

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

**ESTABILIDAD DE OXITETRACICLINA
BASE A TEMPERATURAS ELEVADAS
EN SOLUCION DE PROPILEN-GLICOL**

T E S I S

Que para obtener el título de

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A

ALBERTO DIAZ FLORES

MEXICO, D. F.

1973



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.

Tesis
CLAO _____
AGE _____ 1973 _____
FECHA _____
PROC _____ M. C. 82 _____



QUILMES

A MIS PADRES :

Con cariño y profundo agradecimiento.



A MIS HERMANOS.

A MIS COMPAÑEROS.

A MIS MAESTROS.

Al Q.F.B. Ignacio Negrete R.

Con agradecimiento :

Q. F. Luis Armando López Bello.

JURADO ASIGNADO ORIGINALMENTE :

Presidente : Profesor RAMON ULACIA ESTEVE
Vocal : Profesor JEROME REINSTEIN KLEIN
Secretario : Profesor IGNACIO NEGRETE REYNOSO
1er. Suplente : Profra. ETELVINA MEDRANO DE JAIMES
2do. Suplente : Profesor MARIO MIRANDA CASTRO

Sitio donde se desarrolló el tema: LABORATORIOS BELSA, S. A.

Sustentante : ALBERTO DIAZ FLORES
Asesor del tema : IGNACIO NEGRETE REYNOSO
Supervisor técnico : LUIS ARMANDO LOPEZ BELLO

CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCION	1
GENERALIDADES	
I.- PROPIEDADES DE OXITETRACICLINA	3
II.- ORDEN DE REACCION	11
III.- INFLUENCIA DE TEMPERATURA EN LA DEGRADACION	19
IV.- ANALISIS ACELERADO DE LA ESTABILIDAD	22
V.- TIPOS DE DEGRADACION DE OXITETRACICLINA	25
METODOS DE VALORACION	29
PLAN DE TRABAJO	31
PARTE EXPERIMENTAL	32
RESULTADOS	33
OBSERVACIONES	43
CONCLUSIONES	44
BIBLIOGRAFIA	45

INTRODUCCION

Uno de los factores importantes dentro de la Industria Farmacéutica, es conocer y poder determinar la vida de anaquel de un producto o su permanencia en el mercado, es decir, que la concentración del principio activo se mantenga dentro de límites aceptables que nos den la acción terapéutica deseada, normalmente 90% del etiquetado.

Para dicho fin se han utilizado los métodos de almacenar durante un año o más la forma farmacéutica en estudio, y observar su estabilidad a temperatura ambiente, lo que requiere demasiado tiempo; es por tanto que en los últimos veinticinco años se han utilizado los métodos de análisis acelerado de la estabilidad, en los cuales se determina en un tiempo más o menos corto la vida de un producto, es decir, su fecha de caducidad si es que la llega a tener.

El presente estudio tiene como finalidad comparar ambos métodos, es decir valorar muestras que se conservaron durante 5 ó 6 años, y a su vez comparar resultados con los obtenidos mediante un método de estabilidad acelerada, esto es sometiéndolos a temperaturas elevadas.

El análisis será realizado sobre oxitetraciclina base en solución -

inyectable; ahora bien considerando que es antibiótico y a la vez un producto biológico, para ser estable necesitará una formulación adecuada.

Al mismo tiempo se comparará si los métodos de la evaluación de la estabilidad, son compatibles o semejantes y no presentan grandes diferencias. Asumiendo en este caso que el mecanismo de descomposición de oxitetraciclina a temperatura ambiente es igual que a temperaturas elevadas.

GENERALIDADES

I PROPIEDADES DE OXITETRACICLINA

Antibiótico.- Es una sustancia que es biosintetizada por un microorganismo vivo, que es capaz de inhibir el crecimiento de otro, interfiriendo con sus actividades metabólicas.

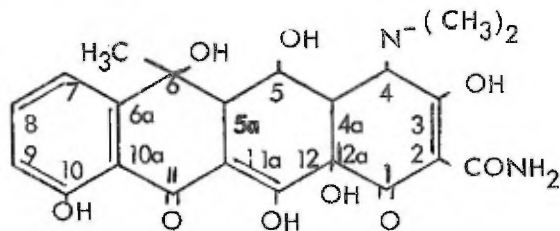
Oxitetraciclina: $C_{22}H_{24}N_2O_9 \cdot 2H_2O$ PM = 496.46

$C_{22}H_{24}N_2O_9$ PM = 460.43

Sinónimos: Biostat, Berkmycen, Imperacin, Oxydumocyclin, Oxymycin, Oxypan, Oxytetracid, Ryomycin, Stevacin, Tetramel, Tetram, Vendarcin, Vendracin, Terramicina. (2)

Nombre Químico: 4 (dimetilamino) -1, 4, 4a, 5, 5a, 6, 11, 12a, octahidro - 3, 5, 6, 10, 12, 12a, hexahidroxi - 6 metil - 1, 11, díoxo 2 naftacen carboxamida.

Fórmula desarrollada :



Descubrimiento y Producción

La Terramicina fue descubierta en 1950 por Finlay y colaboradores en los laboratorios de Charles Pfizer. El programa en primer lugar empezó con la colección de miles de muestras de suelo de varias regiones de la tierra. Después de estudiar cerca de cien mil de estas muestras é investigando setenta y cinco posibles antibióticos de ellas se logró alcanzar lo que se esperaba con muestras de Indiana. El nuevo antibiótico se llamó Terramicina (se dió tal nombre debido a su origen terrestre), y el nuevo actinomiceto se llamó Streptomyces rimosus, el nombre fué referido por la apariencia agrietada de las colonias en medio agar. (1), (3).

La Terramicina es producida industrialmente por fermentación. Los cinco principales pasos después de la filtración del caldo comprenden:

- 1.- Complejación del antibiótico con una pareja de iones metálicos multivalentes como Ba y Mg.
- 2.- Liberación del antibiótico del complejo por medio de ácido.
- 3.- Precipitación por neutralización, de la solución acuosa filtrada.
- 4.- Solubilización en metanol conteniendo CaCl_2 .
- 5.- Precipitación del clorhidrato por adición de HCl. Después purificación por conversiones sucesivas de la sal a la base y viceversa. La base cristalina es obtenida en esta serie de operaciones. (1)

Propiedades Físicas y Químicas :

La oxitetraciclina es un polvo cristalino amarillo, inodoro que tiene un sabor amargo y es higroscópico. Exposiciones a la luz solar o cerca de 90°C en aire húmedo causan ennegrecimiento pero no apreciable pérdida de potencia. Cristaliza también en diversas formas. (1) (3)

Es un compuesto anfótero que forma sales con los ácidos y con las bases. En solución acuosa neutra pueden estar en forma de anfólitos. El grupo dimetilamino les permite formar sales con los ácidos, sales cristalinas -- muy solubles en agua. Con las bases como el hidróxido de Na y de K, también forman sales pero estas no son estables en medio acuoso. Con los metales polivalentes forman sales insolubles. Sus sales cálcicas se aprovechan para tener derivados insípidos que pueden suministrarse en suspensiones para -- uso oral. (4)

Características :

Punto de Fusión : 181°C - 182°C (2) (23)

Poder Rotatorio $[\alpha]_D^{25}$ -196.6 en solución al 1% de HCl 0.1N (2)
 $[\alpha]_D^{25}$ -2.1 en solución 1% de NaOH
 $[\alpha]_D^{25}$ 26.5 en metanol al 1% (2) (5)

En una solución amortiguadora de fosfatos 0.1 M (pH = 4.5) --

la Oxitetraciclina muestra una absorción ultravioleta a 249, 276, 353 m -

μ (2). También se observan más de 20 bandas de absorción características en la porción infrarroja del espectro entre 2 - 16 μ .

Estabilidad

La oxitetraciclina clorhidrato es relativamente estable en soluciones ácidas diluidas. Una solución al 1% en agua destilada tiene un pH cercano a 2.5 y no muestra pérdida de potencia detectable por 30 días a 25°C. Regna y Solomons reportaron que soluciones diluidas son estables por un período similar bajo pH de 1.0 a 9.0 estando a 5°C. (5)

A ciertas temperaturas de cualquier modo, la estabilidad del clorhidrato en soluciones es dependiente del pH, a 25°C y a un pH de 7.0 la vida media en término de potencia antibiótica es de 7 días y las soluciones son rápidamente inactivadas en medio alcalino, a 37°C la vida media varía en términos de potencia antibiótica cerca de 5.5 días a pH de 2.5; cerca de 0.5 días a pH 10.0. En estado seco el clorhidrato y la base libre ambos son muy estables. No hay pérdida de potencia en un término de 2 años a temperatura ambiente y solamente cerca del 5% en 4 meses a 50°C. (1)

Identificación

La prueba de cloruro férrico, de Pawly, Fehling y Molish son -

positivas (5); mientras que en el análisis cualitativo no debe dar positivo -- azufre, halógenos y fósforo.

