

Universidad de Costa Rica

Facultad de Farmacia

Informe de Proyecto de Graduación

**Elaboración de un estudio de reformulación de una suspensión de antibióticos
de uso veterinario para Laboratorios FARYVET S.A.**

Estudiante: Melissa Camacho Solís

Carné: B01235

Integrantes del Comité Asesor:

Dr. Jorge A. Pacheco Molina

Máster Jessica Morera Huertas

Dra. Laura Ramírez Chinchilla

2019

Dr. Jorge A. Pacheco Molina

Director del Proyecto

Máster Jessica Morera Huertas

Asesora del Proyecto

Dra. Laura Ramirez Chinchilla

Asesora del Proyecto

Dr. Olman Hidalgo Muñoz

Lector del Proyecto

Dr. Renny Vargas Monge

Lector del Proyecto

Melissa Camacho Solís

Estudiante

RESUMEN

Cita Bibliográfica Completa

Camacho Solís M (2019). Elaboración de un estudio de reformulación de una suspensión de antibióticos de uso veterinario para FARYVET S.A. Informe de Proyecto de Graduación para optar por el grado de Licenciatura en Farmacia. Sede Universitaria Rodrigo Facio, San José, Costa Rica.

Descriptores

SUSPENSIONES, MEDICAMENTOS VETERINARIOS, ANTIBACTERIANOS, TECNOLOGÍA FARMACÉUTICA

Las suspensiones, por su naturaleza, son físicamente inestables y en determinado momento la sedimentación de los sólidos se dará de manera inevitable, por lo que representan un desafío en la formulación de productos farmacéuticos. La facilidad con la que se dé la redispersión de estos sólidos es un factor clave en la evaluación de cualquier formulación. Los aspectos de tamaño de partícula, las diferentes interacciones involucradas y la viscosidad del medio dispersante son parte de un complejo equilibrio que requiere del análisis del producto y sus componentes.

Los esfuerzos de regulación en la industria farmacéutica veterinaria nacional propician la necesidad de la evaluación de productos y fórmulas establecidas con respecto a su estabilidad y calidad. El propósito de este proyecto fue desarrollar una reformulación para un producto veterinario en suspensión que contiene sulfato de neomicina 2,20 mg/mL, sulfaguanidina 66,71 mg/mL, sulfadiazina 6,00 mg/mL y sulfamerazina 6,00 mg/mL con el fin de mejorar su calidad.

El proyecto se dividió en cuatro etapas. La primera etapa comprendió en la revisión de bibliografía relacionada a la estabilidad de suspensiones y de los registros existentes en Faryvet S.A. correspondientes al producto. La segunda parte del proyecto consistió en la reformulación del producto por medio de la información

recolectada en la etapa anterior. La tercera etapa fue la fabricación de lotes piloto para recolectar datos de pre-estabilidad y en la creación de los documentos necesarios con los cuales la compañía podrá iniciar un estudio acelerado de estabilidad. La última etapa se relacionó con la revisión de la metodología analítica existente para el producto, con el fin de completarla con los análisis requeridos para el estudio de estabilidad y los controles de los lotes de producción.

Como parte del proyecto se creó documentación correspondiente para análisis que no eran realizados por el laboratorio como lo son la determinación de la viscosidad y la cromatografía de capa fina. Además, se añaden cambios al proceso de manufactura y se recomienda realizar esfuerzos con respecto a la cultura de documentación del fabricante. También se generan protocolos relacionados a la validación de los análisis de cuantificación de sulfonamidas y límite microbiano con los cuales no se contaban al iniciar el proyecto. Finalmente se insta al laboratorio fabricante continuar en establecimiento de mejoras para el aseguramiento de la calidad en todas sus operaciones.

Índice

Problema de Estudio y Justificación	6
Objetivo General y Específicos	10
Marco Teórico	11
Medicamentos Veterinarios	11
Generalidades de la Suspensión a Reformular	13
Conceptos Generales de Antibióticos	14
Neomicina	15
Sulfonamidas	21
Caolín y Pectina	27
Suspensiones	30
Generalidades	31
Conceptos Físico Químicos Relevantes	32
Formulación de una Suspensión	37
Estudios de Estabilidad en Suspensiones	48
Metodología	51
Resultados y Discusión	58
Análisis Crítico de la Fórmula Original	58
Justificación de la Fórmula	61
Estudio de Reformulación y Análisis de la Metodología Analítica	63
Idoneidad de la Especificación del pH	63
Capacidad Amortiguadora	64
Comportamiento Reológico y Especificación de Viscosidad	66
Especificación de Densidad	69
Identificación de Principios Activos	69
Determinación de la Potencia Microbiológica	75
Modificaciones al Proceso de Manufactura	77
Estudios de Pre-estabilidad	83
Documentación Relacionada con el Producto	88
Conclusiones	88
Recomendaciones	89

Bibliografía	90
Anexos	104
Diagrama de Ishikawa.....	105

1. Problema de estudio y justificación.

La entrada en vigencia del Reglamento Técnico Centroamericano correspondiente al ámbito de los medicamentos veterinarios, por medio de la publicación de la Resolución No 257-2010 del RTCA 65.05.51:08, los requerimientos de registro sanitario y control estatal de los medicamentos veterinarios, produce un cambio en los requisitos a cumplir por parte de los laboratorios fabricantes. Esto genera una obligación que recae en los laboratorios de productos veterinarios nacionales, la cual se deriva del interés de continuar con la comercialización de sus productos. Dicho interés lleva a empresas como FARYVET SA a la identificación de aspectos de mejora en sus productos y la solicitud de apoyo técnico en el campo farmacéutico.

El medicamento con el que se trabajó en este proyecto fue una suspensión de uso veterinario para especies domésticas, cuyos principios activos son Sulfato de neomicina 2,20 mg/mL, Sulfaguanidina 66,71 mg/mL, Sulfadiazina 6,00 mg/mL y Sulfamerazina 6,00 mg/mL, con la adición de caolín y pectina, el cual se utiliza para el tratamiento de diarreas y enteritis de origen bacteriano, según lo establecido por el fabricante. La formulación original presenta una combinación de 4 antibióticos y es comercializada en el país.

