9

CARACTERISTICAS	CONTROL INICIAL	TIEMPO (DIAS)		
		7	14	21
ASPECTO	Transpa- rente	Transpa- rente	Transpa- rente	Transpa- rente
COLOR	Ligeramen- te amari- llo paja	Ligeramen- te amari- llo paja	Ligeramen- te amari- llo paja	Ligeramen- te amari- llo paja
OLOR	Caracte- rístico	Caracte- rístico	Caracte- rístico	Caracte- rístico
pH	3.7	3.8	3.7	3.8
PRESENCIA DE PARTICULAS	no	no	si	si

TABLA IV. VALORES OBTENIDOS DE LA ESTABILIDAD DE CLORHIDRATO DE TIAMINA A 60°C DE ACUERDO AL CONSERVADOR.

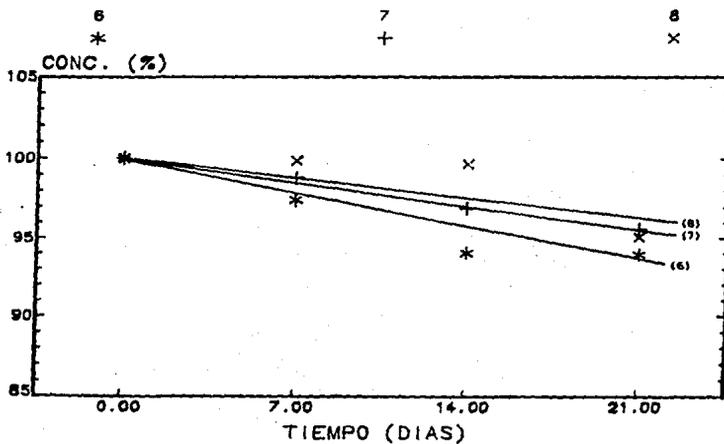
CONCENTRACION DE CLORHIDRATO DE TIAMINA (%) FORMULACION								
TIEMPO (días)	1	2	3	4	5	6	7	8
0	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
7	96.32	94.76	96.07	95.87	99.36	97.42	98.81	99.86
14	96.64	93.63	92.27	90.60	97.71	94.03	96.90	99.67
21	94.23	93.10	88.45	85.63	96.83	93.94	95.58	95.09

ESTABILIDAD DE CLORHIDRATO DE TIAMINA A 60 ° C
DIF. CONSERVADORES



GRAFICA # 4

ESTABILIDAD DE CLORHIDRATO DE TIAMINA A 60 ° C
DIF. CONSERVADORES



GRAFICA # 4'

TABLA V. RESULTADOS OBTENIDOS DEL ESTUDIO DE ESTABILIDAD DE CLORHIDRATO DE TIANINA EN SOLUCION INYECTABLE. A DIFERENTES TEMPERATURAS.

35°C		45°C		60°C		70°C	
Tiempo (días)	Conc. de Clorhidrato de Tiamina.	Tiempo (días)	Conc. de Clorhidrato de Tiamina (%).	Tiempo (días)	Conc. de Clorhidrato de Tiamina (%).	Tiempo (días)	Conc. de Clorhidrato de Tiamina (%).
0	100.00	0	100.00	0	100.00	0	100.00
35	95.50	20	97.53	14	96.86	7	96.87
70	95.11	60	88.73	28	91.28	14	93.70
105	93.84	80	88.70	42	92.92	28	80.61
140	94.67	100	88.39	56	85.01	126	48.35
		120	87.48	70	80.90	134	42.47

TABLA VI. LOGARITMO DE LA CONCENTRACION CONTRA TIEMPO.

35°C		45°C		60°C		70°C	
Tiempo log C (días)	log C						
0	2.0000	0	2.0000	0	2.0000	0	2.0000
35	1.9800	20	1.9891	14	1.9861	7	1.9861
70	1.9782	60	1.9480	28	1.9603	14	1.9717
105	1.9724	80	1.9479	42	1.9681	28	1.9063
140	1.9672	100	1.9464	56	1.9294	126	1.6843
		120	1.9419	70	1.9079	134	1.6280