A unos cuantos mg. de oxitetraciclina, más 2 ml. de H_2SO_4 conc. produce un color rojo. Esta reacción colorida es específica (1).

Agregando ácido diazobencensulfónico T. S. → rojo anaranjado - que pasa a rojo café. Esta reacción puede usarse cuantitativamente leyendo el color producido a 490 m μ .

Espectro de Actividad

La oxitetraciclina posee un espectro de actividad muy amplio, -- tiene una potente acción contra una inmensa variedad de microorganismos - aeróbicos ó anaeróbicos. Las bacterias gram positivos son sensibles pero normalmente la eficacia es inferior a la de la penicilina; pneumococos, estreptococos, estafilococos. Los gram negativos son sensibles: Haemophilus influenzae, Escherichia coli, shigella, salmonella, proteus, pseudomonas; sin embargo existen marcadas diferencias entre las distintas cepas siendo algunas en gran manera resistentes. (6)

Las rickettsias, los grandes virus (Tracoma, linfogranuloma venéreo y treponemas) son sensibles por lo general. Aunque de una eficacia relativa en las amibiasis, la inhibición se produce mayormente sobre la flora bacteriana. Es efectiva contra algunos protozoos y helmintos (oxiuros) y--

una ligera acción tuberculostática. (6)

Mecanismo de acción

La Oxitetraciclina por su estructura parecida a la de las proteínas $\text{-}\overset{\text{O}}{\underset{\text{O}}{\parallel}}\text{C}\text{-NH}$ puede interferir en la síntesis y/o en la utilización de las proteínas. (7) Interfiere también con anabolismo de proteínas pero deprime la síntesis de ácidos nucleicos. En concentraciones bacteriostáticas la oxitetraciclina bloquea la utilización de reservas ribonucleicas en *E. coli*, los organismos logran el efecto de depolarización de los mononucleótidos pero aparentemente no pueden llevar la reacción más lejos. Esto es evidente por la acumulación de mononucleótidos los cuales salen fuera de su organismo y pueden ser detectados en el medio que los rodea. Estas observaciones coinciden con los resultados de estudio sobre la distribución de P^{32} en varias fracciones fosfáticas de *S. aureus*, los cuales bajo la influencia de oxitetraciclina no pueden llevar su transfosforilación normal. (7, 8)

Estandarización

Los datos sobre eficacia y posología tienen por base el peso. La actividad de los compuestos se expresa referida a la relación ponderal con oxitetraciclina pura. (3)

Farmacología Clínica

Absorción.- Las observaciones hechas por Welch, Herrel, Werner y otros han demostrado que la oxitetraciclina es fácil y rápidamente absor-

bida después de su administración ya sea por vía oral, intramuscular o intravenosa.

Administrada por vía oral la oxitetraciclina (anfótera o clorhidrato) se absorben más o menos bien. Pueden alcanzarse concentraciones activas en el suero al cabo de una hora, y a valores máximos a las 3 ó 4 horas. Seis horas después de tomarla disminuyen estas concentraciones poco a poco y se hacen inactivas a las 12 horas (9). Con concentraciones de 1.53 mcg/ml. de suero y tomas de 0.25-0.5 g se consigue un máximo de concentración y absorción en el suero. (3, 8).

Después de inyección intramuscular la oxitetraciclina se absorbe rápido, por término medio, con una dosis de 100 mg. se consiguen concentraciones medias de 0.6-1.4 mcg/ml. del suero al cabo de 2 horas y de 1 mcg/ml. a las 8 horas. Aumentando la dosis por inyección a 200 mg. no se pueden observar elevaciones correspondientes de la concentración sérica. (3)

Inyectando 250 mg. de oxitetraciclina por vía intravenosa las concentraciones del producto en el suero son de 5-10 mcg/ml. al cabo de una hora; de 1.5-2.5 mcg/ml. a las 8 horas; de 0.6-2.5 mcg/ml. a las 12 horas. (3)

Eliminación

La oxitetraciclina después de administrarse empieza a distribuirse

a través del cuerpo del animal y del hombre y tiende a concentrarse en el hígado y la bilis. Concentraciones en la bilis son frecuentemente de 4 a 8 veces más que aquellas en el suero en un tiempo dado. (1) Cuando la función hepática es normal la oxitetraciclina se elimina con la bilis en la proporción ya mencionada. (3)

Orina.- La oxitetraciclina aparece en la orina dentro de los 30 minutos después de su administración y arriba del 15% y hasta el 35% puede ser eliminado por esta vía en 24 horas.

Ultimamente cerca del 50% de la dosis administrada frecuentemente puede ser recuperada en forma activa biológicamente (es por tanto que se puede aprovechar esto para el tratamiento de infecciones urinarias. (1)

Heces.- Cuando se administra una sola dosis de 0.5 gr. de medicamento, se pueden recuperar en forma biológicamente activa hasta 600 mcg de oxitetraciclina por gramo de heces. (1)

II ORDEN DE REACCION

Las reacciones de degradación de los fármacos en las formulaciones farmacéuticas, se llevan a cabo a valores definidos y son de naturaleza química. Dependen de condiciones tales como concentración del fármaco, temperatura, pH, radiación, catalizadores, humedad y solubilidad. (10, 13) Principalmente un estudio efectivo y eficiente de estas reacciones requieren la aplicación de los principios de cinética química.

Cinética Química. - Es el estudio de la velocidad y mecanismos de las reacciones químicas y los factores que los afectan.

Velocidad de Reacción.

Las velocidades de reacción son de naturaleza variable, algunas se realizan muy rápidamente y otras lentamente. Pero la mayoría de las reacciones de destrucción de los fármacos se realiza con velocidades dentro de límites que por el cambio pueden ser medidas. (12)

Por lo general la velocidad de una reacción se mide por la concentración de un reaccionante ó de un producto en función del tiempo a temperatura constante.

La velocidad de las reacciones químicas es proporcional al produc

to de las concentraciones molares de las sustancias reaccionantes elevadas - cada una de ellas a una potencia igual al número de las moléculas de dicha sustancia que interviene en la reacción. (12)



$$\text{Velocidad} = K [A]^a [B]^b$$

K = constante de velocidad específica de reacción.

En el campo farmacéutico generalmente encontramos reacciones de cero orden, segundo orden, primer orden, pseudo-primer y pseudo-orden cero.

Reacción de Orden Cero

Cuando la velocidad de reacción es independiente de la concentración de la sustancia reaccionante se denomina de cero orden. En este tipo de reacciones el factor limitante es otro diferente de la concentración, tal como solubilidad o absorción de la luz en ciertas reacciones fotoquímicas. -

(10) Cuando el factor es la solubilidad, solo la cantidad de medicamento ó principio activo que está en solución sufre degradación.

El grado de descomposición del medicamento puede ser descrito - matemáticamente como sigue: tomando en cuenta que la velocidad no es una función de la concentración entonces es constante.

$$\text{Vel. de decrecimiento de concentración.} = - \frac{dC}{dt} = K$$

C = concentración del fármaco

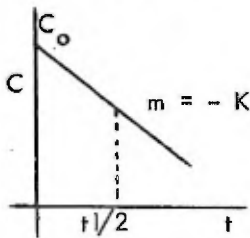
K = cte. de proporcionalidad = K de velocidad de reacción.

t = tiempo

$$\text{integrando} \quad C = C_0 - Kt,$$

C_0 = conc. inicial

que es la ecuación de una línea recta donde la pendiente es $-K$.



$$K = \frac{C_0 - C}{t}$$

El período medio ó vida media es el tiempo requerido para que la mitad del material desaparezca. (13)

$$t_{1/2} = \frac{1/2 C_0}{K} = \frac{C_0}{2K}$$

Reacciones de Primer Orden

Cuando la velocidad de reacción es directamente proporcional a -

la concentración de la sustancia reaccionante, se dice que es una reacción de primer orden.

$$\text{Velocidad} = - \frac{dC}{dt} = K C$$

C = concentración del fármaco a tiempo t

$-\frac{dC}{dt}$ = velocidad a la cual la concentración disminuye

K = constante de velocidad (ó variación específica de reacción) con unidades de tiempo $^{-1}$ (t^{-1}).