La Dirección de Medicamentos Veterinarios como órgano adscrito al Servicio Nacional de Salud Animal (SENASA) “es la encargada de registrar, controlar, regular y supervisar los medicamentos veterinarios de manera que no representen un peligro para la salud pública, la salud animal y el medio ambiente”. Es el organismo competente en quien recae la implementación y vigilancia de los requisitos establecidos por la nueva regulación de medicamentos veterinarios (SENASA, sf).

Con la entrada en vigor del RTCA 65.05.51:08 es necesario justificar las ventajas de utilizar dicha combinación de antibióticos y de no encontrarse una justificación pertinente, según los usos propuestos, reformular el producto. Las exigencias y la vigilancia actual con respecto a la calidad (Yu et al., 2014), generan la

necesidad de los fabricantes de productos veterinarios, de trabajar en la mejora de los productos para lograr el cumplimiento de los nuevos requisitos.

En este estudio se buscó mejorar aspectos fisicoquímicos de la formulación para maximizar la estabilidad del producto y facilitar los análisis de calidad requeridos, como respuesta a las necesidades expresadas por el fabricante. El producto seleccionado cuenta con problemas de resuspendibilidad, lo cual no solo interfiere con la administración y dosificación del producto, sino que presenta problemas a la hora de realizar el control de calidad. Con el objetivo de optimizar dicha formulación se realizó un estudio documental y bibliográfico para determinar los problemas presentados en la fabricación y sus causas raíz con el fin de direccionar los esfuerzos hacia la mejora del producto y procesos relacionados con su fabricación.

Este producto presenta una combinación de principios activos de naturaleza antimicrobiana por lo que es de suma importancia verificar su uso adecuado, además de proporcionar al usuario final los niveles de calidad y seguridad correspondientes a la mejora de los procesos infecciosos, sin generar impacto ambiental o minimizándolo.

Tradicionalmente se le confiere el mayor impacto de la resistencia antimicrobiana al uso indiscriminado de fármacos en animales de producción, ya sea para incrementar su crecimiento o como profilaxis en caso de infecciones por microorganismos (Lloyd, 2007).

Como consecuencia, se ha dejado de lado el impacto que tiene el uso indiscriminado de antibacterianos en mascotas o animales de compañía, ya que muchas veces se ignora que las mascotas pueden actuar como reservorios de microorganismos resistentes cuando se dá un tratamiento inadecuado de las infecciones. La relación tan cercana entre los dueños y sus mascotas pueden propiciar la transmisión de estos organismos a los humanos, especialmente por medio de la piel o la saliva. Incluso el tratamiento utilizado en estas infecciones puede ser similar al utilizado en humanos, provocando que se genere una resistencia

y reduzca las opciones para el tratamiento en infecciones especialmente complicadas en humanos (Smith et al., 2018).

La resistencia a los antimicrobianos, también llamada farmacorresistencia, se produce cuando los microorganismos (bacterias, virus, hongos o incluso parásitos) sufren cambios como mutaciones que provocan que los medicamentos utilizados para las infecciones dejen de ser eficaces. Esta se produce en respuesta al uso continuo de estos fármacos. Los microorganismos multirresistentes pueden provocar infecciones graves y letales si no se tratan oportunamente. La multirresistencia implica generar resistencia a varias familias de antibióticos (Saldarriaga et al., 2015).

La situación puede llegar a ser muy crítica ya que, algunas de estas bacterias pueden adquirir resistencia a carbapenémicos y cefalosporinas de tercera y cuarta generación, las cuales están entre las mejores opciones disponibles para tratar las bacterias multirresistentes (Valdés y Ángel, 2017).

Se han identificado reportes de organismos multirresistentes de posible transmisión zoonótica por parte de animales de compañía (perros, gatos e incluso caballos) como *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus pseudintermedius* meticilino resistente, *Enterococcus* spp, enterobacterias productoras de β -lactamasas de amplio espectro (ESBL por sus siglas en inglés), *Acinetobacter baumannii*, *Campylobacter* spp, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* spp, y *Clostridium difficile* (Rendle y Page, 2018).

La problemática de la transmisión zoonótica de estas bacterias se puede clasificar por su impacto directo en la transmisión del organismo resistente en sí o en la transmisión indirecta como sería el caso de la transmisión de genes y factores de resistencia transferidos entre bacterias humanas y animales (Pomba et al., 2017).

Es importante implementar medidas para la reducción del uso irracional de antimicrobianos. Sin embargo, esto se dificulta si se ofrecen opciones comerciales cuyos usos no se encuentren claramente justificados en animales o que por su naturaleza promueven su uso indiscriminado. Por esta razón, la mejora en el control

de estos productos desde su producción y su oferta comercial implican la necesidad de promover su uso racional. Destaca también en este sentido la importancia del profesional farmacéutico en la producción de acuerdo con normas de correcta fabricación y en la utilización de estos productos en todos sus ámbitos.

2. Objetivos

2.1. Objetivo General

Desarrollar una reformulación para un producto veterinario en suspensión que contiene sulfato de neomicina 2,20 mg/mL, sulfaguanidina 66,71 mg/mL, sulfadiazina 6,00 mg/mL y sulfamerazina 6,00 mg/mL con el fin de mejorar su calidad.

2.2. Objetivos Específicos

- 2.2.1.** Determinar los problemas de estabilidad física y química del producto original mediante una revisión bibliográfica y el estudio de los registros de producción, análisis realizados anteriormente y otros documentos relacionados.
- 2.2.2.** Desarrollar un estudio de reformulación partiendo de la fórmula original con el fin de evaluar y definir la fórmula cualitativa - cuantitativa para los lotes piloto de estabilidad del producto reformulado.
- 2.2.3.** Establecer el método de fabricación para la fórmula definitiva de los lotes piloto que sirva como base para los lotes industriales.
- 2.2.4.** Establecer las pruebas analíticas requeridas para el control de calidad y el estudio de estabilidad del producto reformulado.