VALORES OBTENIDOS (A) DE LA CONCENTRACION CONTRA TIEMPO
Y (B) DEL LOGARITMO DE LA CONCENTRACION CONTRA TIEMPO

	(A)		(B)
1.	35°C	1.	35°C
	m = -3.52×10^{-2}		m = -1.577×10^{-4}
	b = 98.28		b = 1.9916
	r = -0.806		r = -0.8085
2.	45°C	2.	45°C
	m = -1.098×10^{-1}		m = -5.107×10^{-4}
	b = 98.76		b = 1.9946
	r = -0.930		r = -0.9325
3.	60°C	3.	60°C
	m = -0.2659		m = -1.304×10^{-3}
	b = 100.44		b = 2.0039
	r = -0.978		r = -0.9765
4.	70°C	4.	70°C
	m = -0.409		m = -2.65×10^{-3}
	b = 98.09		b = 1.9996
	r = -0.992		r = -0.9959

**PREDICCIÓN DE LA ESTABILIDAD DE CLORHIDRATO DE
TIAMINA**

La predicción de la estabilidad se efectúa por medio del tratamiento cinético de los datos. Este estudio permite conocer el Orden de la Reacción.

Para éste propósito se grafica la concentración de Clorhidrato de Tiamina (%) contra el tiempo en días; como se observa en la GRAFICA # 5 ; en donde se representa una respuesta lineal.

Así mismo se grafica el Logaritmo de la concentración contra el tiempo en días ; como se observa en la GRAFICA # 6 ; dando igualmente una respuesta lineal.

Una vez elaboradas las gráficas; se procede a comparar los coeficientes de correlación de ambas gráficas; en las cuales se observa que no existe una diferencia significativa entre ellas que permita decidir el Orden de la Reacción.

Sin embargo en la información bibliográfica (10,11) se reporta la degradación térmica de Clorhidrato de Tiamina la cual sigue una Cinética de Primer Orden. Por tal motivo el tratamiento cinético de los datos de Clorhidrato de Tiamina se efectuará en base a una Cinética de Primer Orden.

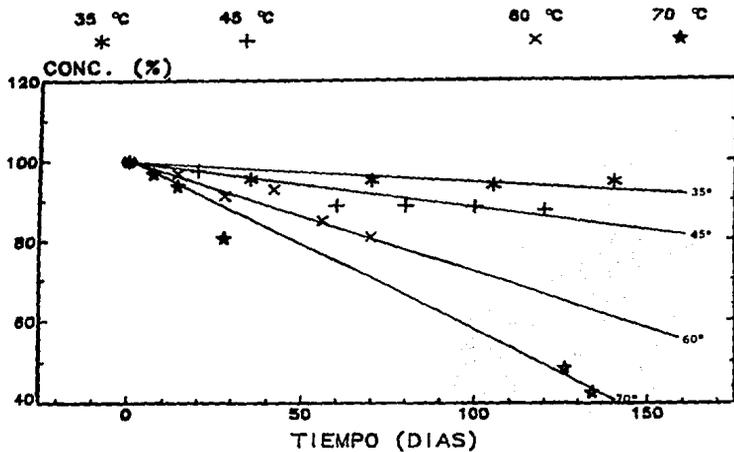
Si se consideran los datos de la GRAFICA # 6 (Logaritmo de la Concentración contra el Tiempo) ; se tiene que la pendiente es igual :

$$m = - \frac{K}{2.303}$$

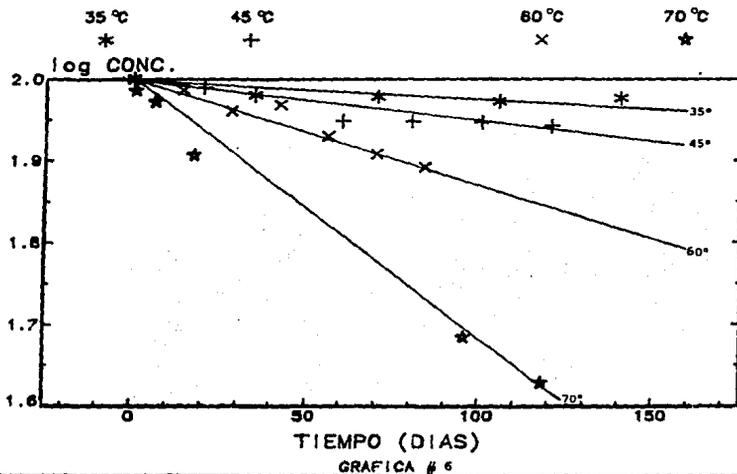
Donde :

K = Constante de velocidad de reacción de Primer Orden.

ESTABILIDAD DE CLORHIDRATO DE TIAMINA SOLN. INYECTABLE



ORDEN DE REACCION DE CLORHIDRATO DE TIAMINA



Se determinaron las constantes de velocidad de reacción para cada temperatura y se graficó el Log. de K contra el inverso de la temperatura absoluta en grados Kelvin. En la TABLA VII se proporcionan las constantes de velocidad de reacción para cada temperatura.