La expresión matemática :

$$-\frac{dC}{dt} = K C$$

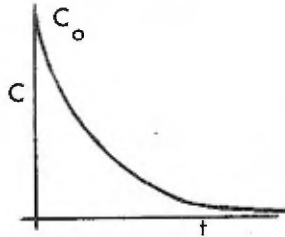
$$\ln C - \ln C_0 = -K (t - 0)$$

$$\ln C = \ln C_0 - K t$$

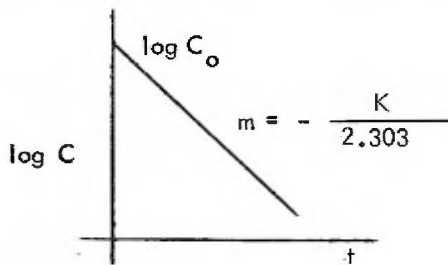
$$\log C = \log C_0 - \frac{K t}{2.303}$$

$$K = \frac{2.303}{t} \log \frac{C_0}{C}$$

La ecuación $C = C_0 e^{-K \cdot t} = C_0 \cdot 10^{-\frac{K t}{2.303}}$ expresa que en una reacción de primer orden la concentración disminuye exponencialmente con el tiempo (observar la gráfica). La concentración disminuye mientras la reacción va más lentamente y se aproxima asintóticamente a un valor 0 a un tiempo ∞ (13).



Ahora bien como es la ecuación de una línea recta si graficamos $\log C$ contra el tiempo obtendremos una recta con una pendiente $= \frac{-K}{2.303}$



La vida media o período de vida media en este tipo de reacciones viene dado por :

$$t_{1/2} = \frac{0.693}{K}$$

En el campo farmacéutico es importante calcular $t_{10\%}$, ya que representa un índice razonable de degradación de los principios activos (10)

$$t_{10\%} = \frac{2.303}{K} \log \frac{100}{90} = \frac{0.104}{K} = 0.152 t_{1/2}$$

$t_{1/2}$ ó $t_{10\%}$ son independientes de la concentración.

Reacciones de Segundo Orden.

Las reacciones de segundo orden son aquellas en las cuales la velocidad es proporcional a la concentración de dos reaccionantes.



Cuando la velocidad de reacción depende de las concentraciones de A y B la velocidad de descomposición de A es igual a la velocidad de descomposición de B y ambas son proporcionales de las concentraciones de los productos de los reactantes.

$$-\frac{dA}{dt} = -\frac{dB}{dt} = K [A] [B]$$

como están relacionadas a concentraciones :

$$\text{Velocidad} = -\frac{dC_1}{dt} = -\frac{dC_2}{dt} = K C_1 C_2$$

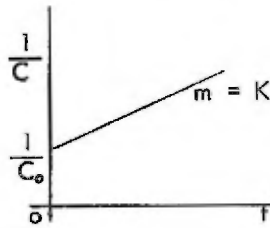
cuando se tiene un solo reaccionante o cuando C_1 y C_2 son -- iguales :

$$\text{Velocidad} = -\frac{dC}{dt} = K C^2$$

integrando :

$$\frac{1}{C} = K t + \frac{1}{C_0}$$

Si graficamos esta ecuación $\frac{1}{C}$ contra t , obtendremos una línea recta cuya pendiente es igual a K .



$$K = \frac{C_0 - C}{C \cdot C_0 \cdot t} \quad t_{1/2} = \frac{1}{C_0 \cdot K}$$

Seudo Orden Cero

Se refieren a reacciones en que la sustancia al estado sólido no se descompone, y la descomposición del compuesto en solución (sin exceso de soluto) muestra cinética de primer orden.

$$- \frac{dC}{dt} = K^1 C = K$$

C = se mantiene constante

K^1 = constante de velocidad de primer orden para la reacción en solución.

K = Constante de orden cero para descomposición total.

Seudo Primer Orden

Son aquellas reacciones que experimentalmente pueden mostrar cinética de primer orden, a pesar de que teóricamente son reacciones de segundo orden.

Reacciones de Tercer Orden.- Este tipo de descomposición se en

cuentran muy raramente en sistemas farmacéuticos.

Determinación del Orden de Reacción

Método de Substitución.- Los datos acumulados en un estudio cinético pueden ser substituídos en las formas integradas de las ecuaciones las cuales describen varios órdenes. Cuando la ecuación establecida en la cual los valores K calculados quedan entre los límites de la variación experimental, la reacción es considerada de ese orden. (13)

Métodos Gráficos.- Representar los datos obtenidos en forma de una gráfica, tomando los parámetros de las ecuaciones de cada orden: Concentración contra tiempo, si se obtiene una línea recta es de cero orden; $\log (a - x)$ contra t línea recta, es de primer orden; $\frac{1}{a - x}$ contra t línea recta segundo orden. (13)

Método de Vida Media

La vida media de una reacción en la cual la concentración de todos los reactantes son idénticas es :

$$t_{1/2} = \frac{1}{a^n - 1}$$

donde n es el orden de la reacción.

Las vidas medias son obtenidas gráficamente trazando concentración contra tiempo a dos concentraciones iniciales diferentes y leyendo el tiempo de vida media para cada una. (13)

III INFLUENCIA DE TEMPERATURA EN DEGRADACION

Un incremento de la temperatura produce un incremento en la -
velocidad de reacción. (11)

El efecto de la temperatura sobre la velocidad de reacción está -
dado matemáticamente por la ecuación de Arrhenius. (13)

$$K = A e^{-\frac{E_a}{RT}} \quad \text{-----} \quad (1)$$

K = velocidad específica de reacción

A = constante conocida como factor de frecuencia.

E_a = Energía de Activación de Arrhenius.

R = Constante de los gases (1.987 cal/gdo/mol.)

T = Temperatura absoluta.

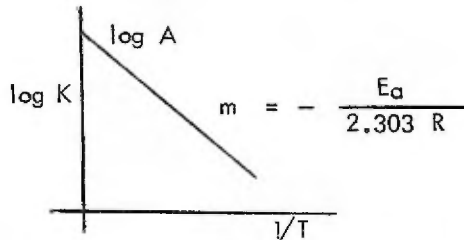
A.- Es la medida de la frecuencia de colisiones y la probabili--
dad y orientación de estas para que la reacción pueda ocurrir.

E_a.- Es la cantidad de energía requerida para poner las molécu-
las en un estado de activación del cual ellas reaccionan para formar el pro-
ducto de la reacción. (11) Cuanto más grande sea E_a será mayor el efec-
to de la temperatura en la velocidad de reacción.

En log base 10 de (1)

$$\log K = \log A - \frac{E_a}{2.303 R} \cdot \frac{1}{T} \quad (2)$$

La ecuación (2) es de una línea recta, si se tienen valores diferentes de K a diferentes temperaturas, graficando $\log K$ contra $\frac{1}{T}$ obtendremos una recta cuya pendiente es igual $= - \frac{E_a}{2.303 R}$ de la cual se puede calcular E_a . (13)



Se puede obtener E_a de la constante de velocidad a dos temperaturas diferentes. (11, 13)

$$\log K_2 = \log A - \frac{E_a}{2.303 R} \cdot \frac{1}{T_2}$$

$$\log K_1 = \log A - \frac{E_a}{2.303 R} \cdot \frac{1}{T_1}$$

La diferencia es :

$$\log \frac{K_2}{K_1} = \frac{E_a}{2.303R} = \frac{T_2 - T_1}{T_2 \cdot T_1}$$

La E_a de degradación de muchos compuestos farmacéuticos está entre límites de 15,000 - 30,000 cal/mol.

De los estudios de orden de reacción y aplicación de la ecuación de Arrhenius, se pueden seguir los estudios de estabilidad acelerada.

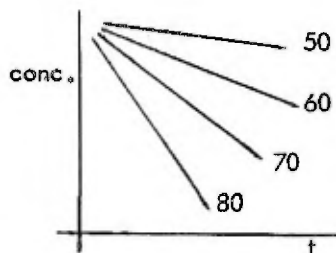
IV ANALISIS ACELERADO DE ESTABILIDAD.

En tiempo pasado para poder determinar la estabilidad de una forma farmacéutica, se evaluaba el principio activo durante un periodo de un año ó más; ahora cuando es posible se aplican los métodos de estabilidad acelerada.

La predicción de estabilidad a temperatura ambiente puede ser hecha de experimentos de degradación acelerada a altas temperaturas por el uso de la relación de Arrhenius. (11) Este método es aplicable solo a reacciones químicas con una E_a de 10 - 30 Kcal/mol. Esta es la magnitud de E_a para muchas degradaciones farmacéuticas que ocurren en solución. (11)

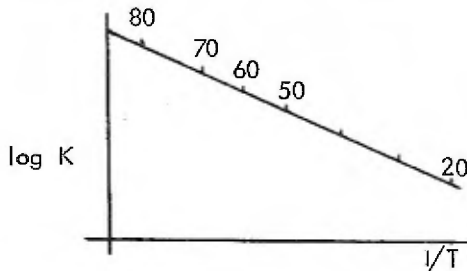
Método

Se determinan los valores de K para la descomposición de un medicamento a temperatura cada vez más elevada y se grafica la concentración contra el tiempo. (13)



Después de determinadas las constantes de velocidad a temperaturas elevadas, se construye una grafica de Arrhenius, tomando el $\log K$ contra el inverso de la temperatura absoluta y extrapolar la línea resultante a temperatura ambiente así se obtiene el valor de K a esta temperatura y con el se calcula la estabilidad del medicamento en condiciones normales.