3. Marco teórico.

3.1. Medicamentos Veterinarios

Según la Ley General de Salud en su artículo 104, se establece que un medicamento es:

“toda sustancia o productos naturales, sintéticos o semi-sintéticos y toda mezcla de esas sustancias o productos que se utilicen para el diagnóstico, prevención, tratamiento y alivio de las enfermedades o estados físicos anormales, o de los síntomas de los mismos y para el restablecimiento o modificación de funciones orgánicas en las personas o en los animales”.

También en el artículo 96 de esta misma ley se establece que los establecimientos que estén relacionados con la producción, manejo y venta de medicamentos de uso veterinario de forma exclusiva pueden ser regentados por un Médico Veterinario (Asamblea Legislativa, 1974).

Esta regencia supone la dirección técnica y científica, además la responsabilidad de todo lo relacionado a la identidad, pureza y buen estado de los productos farmacéuticos que sean elaborados, preparados, manipulados, almacenados y suministrados en dichos establecimientos. Incluso se establece que estos establecimientos requieren permisos y el debido registro en el Colegio de Médicos Veterinarios (Asamblea Legislativa, 1974).

Por su parte la resolución N° SENASA-DG-R011-2009, establece que tiene competencia el Servicio Nacional de Salud Animal (SENASA, 2009) como parte del Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG), para el control y la garantía en cuanto a la salud de los animales de diferentes especies y por lo tanto de productos, subproductos y derivados para consumo humano o animal y los controles sanitarios de los establecimientos relacionados.

Según el Reglamento General para el otorgamiento del Certificado Veterinario de Operación, Decreto 34859-MAG, este certificado es requerido para la debida

operación de establecimientos que “elaboren, importen, almacenen, fraccionen, almacenen, transporten y vendan medicamentos veterinarios, sustancias peligrosas para la salud ambiental y químicos para los alimentos de origen animal”.

El decreto ejecutivo 28861 del Ministerio de Agricultura y Ganadería se refiere al registro y control de medicamentos veterinarios y define los establecimientos farmacéuticos veterinarios. También, el documento amplía la definición de medicamento veterinario al agregar los aditivos con propiedades farmacológicas, tales como: anticoccidios, antibióticos, promotores de crecimiento, plaguicidas y alimentos medicados (MAG, 2001).

En este decreto también se estipula la creación del Departamento de Medicamentos Veterinarios, entidad cuyas funciones incluyen lo referente al registro de medicamentos veterinarios, además de las inspecciones a los establecimientos farmacéuticos veterinarios. Para efectos del registro de medicamentos veterinarios existe una clasificación:

Grupo 1: Medicamentos de uso restringido (Estupefacientes y Psicotrópicos).

Grupo 2: Medicamentos de uso restringido por receta de Médico Veterinario.

Grupo 3: Medicamentos de venta exclusiva en establecimientos farmacéuticos veterinarios. Dentro de este grupo se incluyen los antibióticos y otros antibacterianos como antihelmínticos y antiprotozoarios.

Grupo 4: Medicamentos de venta libre en cualquier local comercial autorizado.

En el caso de medicamentos veterinarios con combinaciones de principios activos, según el RTCA 65.05.51:08 se deben demostrar las ventajas de la combinación por medio de estudios científicos que sustenten las ventajas farmacológicas en combinación comparándolas con sus eficacias de manera separada. Esto se cumple con el fin de que su uso conjunto no incremente los riesgos para la salud humana, el medio ambiente y que no promueva factores de

resistencia microbiológica (Poder Ejecutivo, 2015). Según esto se requiere demostrar:

1. Que existe un efecto sinérgico o de potenciación, mejorando la actividad terapéutica.
2. Que se amplía el espectro o el rango de acción contra varios agentes en enfermedades o problemas de salud ocasionados por varios agentes.
3. Que la adición mejora o disminuye los efectos adversos o colaterales, o permite el uso efectivo de menores cantidades de principio activo.
4. Que se produce una mejora en el perfil farmacocinético y farmacodinámico.

Estas combinaciones de fármacos deben estar respaldadas por documentación que justifique las indicaciones de uso para las cuales es necesaria para lograr un efecto terapéutico, la idoneidad con respecto a la proporción entre los principios activos que contiene el producto y la inexistencia de antagonismos entre los componentes activos (Poder Ejecutivo, 2015).

3.2. Generalidades de la Suspensión de Antibióticos a reformular

El producto a reformular consiste en una suspensión de los antibióticos de sulfato de neomicina en concentración de 2,20 mg/mL y tres sulfonamidas que incluyen: 66,71 mg/mL de sulfaguanidina, con 6,00 mg/mL sulfadiazina e igual concentración de sulfamerazina. Además de los antibióticos, contiene una combinación de excipientes de los cuales son importantes el caolín y la pectina cuyo uso se ha asociado como coadyuvante en casos de enteritis bacteriana, que es la indicación principal de este producto.

La enteritis de origen bacteriano en mascotas se ha visto relacionada principalmente a la presencia de enteropatógenos como *Clostridium* spp, *Salmonella* spp, *Campylobacter jejuni* y *Escherichia coli*, esta última ha sido asociada específicamente con colitis granulomatosa (GC). La GC se da con mayor prevalencia en perros de raza Bóxer, Bulldog francés y Border Collie (Marks et al., 2011).

Las siguientes secciones pretenden analizar los diferentes componentes de la fórmula original, una descripción de su mecanismo de acción, generalidades y su uso en la práctica veterinaria.

3.2.1. Conceptos Generales de Antibióticos

En esta sección se definirán algunos conceptos básicos relacionados con la temática de antibióticos y microbiología clínica que se relacionan directamente con la naturaleza del producto analizado. Entre los conceptos se encuentran la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) y la diferencia entre los fármacos bacteriostáticos y bactericidas.