TABLA VII. DATOS PARA ELABORAR LA GRAFICA DE ARRHENIUS.

TEMPERATURA (°C)	K (días ⁻¹)	Log.K	TEMPERATURA $\frac{1}{T}$ ($\frac{1}{^{\circ}K}$)
35	3.632×10^{-4}	-3.4398	0.00324
45	11.761×10^{-4}	-2.9295	0.00314
60	30.043×10^{-4}	-2.5222	0.00300
70	61.030×10^{-4}	-2.2144	0.00291

Se extrapola en la gráfica de Arrhenius el Log.K a 25°C

$$1/T = 0.00335$$

$$\text{Log K} = -3.7744$$

$$K = 1.6809 \times 10^{-4}$$

$$r = -0.9927$$

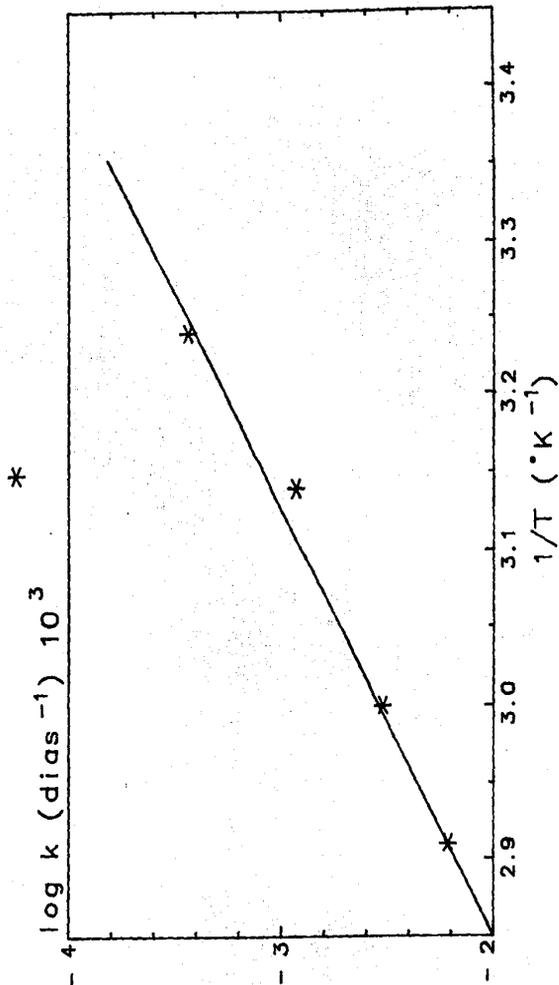
Se determina t_{90} por medio de la siguiente fórmula :

$$t_{90} = \frac{0.1053}{K}$$

$$t_{90} = \frac{0.1053}{1.6809 \times 10^{-4}}$$

$$t_{90} = 620.82 \text{ días}$$

GRAFICA DE ARRHENIUS



GRAFICA # 7

VI. CONCLUSIONES

Se evaluó la Estabilidad de Clorhidrato de Tiamina en solución inyectable; observándose que su degradación sigue una Cinética de Primer Orden; con una constante de velocidad a 25°C de 1.6809×10^{-4} (días) y un t_{90} de 620.82 días.

Durante el Estudio de la Selección del Agente Estabilizante se observó que a pesar de la adición de los diferentes agentes estabilizantes a la solución inyectable de Clorhidrato de Tiamina; ésta presenta partículas en suspensión y un cambio de color en la solución durante su vida de anaquel.

Debido a esto; se puede adicionar un exceso hasta del 10% de Clorhidrato de Tiamina; con el propósito de mantener la estabilidad por un tiempo más prolongado.

La cuantificación de Clorhidrato de Tiamina se efectuó por el Método Analítico previamente validado. La valoración estadística del Método nos indica que es Lineal; esto lo justifica las curvas de calibración tanto de la sustancia de referencia como la sustancia problema; ambas proporcionan una respuesta lineal dentro del intervalo de concentraciones analizadas.

El Método es Indicativo de Estabilidad; esto lo demuestra la Especificidad; debido a que el Método no presenta interferencias por parte de los productos de degradación ni por los componentes del vehículo. Así mismo la evaluación estadística de los porcentajes de recuperación permite decidir que el Método Analítico es Preciso y Exacto. Por consiguiente; considerando estos resultados se concluye que el Método es confiable para determinar Clorhidrato de Tiamina de acuerdo a los recursos disponibles.

VII.