(10, 11, 13)



Limitaciones

1.- Cada fármaco debe ser considerado como un caso especial. La degradación de un componente particular en un vehículo no puede ser aplicado arbitrariamente a otro.

(13)

2.- La cinética química se aplica con frecuencia a soluciones.

(10)

3.- El mecanismo de descomposición debe ser igual a altas y bajas temperaturas.

4.- Corroborar datos obtenidos por métodos acelerados, con estudios seguidos a temperaturas ambiente.

5.- El método cinético tiene valor solo para casos de descomposición con una E_a entre 10 y 30 kcal/mol.

(13)

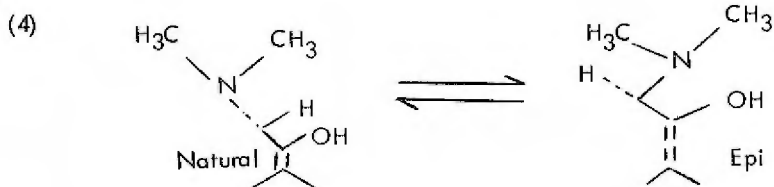
6.- No es válido el método, si la velocidad de reacción es determinada por difusión o reacciones fotoquímicas, ó si la descomposición es debida a congelación, contaminación o agitación excesiva. (13)

7.- No se pueden emplear altas temperaturas para productos con agentes suspensores como metilcelulosa la cual coagula proteínas; que pueden ser desnaturalizadas. (13)

Se deben usar métodos estadísticos para estimar los errores en la obtención de los valores de la velocidad de reacción. (11, 13)

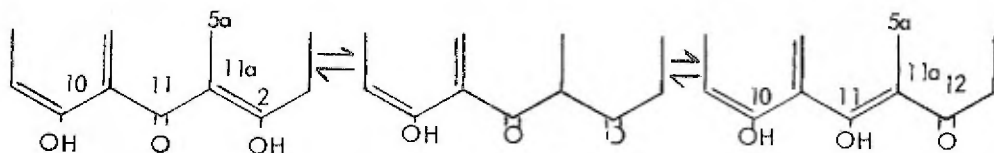
V TIPOS DE DEGRADACION DE OXITETRACICLINA

Oxitetraciclina, tiene la propiedad de formar epímeros en el carbono cuatro; son mucho menos activos que los isómeros naturales, esto explica la pérdida de actividad en soluciones almacenadas durante largo tiempo.



Si el grupo dimetilamino se elimina el compuesto pierde el 75 % de actividad, la importancia de este grupo y su conformación estructural es evidencia por la disminución de actividad.

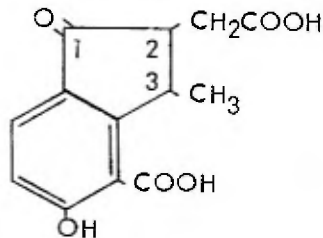
(4)
Los estudios de difracción de rayos X prueban que hay un sistema conjugado en los carbonos 10 al 12. (4)



La deshidrogenación para formar una doble ligadura entre los átomos de 5a y 11a produce una marcada pérdida de actividad.

Degradación alcalina

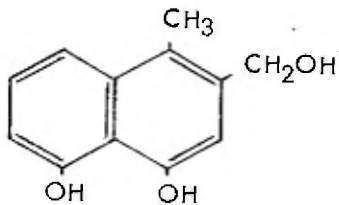
El mayor producto cuando el antibiótico fué tratado con álcali acuoso, se encontró ser un ácido cristalino: ácido Terracinoico ($C_{13}H_{12}O_6$)



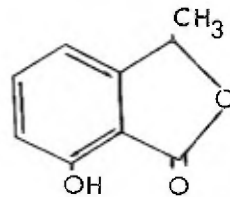
el cual resulta de un rearrreglo fundamental de la molécula siguiendo escisiones de enlaces C-C en los anillos B y C del antibiótico.

Cuando oxitetraciclina es tratada con álcali en presencia de Zn, - una reacción alternativa de degradación ocurre en la cual terranaftol ($C_{12}H_{12}O_3$) y metilftalido son producidos.

(19, 20)

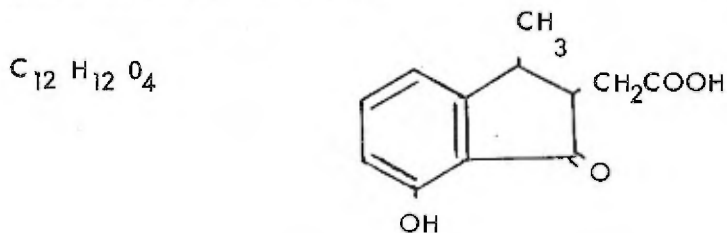


terranaftol



metilftalido

Un punto interesante es el hecho que cuando un mecanismo fué -
postulado para la formación de estos compuestos, una serie de reacciones -
alternativas las cuales se debieron en primer lugar a la formación de un com-
puesto teniendo la estructura :



ac. isodecarboxiterracinoico

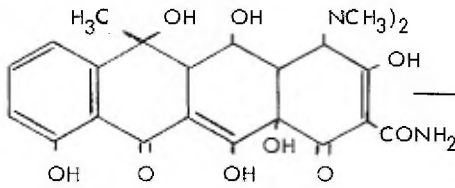
Cuando la degradación de las aguas madres fué nuevamente exa-
minada el producto fué encontrado. (19)

Degradación Acida

El tratamiento de oxitetraciclina con ácido no da una fragmenta-
ción excesiva de la molécula, como la observada bajo condiciones alcali-
nas. Por medio del uso de condiciones ácidas más fuertes fué posible esta-
blecer sucesivamente una serie de degradaciones las cuales fueron referi-
das simplemente a su precursor. (20)

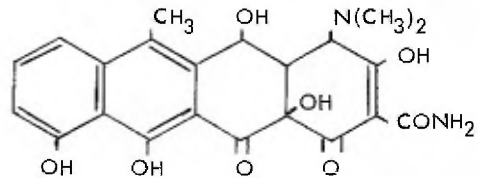
Serie de degradación ácida

Terramicina

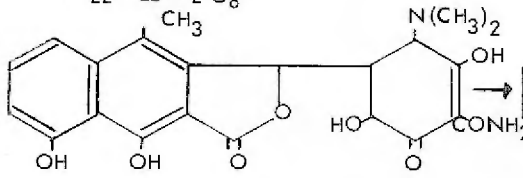
 $(C_{22} H_{24} N_2 O_9)$ 

y apoterramicina

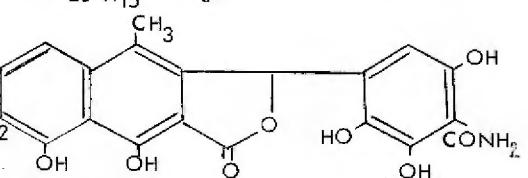
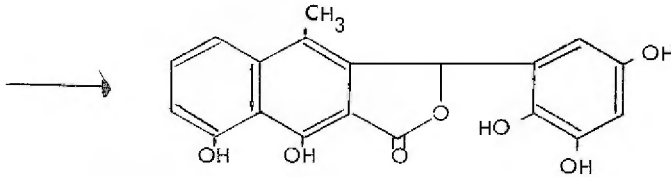
Anhidroterramicina

 $(C_{22} H_{22} N_2 O_8)$ 

Terrinolido

 $(C_{22} H_{22} N_2 O_8)$ 

Decarboximidoterrinolido

 $(C_{20} H_{15} N O_8)$  $(C_{19} H_{14} O_7)$ 

MÉTODOS DE VALORACION

De entre los diferentes métodos de valoración de la oxitetraciclina encontramos los siguientes :

1.- Método Microbiológico

Se usan los métodos ya conocidos, usando una cepa de *Bacillus cereus*, y midiendo halos de inhibición de crecimiento. (21)

2.- Método Colorimétrico

Preparando un estandar de concentración conocida y un problema para ensayo. Agregar a cada preparación una cantidad conocida de cloruro férrico. Determinar absorbancia de cada solución en un colorímetro a $490 \text{ m}\mu$. Hacer cálculos. (22)