La CIM se refiere a la concentración de un antibiótico necesaria para inhibir el crecimiento de un inóculo (número estandarizado de microorganismos) en determinadas condiciones. La CIM permite conocer la cantidad probable de fármaco necesaria para inhibir el crecimiento *in vivo* y, con esto determinar el régimen de dosificación necesario para el paciente (Carroll et al., 2015).

También se utiliza como criterio que define las cepas como resistentes, intermedias o susceptibles a un determinado medicamento. Una limitación de este criterio es que la CIM solo muestra que el crecimiento bacteriano se inhibe a determinada concentración del fármaco sin embargo, todavía pueden haber bacterias viables con habilidad de recuperarse cuando se elimina el medicamento (Carroll et al., 2015).

Los agentes antibacterianos pueden clasificarse como bacteriostáticos o bactericidas. Los antibióticos bactericidas matan a las bacterias y los antibióticos bacteriostáticos suprimen el crecimiento de las bacterias y las mantienen en la fase estacionaria de crecimiento (Bernatová et al., 2013). Los agentes que son principalmente bacteriostáticos requieren concentraciones mínimas inhibitorias del fármaco mucho más bajas que las concentraciones requeridas de fármacos bactericidas (Lampidis y Maddix, 2017).

3.2.2. Neomicina

Información Química

La neomicina es una mezcla de antibióticos producto de la fermentación de *Streptomyces fradii*. Los principales componentes de la mezcla son los estereoisómeros neomicina B y C y el producto de degradación neomicina A, llamado también neamina (Figura 1). Las neomicinas B y C tienen una fórmula molecular de $C_{23}H_{46}N_6O_{13}$. (Lovering & Revees, 2011).

La mezcla de neomicina es de carácter amorfo y se caracteriza por tener un grupo aminociclitol y aminosacáridos unidos al anillo de aminociclitol por medio de un enlace glicosídico. Los grupos amino contribuyen a la naturaleza básica de esta clase de antibióticos y los grupos hidroxilos de los azúcares contribuyen a una alta solubilidad en agua (O'Neil, 2013).

El producto disponible comercialmente consiste casi en su totalidad en la sal de sulfato de la neomicina B. Dependiendo del contenido de neomicina C, la Farmacopea Europea distingue el sulfato de neomicina y el sulfato de frameticina. Los límites del contenido de neomicina C son de 3,0 a 15,0% para el sulfato de neomicina y menos de 3,0% para el sulfato de frameticina (Stypulkowska et al., 2013).

El sulfato de neomicina B es un polvo higroscópico o sólido cremoso, inodoro o casi inodoro, de color blanco a ligeramente amarillo (Plumb, 2018). Su potencia antimicrobiana no es inferior a 680 unidades por mg, calculada con referencia a la sustancia seca. Es muy soluble en agua, ligeramente soluble en alcohol y prácticamente insoluble en acetona, cloroformo y éter. Una solución al 1% en agua tiene un pH de 5,0 a 7,5 (NCBI, 2019). Este producto requiere almacenamiento en recipientes herméticos y protección de la luz (Sweetman, 2009).

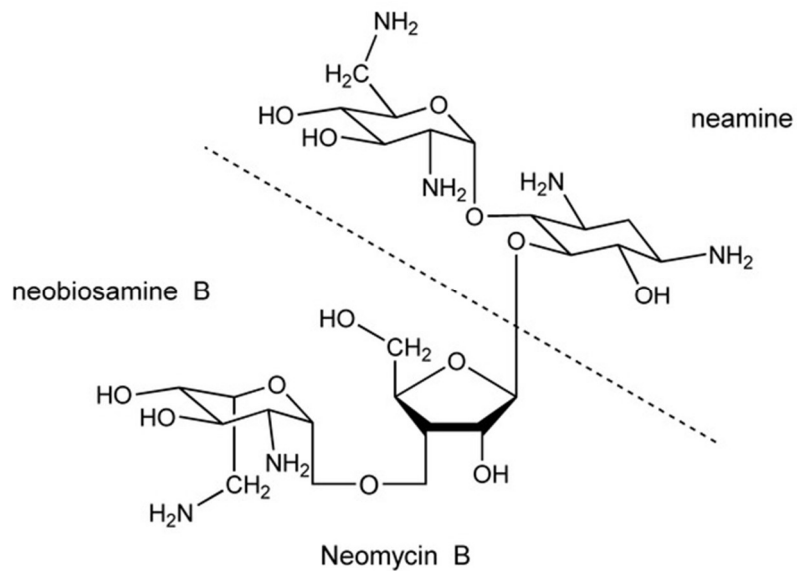


Figura 1: Estructura de la Neomicina. Tomado de O'neil, 2013.

En el siguiente cuadro se presenta la información de solubilidad de la neomicina con respecto a algunos disolventes de interés.

Tabla 1: Solubilidad de la Neomicina

Información Fisicoquímica		
Solubilidad (mg/ml) a 28°C	Neomicina B HCl	Neomicina Sulfato
Agua	15,0	6,3
Metanol	5,7	0,225
Etanol	0,65	0,095
Isopropanol	0,05	0,082

Elaboración propia. Fuente O'Neil, 2013.

Con respecto a la estabilidad, se ha reportado que el polvo de framicitina mantiene su potencia antimicrobiana, luego de 24 meses de almacenamiento. El polvo de la sal sulfatada es estable por lo menos 3 años a una temperatura de 20°C. El sulfato de neomicina puede ser calentado a 110°C por 10 horas, como en el caso

de una esterilización por calor seco sin sufrir pérdida de potencia, aunque puede adquirir una tonalidad amarillenta (Heyes, 1979).

Las soluciones acuosas de neomicina B son estables en rangos de pH de 2 a 9 a temperatura ambiente. Esto cambia a temperaturas de 45°C, donde se ha descrito una pérdida de potencia hasta un 94% durante un periodo de 2 años en soluciones con un rango de pH de 4 a 8. La neomicina es estable a la acción de las bases, pero no de los ácidos. La presencia de glicerina, propilenglicol y manitol a concentraciones entre 1 y 10% mejora la apariencia de las soluciones previniendo la decoloración. Los polioles o polialcoholes también previenen las variaciones en el pH (Heyes, 1979; O'Neil, 2013).