BIBLIOGRAFIA

1. Akers, Michael H. Considerations in selecting antimicrobial preservative agents for product development. *Pharmaceutical Technology*, May 1984, p. 36-46.
2. Atsushi Watanabe, Motomo Terao. Stabilization of Vitamin B₁ solution, 11, 124-30 (1952). *Chemical Abstracts* 6603f, Vol. 47. 1953.
3. Bolton Sanfor. *Pharmaceutical Statistic. Practical and Clinical Applications*. New York and Basél.
4. Connors Keneth A. *Chemical Stability of Pharmaceuticals a Handbook for Pharmacists*. John Wiley Sons: 1979.
5. Charkravorty, S.C. Preservation of Thiamine Hydrochloride Injection. *J. Indian Pharm Mfrs* 4:463 (Dec) 1979.
6. Chinoin, Gygyyszer. Injectable pharmaceutical solutions, especially of Vitamin B₁₂. *Hung* 150,855 Oct. 23 1963.
7. DeRitter Elmer. *Vitamins in Pharmaceutical Formulations* *Journal of Pharmaceutical Sciences*. Oct. 1982 Vol.71 Number 10.
8. *Drill's Pharmacology in Medicine*. Fourth Edition. Mc Graw Hill Book Company 1971.

9. García Pérez Ma, Araceli. Tesis Profesional. Estudio Comparativo de dos Métodos Analíticos para la determinación cuantitativa de Hidrocortisona en una formulación de Hidrocortisona 1% + Vioformo 3% en crema . 1983.
10. Garret. Edward R. Prediction of Stability in Pharmaceutical Preparations. Journal of the Pharmaceutical Association Vol. XLV No. 7 p. 440-473.
11. Journal of Food Sciences, Kinetics of Thiamine Degradation by Heat. Effect of pH and form of the Vitamin on its rate of destruction Vol. 40. 1975. p 989.
12. Ko Ito and Keiji Inami. Solution for painless injection. Japan 1650. (58) Mar 8. Chemical Abstracts p. 2545 Vol. 53 1959.
13. Ko Ito and Keiji Inami. Stable Injection Solutions Japan 1400 (~55) Feb. 28. Chemical Abstracts p. 1734 6e Vol. 50, 1956.
14. Kyuma Terao. Stable Vitamin Containing aqueous solution. Japan 4948 (~53) Sept. 30 Chemical Abstracts p 110111 Vol. 48 1954.
15. Lachman Leon. PH D; Herbert A. Lieberman. Practice of Industrial Pharmacy. Lea Febiger. Philadelphia. 1970.
16. Leendert. M. Kuejvenhoven and Cornelis Westertterp U.S 2 734. 902 Feb 14, 1956.

17. Maier. D. George and Metzler, E. David. Structures of Thiamine in Basic Solution. Chemical Abstracts. Vol. 79. Aug. 20, 1957.
18. Manzur-Uh-Hashmi. Assay of Vitamins in Pharmaceutical Preparations. John Wiley I. Sons. London New York. Toronto 1973.
19. Martin, Eric W. Dispensing of Medication. Formerly Husa's Pharmaceutical Dispensing Marck Publishing Company 1971.
20. Massart. D.L., Dijkstra. A., and Kaufman L. Evaluation and Optimization of Laboratory Methods and Analytical Procedures. Amsterdam Elsevier Scientific. Publishing Co. 1970.
21. Merck Index. The. An Encyclopedia of Chemicals and Drugs Ninth Edition. Merck I. Co., Inc. 1976.
22. Philips N.V. Gloeilampenfabreken. Stabilization of solutions of Vitamin B₁. Duch 79, 470 Nov. 15 1955 Chemical Abstracts p. 11624f, Vol, 50, 1956.
23. Remington's Practice Pharmacy. Twelfth Edition Mack Publishing Company Easton, Pennsylvania. 1961.
24. Rigamonti. S. Stability of Injectable of Vitamin B₁ in the presence of antioxidants. (Farmitalia, Milan) Bol. Chim Farm (5). 358-67 (1967).

25. Takeda Chemical Industries LTD, Patent Specification, A. Pharmaceutical composition for a Painless Injection of Vitamin B₁ or its Derivatives. Brit 980, 238 (Cl a 61K) Jan 13, 1965, Japan April 7, 1962, 3pp.

26. Taub Abraham, Irving Katz, Journal of the American Pharmaceutical Association. The Stability of Thiamine Hydrochloride and Mononitrate in Parenteral Vitamin B Complex and Iron Solutions. Volume XXXVIII, March 1949 . Number 3.