3.- Absorción Espectro Ultravioleta

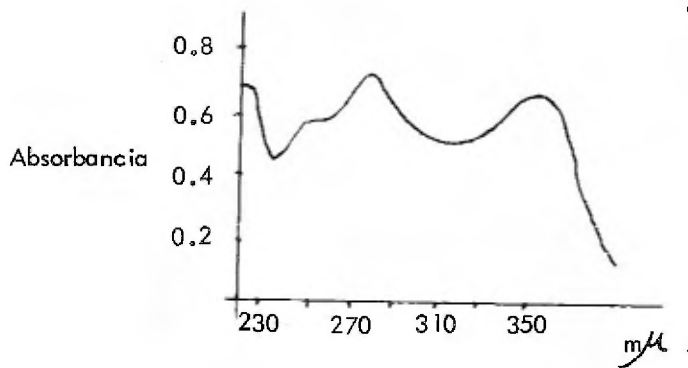
Oxitetraciclina en solución standard pH = 2.0 a $353 \text{ m}\mu$ $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ = 270 - 280. En 0.1 N de ac. sulfúrico a $269 \text{ m}\mu$ $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ = 400; cerca de $320 \text{ m}\mu$ $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ = 203 y $352 \text{ m}\mu$ $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ = 272. (24)

Extinción de 1 cm. de 0.002% W/V en solución standard pH = 2.0 a $353 \text{ m}\mu$ = 0.54 a 0.58. (25)

En solución de HCl 0.1 N el coeficiente de absorción de oxite-

traciclina $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ a $352\text{ m}\mu = 280 \pm 10$. (26)

Una cantidad de 20 mg solubilizar en solución amortiguadora pH = 2.0 llevar a 100 ml. Tomar 10 ml. llevar a 100. Se mide la extinción de la solución en una celda de 1 cm. a $353\text{ m}\mu$ $E_{1\%}^{1\text{cm}} = 284$. (27,21)



Gráfica Espectro U.V.

Oxitetraciclina en
Solución de

KCl/HCl.

20 mcg/ml.

PLAN DE TRABAJO

- 1.- Colocar muestras de ampollitas a diferentes temperaturas.
- 2.- Valorar con el método más adecuado, a diferentes tiempos - espaciados regularmente.
- 3.- Hacer pruebas para conocer más o menos que cantidad se -- conserva no alterada en cierto tiempo para cada temperatura.
- 4.- Con los datos obtenidos calcular las constantes de velocidad de reacción, para cada temperatura y el orden de reacción.

En caso de no tener un orden de reacción perfectamente definido, deducirlo mediante el cálculo de regresión lineal para cero y primer-orden principalmente. (15, 16).
- 5.- Con las constantes de velocidad obtenidas para cada temperatura hacer una gráfica de Arrhenius, y determinar constante de velocidad a temperatura ambiente.
- 6.- Calcular $t_{90\%}$.
- 7.- Calcular la energía de activación (E_a).

P A R T E E X P E R I M E N T A L

Para la valoración de oxitetraciclina se usarán el método espectofotométrico, por considerarlo sencillo y reproducible y por no presentar grandes diferencias con un método microbiológico. (17)

Se usarán estufas a 90° , 78° , 70° , 60°C , con una variación máxima de $\pm 1^{\circ}\text{C}$ de temperatura.

Material : Matraces aforados y pipetas.

Reactivos: Solución de KCl/HCl 0.11 M $\text{pH} = 2.0$.

Valoración: Región Ultravioleta con espectrofotómetro UNICAM SP 8000.

Técnica empleada :

Tomar un volumen de un ml. conteniendo 50 mg. de oxitetraciclina, pasar cuantitativamente en un matraz aforado de 50 ml. aforar a volumen con solución de KCl/HCl $\text{pH} = 2.0$. Tomar 2 ml. de esta solución, llevar a 100 ml. con la misma solución $\text{pH} = 2.0$ en un matraz aforado; se obtiene una concentración final de 20 mcg/ml .

Leer absorbancia a $353 \text{ m}\mu$

$E_{1\%}^{1\text{cm}} = 284$, se usa como blanco la solución de KCl/HCl .

RESULTADOS

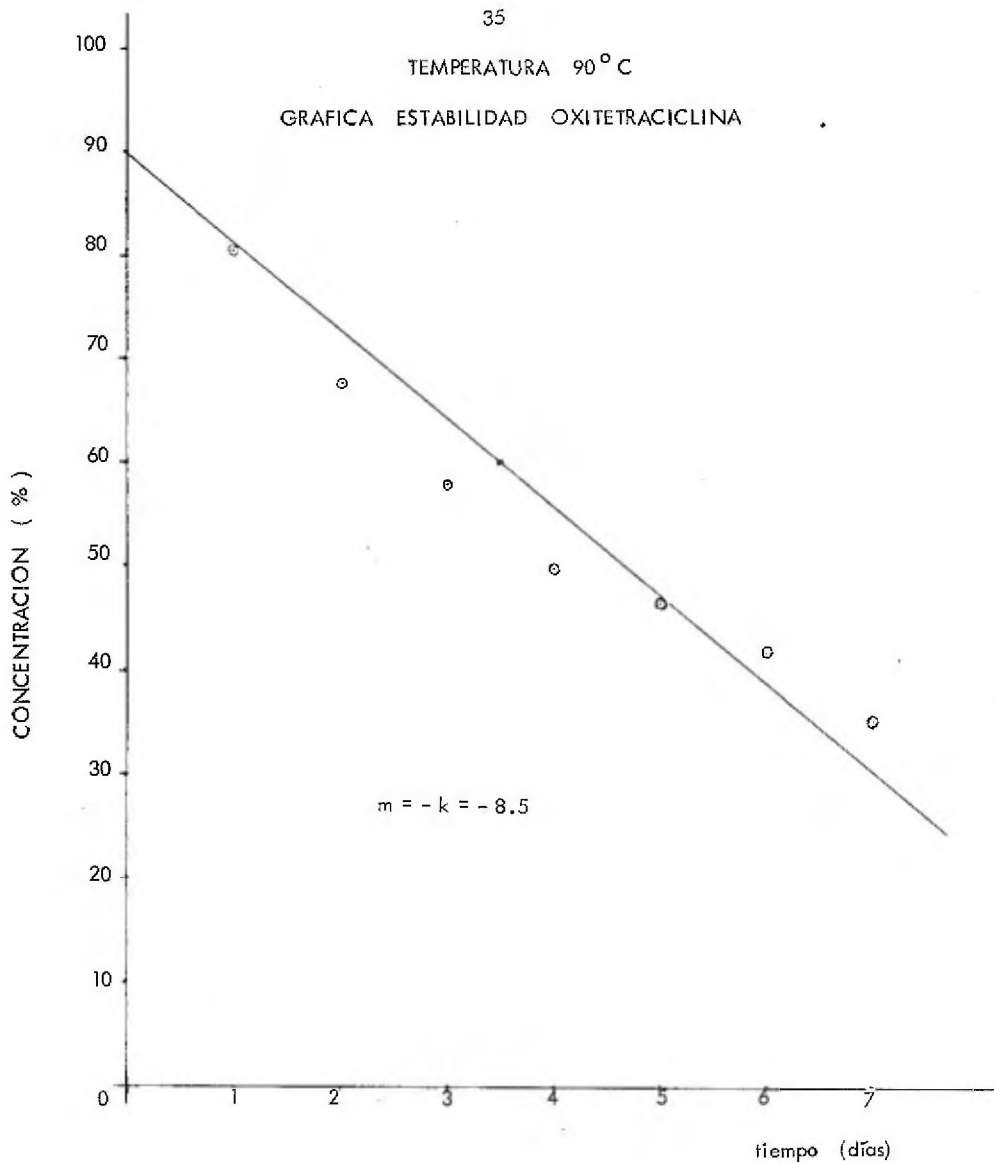
Valoración de diferentes muestras mantenidas a temperatura ambiente hasta siete años.