Relacionado con la estabilidad de la neomicina en formulaciones farmacéuticas, cabe de destacar la pérdida de potencia reportada en una suspensión con goma tragacanto y azúcares, que mostró estabilidad por 10 días a 4°C, pero se observó una pérdida de potencia al exponerse a la luz solar. Otros compuestos con los que se han reportado problemas de estabilidad son lanolina hidratada y polietilenglicol (Heyes, 1979).

La neomicina sufre degradación al ser sometida a una temperatura de 50°C y una humedad relativa de 100% por más de 8 días y se da un cambio a un líquido café con olor fuerte que es corroborado por un cambio en el espectro de absorción ultravioleta del compuesto y la disminución de la actividad microbiológica (WHO, 1986).

Mecanismo de Acción

Los antibióticos aminoglucósidos son bactericidas a concentraciones altas, la magnitud de la destrucción bacteriana depende de la concentración del antibiótico. A concentraciones bajas, los aminoglucósidos son únicamente bacteriostáticos. La eficacia de los aminoglucósidos aumenta si las concentraciones máximas de fármaco en plasma o tejido superan la CIM en 10 a 12 veces. Se recomienda su uso en una dosis única al día para mejorar la eficacia y la seguridad (MacDougall, 2018).

El sitio de acción de los aminoglucósidos es el ribosoma, al cual se unen de forma irreversible, particularmente a la subunidad 30S, pero también a la subunidad 50S, por lo que interfieren con la síntesis de proteínas (MacDougall, 2018). Esto se ilustra de manera general en la Figura 2. Para llegar al ribosoma, los aminoglucósidos primero deben cruzar el recubrimiento de lipopolisacáridos (LPS, en organismos gramnegativos), la pared celular bacteriana y la membrana celular. Debido a la polaridad de estos compuestos, se requiere un proceso de transporte activo especializado (Boothe, 2018a).

La primera etapa requiere la unión del aminoglucósido catiónico a los componentes aniónicos en la membrana celular. Estos son dependientes de energía e implican el transporte del aminoglucósido catiónico polar, altamente cargado, a través de la membrana citoplásmica. La fuerza motriz para esta transferencia es probablemente el potencial de membrana. Estos procesos son mucho más eficientes en ambientes aeróbicos (Boothe, 2018a).

Los aminoglucósidos se asocian con un efecto postantibiótico en bacterias gramnegativas (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*). El efecto generalmente dura entre 2 y 8 horas después de la exposición y permite intervalos de dosificación más largos (Boothe, 2018a).

Las bacterias anaeróbicas, como por ejemplo *Clostridium* sp y *Bacteroides* sp, son generalmente resistentes, porque carecen de los sistemas de transporte apropiados. Además, en ambientes con oxígeno disminuido, como en los tejidos hipóxicos, la transferencia a las bacterias disminuye. Los cationes divalentes como el calcio y el magnesio pueden interferir con el transporte hacia las bacterias porque pueden competir por los sitios aniónicos específicos (Boothe, 2018a).

El movimiento pasivo de los aminoglucósidos a través de las membranas celulares bacterianas se facilita mediante un pH alcalino. El pH ácido puede aumentar la resistencia. De igual forma los cambios en la osmolalidad también pueden alterar la captación de aminoglucósidos. El sinergismo es común cuando se usan en combinación con los antibióticos β -lactámicos (como penicilinas y

cefalosporinas). La lesión de la pared celular inducida por los compuestos β -lactámicos permite un fácil acceso a la membrana de la célula bacteriana (Boothe, 2018).

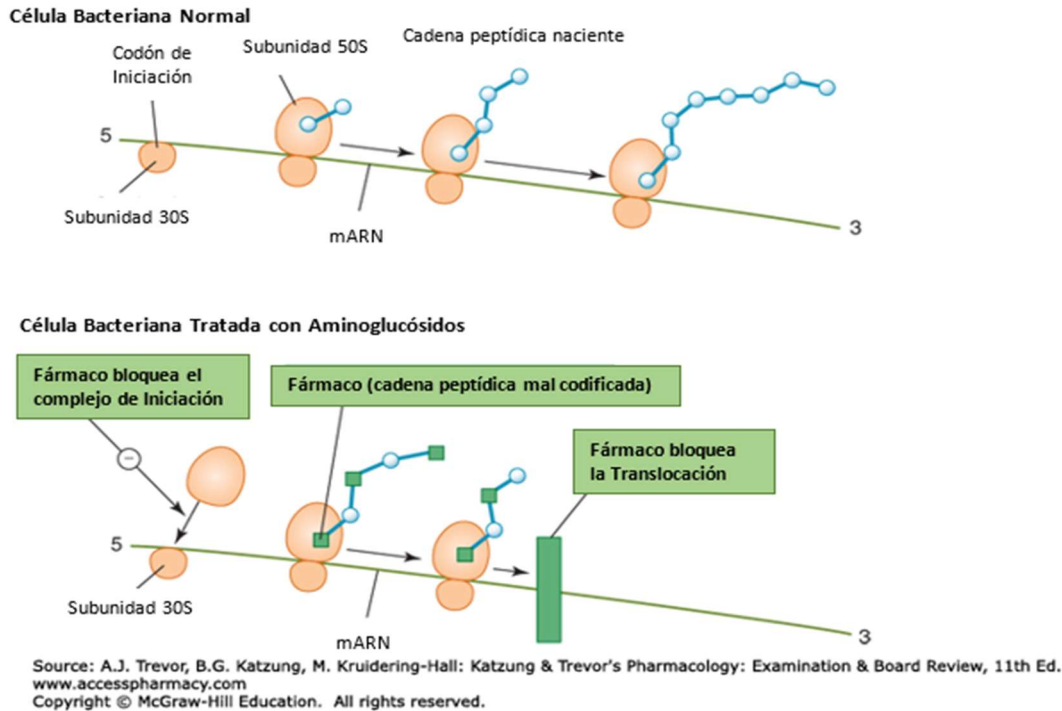


Figura 2: Mecanismo de acción de los aminoglucósidos. Fuente: Trevor y colaboradores, 2015.