FECHA DE FABRICACION	% VALORADO Junio 1972
26 Octubre 1965	107.0
15 Noviembre 1966	107.0
16 Diciembre 1967	105.5
4 Mayo 1968	103.5
12 Junio 1969	98.5
3 Agosto 1970	102.5

DISMINUCION DE LA CONCENTRACION EN % A DIFERENTES TIEMPOS Y TEMPERATURAS				
DIAS/ T° C.	90° C	78° C	70° C	60° C
0	100.0 %	100.0 %	100.0 %	100.0 %
1	80.6			
2	67.7	93.0		
3	58.0		92.1	100.0
4	50.0	77.4		
5	46.7		91.2	
6	42.0	74.0		
7	35.4		86.4	
8		68.8		97.5
10		63.6	81.0	
12			79.4	
13		56.7		
14			76.3	95.8
17		55.0	76.3	
19			76.3	92.4
20		50.0		
22		41.2		
23			70.0	
24		37.8		90.0
26			70.0	
27		28.3		
28			67.0	
29		25.7		
31			63.0	
32				90.0
34			54.1	
41				88.2
49				84.0
57				84.0
67				82.4
75				80.0

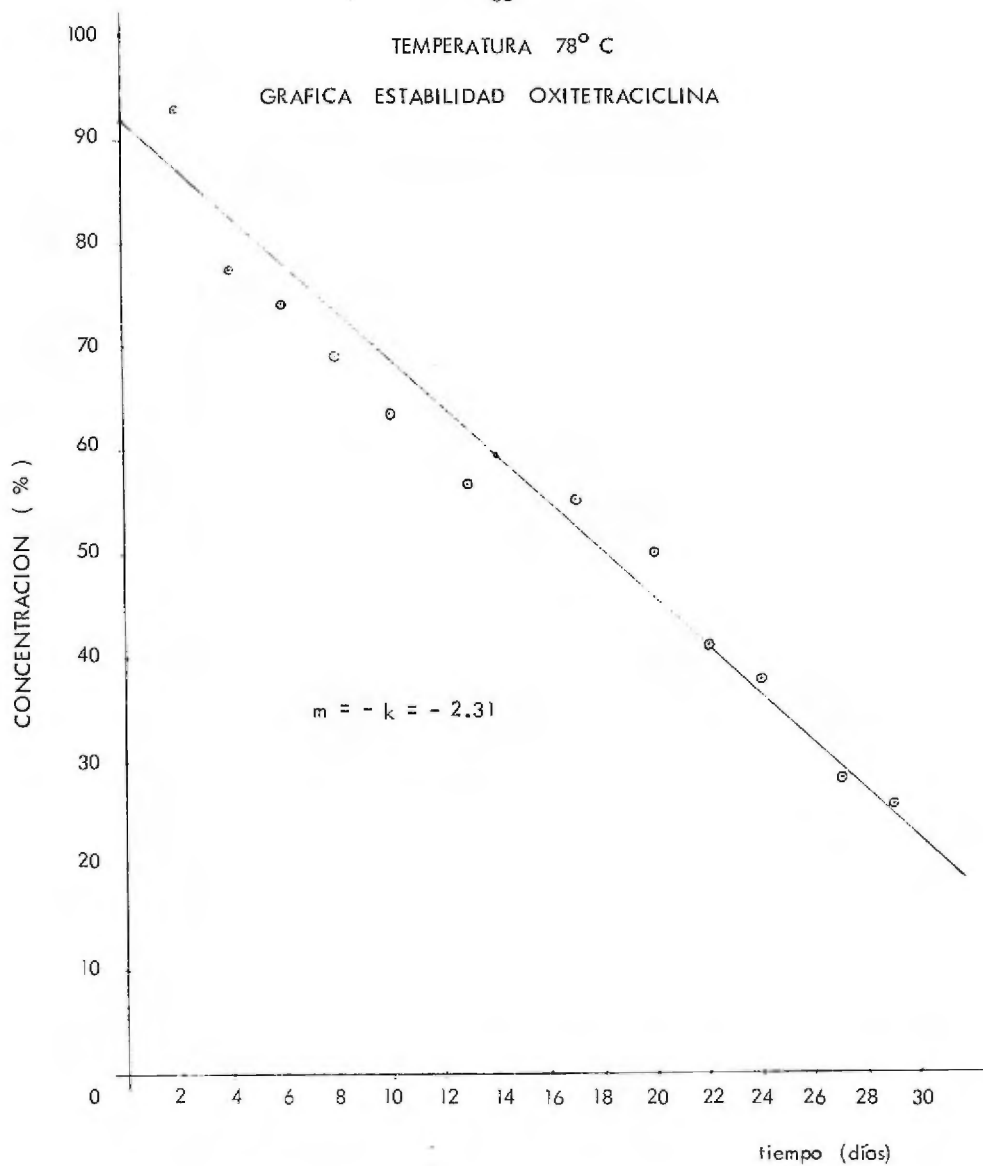
TEMPERATURA 90°C

GRAFICA ESTABILIDAD OXITETRACICLINA



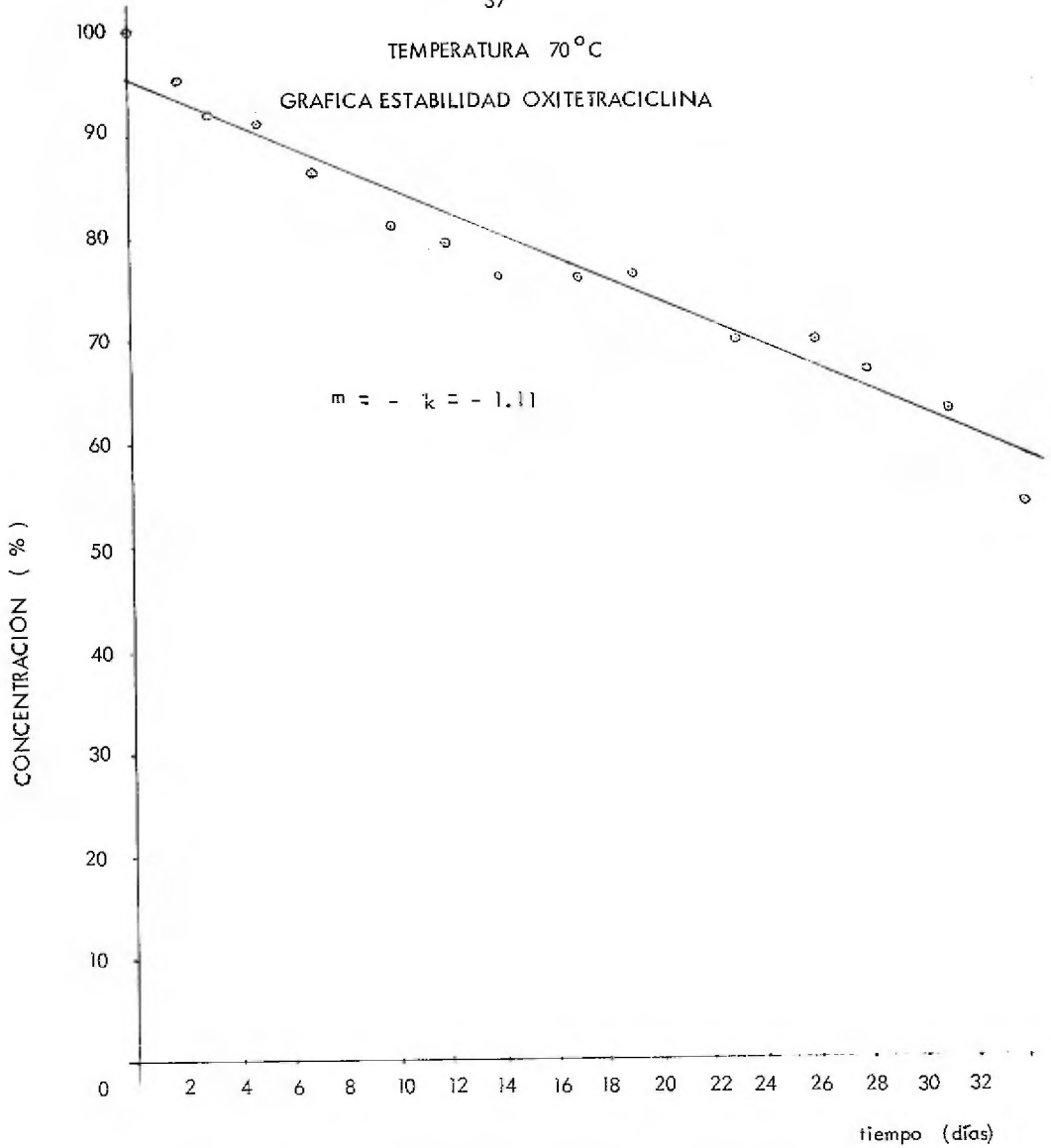
TEMPERATURA 78° C

GRAFICA ESTABILIDAD OXITETRACICLINA



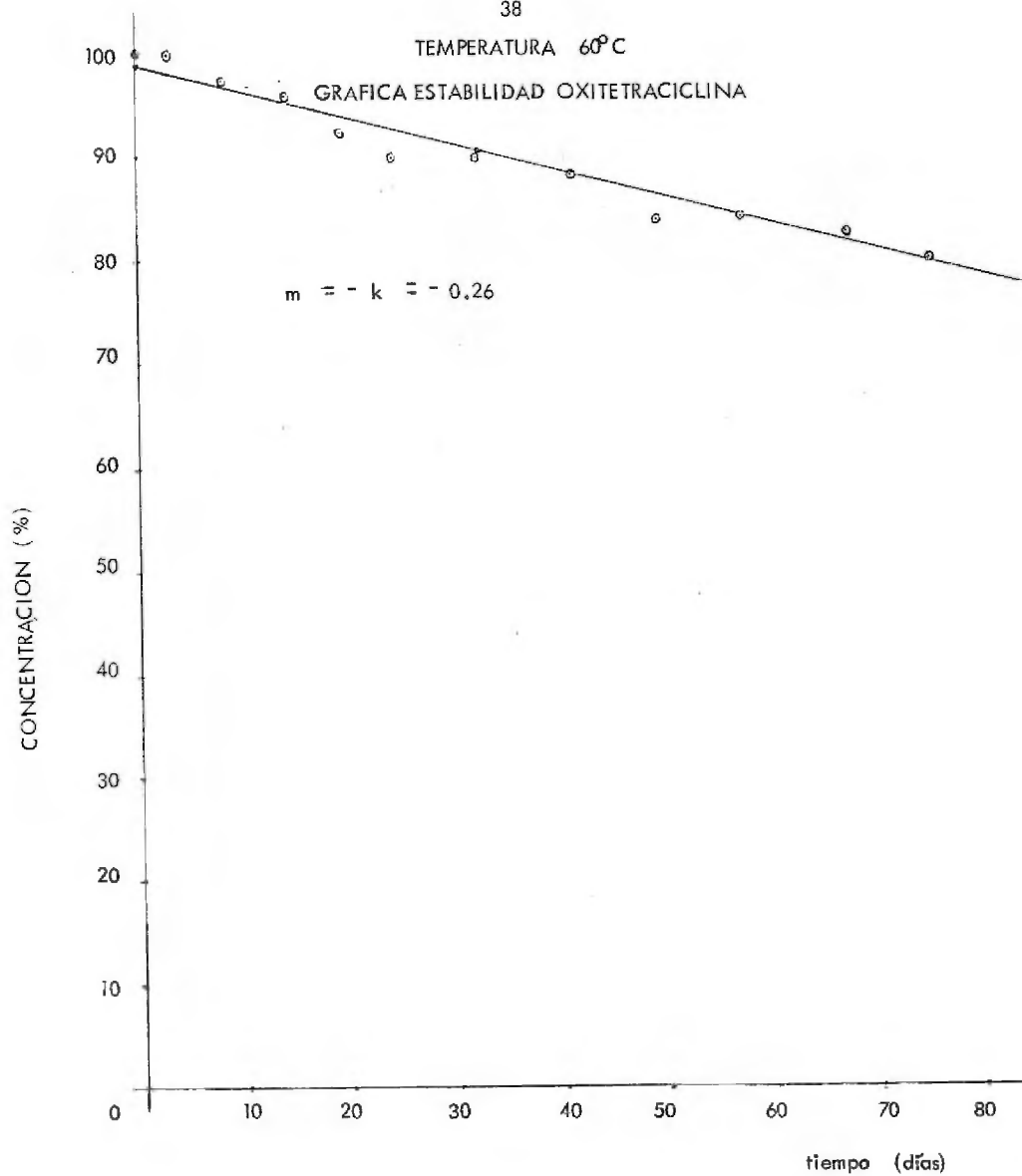
TEMPERATURA 70°C

GRAFICA ESTABILIDAD OXITETRACICLINA



TEMPERATURA 60°C

GRAFICA ESTABILIDAD OXITETRACICLINA



Resultados obtenidos para diferentes temperaturas aplicando regresión lineal. (15, 16)

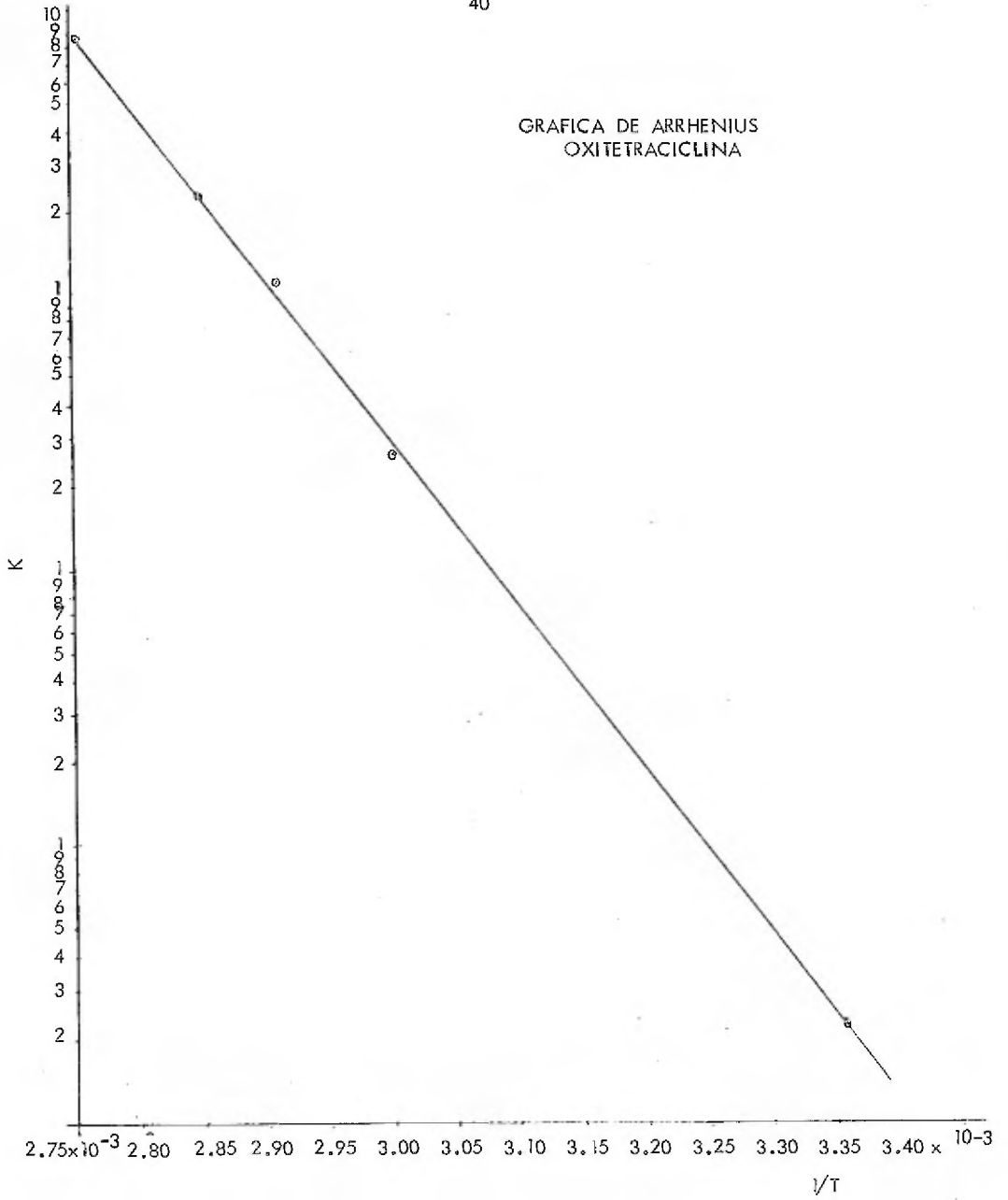
Temp.	r	Ecuación de la recta	K
90°C	0.965	$b = -mx + y = -(-8.55 \times 3.5) + 60$	8.55
78°C	0.980	$= -(-2.31 \times 14) + 59.3$	2.31
70°C	0.975	$= -(-1.11 \times 16.3) + 77.4$	1.11
60°C	0.980	$= -(-0.26 \times 32.4) + 90.3$	0.26

donde :

r = coeficiente de correlación.

x é y = puntos medios.

K = constante de velocidad

GRAFICA DE ARRHENIUS
OXITETRACICLINA

Datos gráfica de Arrhenius :

$$\text{Cálculo } t_{90\%} = \frac{C_0 - C}{K}$$

$$C_0 = 100 \%$$

$$C = 90 \%$$

$$K_{25^\circ\text{C}} = 2.2 \times 10^{-3}$$

$$t_{90\%} = \frac{100 - 90}{2.2 \times 10^{-3}} = 4545 \text{ días}^{-1} = 12.45 \text{ años}^{-1}.$$

El resultado de $K_{25^\circ\text{C}}$ aparece en la gráfica de Arrhenius en la parte inferior derecha.