Como se mencionó anteriormente, los aminoglucósidos dentro de la célula se unen a la subunidad ribosomal 30S e interfieren con la síntesis de proteínas al bloquear la formación del complejo de iniciación 30S-50S en el codón de inicio (AUG). Esto lleva a la acumulación de complejos de inicio anormales llamados monosomas que, al acumularse, bloquean la traducción adicional del ARNm (Katzung, 2018).

También se provoca la lectura incorrecta del código del ARNm lo que lleva a la terminación prematura de la traducción con el desprendimiento del complejo ribosomal y la proteína, o la síntesis de proteínas de forma incompleta, por la incorporación de aminoácidos incorrectos, lo que resulta en la producción de

proteínas anormales o no funcionales. Además, pueden interferir al inhibir la translocación de proteínas. Las proteínas aberrantes resultantes pueden insertarse en la membrana celular, conduciendo a una permeabilidad alterada y a un mayor transporte de aminoglucósidos hacia las células (MacDougall, 2018).

Indicaciones de Uso en Medicina Veterinaria

Debido a que la neomicina es más nefrotóxica y menos eficaz que otros aminoglucósidos, su uso generalmente es: la aplicación tópica, formulaciones para los ojos y oídos, tratamiento oral de infecciones entéricas, reducción del número de microorganismos en el colon antes de una cirugía de colon, y administración oral o de enema para reducir las bacterias productoras de amoníaco en el tratamiento de la encefalopatía hepática (Plumb, 2018).

Al no absorberse sistémicamente, luego de su administración produce un efecto local a nivel gastrointestinal. La neomicina se utiliza muchas veces en combinación con otros antibióticos para el tratamiento tópico de infecciones. También se utiliza vía oral para el tratamiento de infecciones como la colibacilosis (Papich, 2016).

Espectro de Acción

La neomicina tiene un mecanismo de acción y un espectro de actividad (principalmente contra aerobios gram negativos) similar a los otros aminoglucósidos, pero en comparación con la gentamicina o la amikacina, es significativamente menos eficaz contra varias cepas de *Klebsiella* sp, *Escherichia coli* y *Pseudomonas* sp. La mayoría de las cepas de bacterias de estas especies resistentes a la neomicina siguen siendo susceptibles a la amikacina (Plumb, 2018).

3.2.3. Sulfonamidas

Anteriormente se había mencionado que la suspensión de antibióticos de interés contiene tres antibióticos de la familia de las sulfonamidas, que son sulfaguanidina, sulfadiazina y sulfamerazina. Con respecto a estos compuestos la sulfadiazina es la que cuenta con mayor documentación de su uso clínico tanto en humanos como en animales (Plumb, 2018; Papich, 2016).

Información Química

Las sulfonamidas son derivados de la sulfanilamida, aunque son anfóteras, generalmente se comportan como ácidos orgánicos débiles y son mucho más solubles en soluciones acuosas alcalinas que en soluciones ácidas. Algunos derivados de la sulfonamida, como la sulfaguanidina, son tan insolubles que no se absorben en el tracto gastrointestinal. En general las sulfonamidas presentan valores de pKa entre 4,8 y 8,6 (Boothe, 2018).

Se ha utilizado clínicamente la mezcla de sulfonamidas, como el grupo sulfapirimidina (sulfametazina, sulfamerazina y sulfadiazina). En este caso, cada sulfonamida en una mezcla de sulfonamidas exhibe su propia solubilidad en solución (ley de solubilidad independiente); las sulfonamidas no afectan significativamente la solubilidad de las otras, pero el efecto antimicrobiano es aditivo; por lo tanto, el uso de "triple sulfas" (tres sulfonamidas formuladas en solución juntas) permite aumentar la eficacia sin un aumento significativo del riesgo de efectos adversos. Se obtiene un efecto antimicrobiano aditivo a una dosis total sin el potencial de generar cristaluria (Riviere y Papich, 2017; Craigmill et al., 2018).

La sulfaguanidina es una molécula de estructura $C_7H_{10}N_4O_2S$ es un polvo blanco o casi blanco fino y cristalino. Este compuesto puede encontrarse comercialmente en su forma monohidratada. Es muy poco soluble en agua, un gramo logra disolverse en un litro de agua a 25°C (O'Neil, 2013). Es poco soluble en alcohol, presenta mayor solubilidad en acetona y logra disolverse en soluciones diluidas de ácidos minerales. Además, es insoluble en soluciones de NaOH a

temperatura ambiente. Este compuesto debe protegerse de la luz solar (Sweetman, 2009).

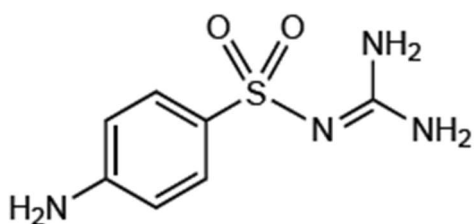


Figura 3: Estructura de la sulfaguanidina. Tomado de O'neil, 2013.

La sulfadiazina es un polvo cristalino o cristales inodoros o casi inodoros, de color blanco a ligeramente amarillo. La fórmula molecular corresponde a $C_{10}H_{10}N_4O_2S$. Es prácticamente insoluble en agua (1 en 13 000) y poco soluble en alcohol y acetona. La sulfadiazina se disuelve en soluciones de hidróxidos alcalinos como potasio, sodio y amonio; o de ácidos minerales diluidos. Esta sustancia es sensible a luz y debe ser almacenada en envases adecuados ya que puede adquirir una coloración oscura. Usualmente se utiliza la sulfadiazina en combinación con el trimetoprim. (Plumb, 2018; Sweetman, 2009).

El punto de fusión de la sulfadiazina es entre 252 y 256°C (O'Neil, 2013). Esta sustancia es anfotérica. Puede sufrir hidrólisis generando diversos productos como sulfanilamida y ácido sulfanílico (Klaus, 1982).

La sal sódica es un polvo blanco, soluble 1 en 2 en agua formando soluciones alcalinas, y ligeramente soluble en alcohol, al exponerse a la humedad adsorbe dióxido de carbono liberando sulfadiazina y pierde su solubilidad en agua. Este compuesto debe ser almacenado en contenedores cerrados a una temperatura de 25°C protegido de la luz. Las soluciones de esta sal son alcalinas, incompatibles con fármacos de carácter ácido y formulaciones inestables a pH alto (Sweetman, 2009).

Con respecto a la estabilidad de la sal sódica, luego de 10 días de exponerse a 50°C y condiciones de humedad relativa del 100%, el polvo blanco sufre degradación y se torna en una masa pastosa y amarillenta, a medida que aumenta el

tiempo de exposición la masa se torna cada vez más líquida (30 días). Esta degradación produce sulfadiazina por absorción de dióxido de carbono (WHO, 1986).

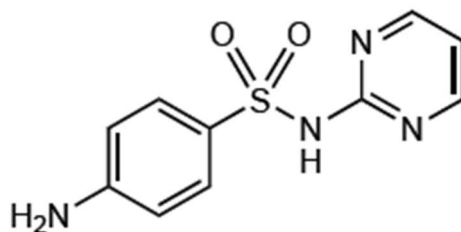


Figura 4: Estructura de la sulfadiazina. Tomado de O'neil, 2013.

La sulfamerazina tiene una fórmula molecular correspondiente a C₁₁H₁₂N₄O₂S y es un polvo blanco cristalino o cristales, ligeramente amarillento o rosado. Es muy poco soluble en agua y diclorometano, poco soluble en alcohol y acetona. El compuesto logra disolverse en soluciones de hidróxidos alcalinos o ácidos minerales diluidos. Al igual que las sulfas anteriores debe de protegerse de la luz, porque adquiere una coloración oscura. Esta sulfonamida también se encuentra en forma de sal sódica (Sweetman, 2009). La sal monosódica consiste en cristales con sabor amargo y cáustico, es higroscópica. Al exponerse a la humedad sufre degradación a sulfamerazina. Las soluciones acuosas, un gramo se disuelve en 3,6 ml, tienen carácter alcalino (O'Neil, 2013).

El punto de fusión de la sulfamerazina es entre 234 y 238°C lo que resulta en su descomposición (O'Neil, 2013; Bazzini & Wermuth, 2015).

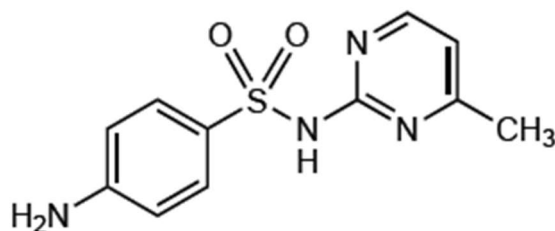


Figura 5: Estructura de la sulfamerazina. Tomado de O'neil, 2013.

Las sulfonamidas pueden ser clasificadas por estructuras en sulfonamido-pirimidinas y sulfonamido-piridazinas. Estos dos grupos tienen estructuras y

constituyentes similares y su diferencia más significativa es la posición de los átomos de nitrógeno en el anillo heterocíclico. En una investigación de Sainz-Díaz y colaboradores (2018) se estudiaron las diferentes conformaciones de moléculas representativas de estos grupos. Las principales interacciones intermoleculares para el empaquetamiento de cristales encontradas para estas sulfonamidas son fuertes puentes de hidrógeno donde los átomos de oxígeno sulfóxido y los átomos heterocíclicos de nitrógeno son los aceptadores principales y los grupos amino son los principales donadores.

Las interacciones π - π también son importantes entre los anillos aromáticos junto con interacciones electrostáticas adicionales entre algunos grupos funcionales. Todas estas interacciones intermoleculares son responsables del empaquetamiento de cristales en los polimorfos en las sulfonamidas. Las conformaciones y los empaquetamientos dentro de las estructuras cristalinas reportadas fueron muy similares entre las dos moléculas representativas (Sainz-Díaz et al., 2018).

Los reportes anteriores de polimorfismo con respecto a sulfonamidas específicas no registraban formas polimórficas para la sulfadiazina ni la sulfamerazina. En un análisis realizado en 16 compuestos del grupo, se reportan 4 formas cristalinas para la sulfaguanidina y un solvato monohidratado (Yang y Guillory, 1972).

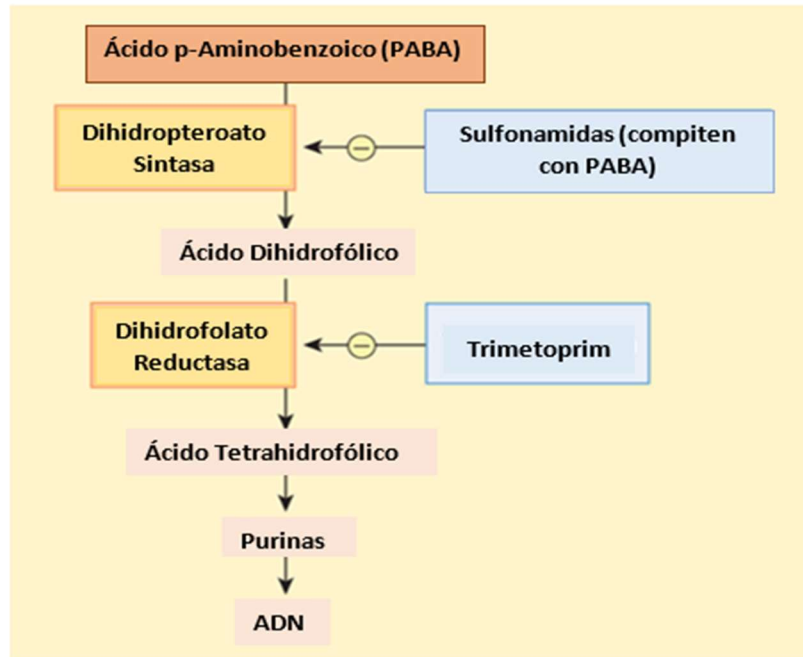
Luego de la identificación en 1992 de dos formas polimórficas de la sulfamerazina fue posible la preparación en cantidades suficientes de la forma II para permitir su comparación y análisis respecto a la forma I. Los polimorfos son enantiómeros y presentan una temperatura de transición entre 51 y 54 °C, aunque este proceso tiene una cinética lenta. La forma I es estable a temperaturas más altas, mientras que el polimorfo II es estable a temperaturas más bajas. Los puntos de fusión del polimorfo I y II son 237°C y 212-214°C respectivamente (Park et al., 2015 & Zhang et al., 2002). Con respecto a la sulfadiazina se cree que presenta una forma cristalina identificada hasta el momento (Caron et al., 2013). En investigaciones realizadas se ha reportado que la sulfadiazina forma solvatos con facilidad con