De acuerdo a la misma gráfica de Arrhenius podemos obtener la - energía de activación (E_a) por medio de la pendiente.

$$m = \frac{-E_a}{2.303 \times R}$$

$$- 5961 = \frac{-E_a}{2.303 \times 1.987}$$

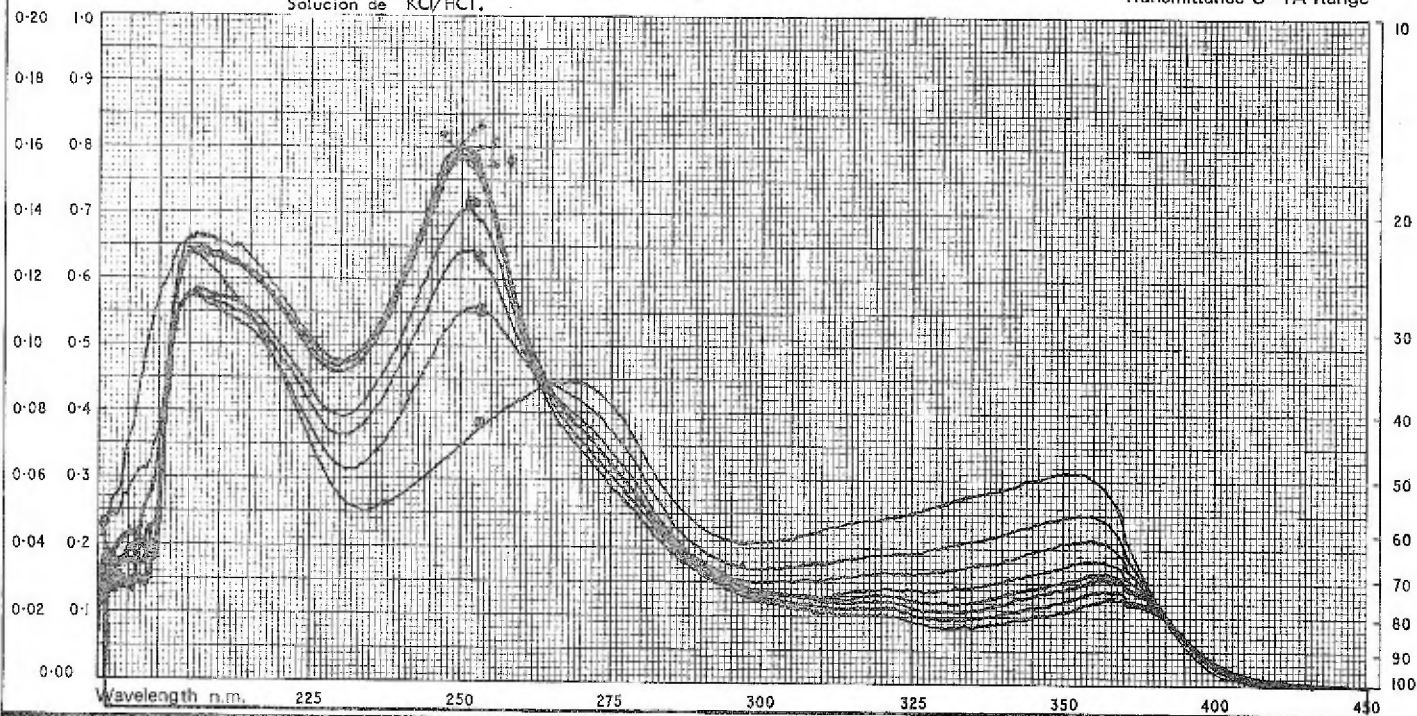
$$E_a = 27241 \text{ cal/mol}$$

$$E_a = 27.2 \text{ Kcal/mol}$$

Absorbance

Curvas de Absorción a diferentes estados de degradación de Oxitetraciclina en Solución de KCl/HCl.

Transmittance 0-1A Range



Sample and Formula Espectro de Absorción de Oxitetraciclina

Concentration 20 mcg/ml
 Reference
 Path Length 1 cm. mm

Scan Speed fast slow
 Absorbance Range 0-0.2A 0-1.0A
 Operator Alberto Díaz Date

Align with index on recorder

PYE-DUNLOP LTD CAMBRIDGE ENGLAND

Catalogue Number 608850

42

OBSERVACIONES

a).- De las muestras a temperatura ambiente. Se puede decir que no hay una pérdida en el contenido del principio activo, pues los valores encontrados experimentalmente quedan comprendidos en $100\% \pm 10$ de la cantidad etiquetada.

b).- De las muestras a diferentes temperaturas. Se observó un cambio de color en el líquido que contenían las ampollitas, en algunas ocasiones hasta un precipitado, el cual es soluble en la solución empleada para la valoración, lo que permitió verificar el ensayo.

c).- Del método empleado. El método no proporciona una respuesta exactamente a la deseada, ya que siendo los cambios pequeños, como se observa en la gráfica de la página 42 involucran por tanto cierto error.

d).- Del orden de reacción.- Como no era posible trazar una recta que comprendiera todos los puntos de las gráficas, para cada temperatura, se usó el método de regresión lineal; tratando los datos tanto para orden cero, como para primer orden, encontrándose menor correlación para este último.

C O N C L U S I O N E S

Por los resultados obtenidos mediante el método de almacenar -- muestras durante algunos años, para después valorarlas; y de los datos encontrados por medio del método de análisis acelerado de estabilidad, se -- puede concluir, que lo más probable es que los métodos sean compatibles.

B I B L I O G R A F I A

- 1.- Osol - Farrar. THE UNITED STATES DISPENSATORY. 25th. Ed. J. B. Lippincott Company. Philadelphia (1953).
- 2.- THE MERCK INDEX 8 Ed. Merck Co. Inc. N. J. (1968).
- 3.- Walter M. Albert y Heilmeyer Ludwig. MANUAL DE ANTIBIOTICOS Y QUIMIOTERICOS EN LA TERAPEUTICA MODERNA. Ed. Praxis S. A. Barcelona (1958).
- 4.- Hidalgo Ma. del Consuelo. FARMACIA QUIMICA. Ed. Alhambra - S. A. Madrid (1969).
- 5.- Regna, Peter and Solomons Y. A. ANNALS OF THE N. Y. Academy of Sciences 53 229 (1950)
- 6.- Cutting, Windsor. MANUAL DE FARMACOLOGIA. Montaver y Simón S. A. Barcelona (1966).
- 7.- Pratt, Robertson y Dufrenay Jean. ANTIBIOTICS. 2a. Ed. J. B. Lippincott Company. Philadelphia (1953).
- 8.- Cuffrey et al . ANTIBIOTICS CHEMOTHER 2 72 1952.
- 9.- TERRAMYCIN. Annals N. Y. Acad. Sci. 53 223-460 (1950).
- 10.- Lachman et al. THE THEORY AND PRACTICE OF INDUSTRIAL -- PHARMACY. Lea Febiger. Philadelphia (1971).

- 11.- Parrott, E. L. PHARMACEUTICAL TECHNOLOGY. Ed. Burgess Publishing Co. Minn. (1971).
- 12.- Martín, N. Alfred. PRINCIPIOS DE FISICO QUIMICA PARA FARMACIA Y BIOLOGIA. Ed. Alhambra Madrid (1967)
- 13.- Martín, N. Alfred. et al. PHYSICAL PHARMACY. 2nd. Ed. Lea - Febiger. Philadelphia (1970)
- 14.- Reinstein, Jerome. BASES QUIMICO CINETICAS PARA PREDECIR - ESTABILIDAD DE MEDICAMENTOS. México (1966).
- 15.- Ufacia Esteve Ramón. APUNTES NO PUBLICADOS SOBRE ESTADISTICA.
- 16.- Del Pozo A., De Iriarte E. Gaston. ENCICLOPEDIA FARMACEUTICA Tomo III. Ed. Científico Médica. España (1962).
- 17.- Dorothy J. Hiscox. THE ULTRAVIOLET DETERMINATION OF AUREOMYCIN AND TERRAMYCIN. Journal American Pharmaceutical Association 40 237 - 240 (1951).
- 18.- Yoshiaki Miura et al. ANTIBIOTICS AND CHEMOTERAPY. 2 130-5 1952.
- 19.- Burger Alfred. MEDICINAL CHEMISTRY. 2nd. Ed. Interscience Publishers Inc. N. Y. (1960)
- 20.- Hochtein, F. A. et al. THE STRUCTURE OF TERRAMYCIN. Journal of the American Chemical Society. 75 5455 (1953)

- 21.- Garratt D. C. THE QUANTITATIVE ANALYSIS OF DRUGS. 3a. Ed. Chapman Hall Ltd. London (1964).
- 22.- THE NATIONAL FORMULARY XI. American Pharmaceutical Association. Washington D. C. (1960).
- 23.- THE NATIONAL FORMULARY XII. American Pharmaceutical Association. Washington D. C. (1965).
- 24.- Clarke, E. G. C. ISOLATION AND IDENTIFICATION OF DRUGS. The Pharmaceutical Press. London (1969).
- 25.- BRITISH PHARMACOPEA. The Pharmaceutical Press. London (1968).
- 26.- PHARMACOPEE FRANCAISE. VII Ed. (1965).
- 27.- PHARMACOPEA UFFICIALE DELLA REPUBBLICA ITALIANA. 7a. Ed. Roma (1965).