solventes que tienen una fuerte capacidad de aceptores de puentes de hidrógeno (Zhang et al., 2018).

Mecanismo de Acción

Estructuralmente las sulfonamidas tienen un núcleo químico común que se parece al ácido p-aminobenzoico (PABA). La actividad antibacteriana de las sulfonamidas depende un grupo amino libre en la posición 4 y un grupo sulfonamida en la posición 1. Los anillos heterocíclicos o aromáticos que sustituyen a la sulfonamida mejoran esta actividad al modificar la absorción y la tolerancia gastrointestinal (van Bambeke et al., 2017). Las sulfonamidas pueden clasificarse de acción corta (sulfisoxazol), de acción intermedia (sulfametoxazol) y de acción prolongada (sulfadoxina). Las sulfonamidas son inhibidores bacteriostáticos de la síntesis de ácido fólico. Como antimetabolitos de PABA, son inhibidores competitivos de la dihidropteroato sintasa. También pueden actuar como sustratos para esta enzima, provocando la síntesis de formas no funcionales de ácido fólico (Katzung, 2018).

El mecanismo de acción resulta en el bloqueo de varias enzimas necesarias para la biogénesis de las bases de purina y otras reacciones metabólicas necesarias para la formación de ácidos nucleicos como puede observarse en la Figura 6. Su eficacia antibacteriana depende del tiempo de exposición. La acción sinérgica con diaminopirimidinas hace que estos medicamentos sean mucho más efectivos que usados individualmente. El espectro de todas las sulfonamidas es generalmente el mismo, inhiben bacterias gran positivas y gran negativas, *Nocardia*, *Actinomyces* spp y algunos protozoarios como coccidios y *Toxoplasma* spp (Boothe, 2018b).



Source: Bertram G. Katzung, Marieke Kruidering-Hall, Anthony J. Trevor
 Katzung & Trevor's Pharmacology: Examination & Board Review, Twelfth Edition
 Copyright © McGraw-Hill Education. All rights reserved

Figura 6: Mecanismo de acción de las sulfonamidas. Tomado de Katzung y colaboradores, 2019.

Indicaciones de Uso en Medicina Veterinaria

La sulfadiazina se utiliza como tratamiento único ocasionalmente, aunque su eficacia no está establecida para muchas infecciones. La mayoría de las veces se usa junto a trimetoprim para tratar infecciones de las vías urinarias e infecciones de la piel. También puede utilizarse con pirimetamina para el tratamiento de infecciones protozoarias (Papich, 2016). Las sulfonamidas en general son agentes bacteriostáticos mientras que la trimetoprim es bactericida, pero cuando se usan en combinación, las sulfonamidas potenciadas son bactericidas (Plumb, 2018).

Las sulfonamidas generalmente se combinan con trimetoprim (TMP) o con ormetoprim en una proporción de 5:1 (sulfa:TMP), rara vez se usan solas en animales pequeños o caballos. No hay evidencia clínica de que una sulfonamida sea más o menos tóxica o eficaz que cualquier otra sulfonamida (Papich, 2016).

Espectro de Acción

Las sulfas potenciadas tienen un espectro de actividad bastante amplio. Las bacterias grampositivas son generalmente susceptibles incluyendo la mayoría de los estreptococos, muchas cepas de estafilococos y *Nocardia*. Muchos organismos gramnegativos de la familia Enterobacteriaceae son susceptibles a las sulfas potenciadas, pero no a *Pseudomonas aeruginosa*. Algunos protozoos (*Pneumocystis carinii*, *Coccidia* y *Toxoplasma*) también son inhibidos por la combinación. Las sulfas potenciadas tienen poca actividad contra la mayoría de los anaerobios. La resistencia se desarrolla más lentamente con la combinación de fármacos que con cualquiera de los antibióticos utilizados por separado (Plumb, 2018).

3.2.4. Caolín y Pectina

La suspensión de antibióticos de interés en esta investigación contiene además caolín y pectina, los cuales han sido utilizados como protectores gástricos, al igual que compuestos de bismuto, el carbón activado y sales de bario. Estos agentes se utilizan por su acción local dentro de la luz intestinal en la adsorción de bacterias y toxinas, además de proporcionar una capa protectora en las superficies inflamadas de la mucosa (Marks, 2013).

Información Química

El término caolín es el nombre que se le da a un grupo de minerales arcillosos, pero también se usa para describir rocas arcillosas muy ricas en caolinita o haloisita. Es producido por la meteorización química de minerales de silicato de aluminio como feldespato en roca ígnea y metamórfica bajo la influencia de dióxido de carbono (Haldar y Tišljár, 2014).

El caolín es un silicato de aluminio hidratado natural cuya fórmula estructural teórica corresponde a $Al_2Si_2O_5(OH)_4$ que se pulveriza y refina para uso farmacéutico. Es un polvo blanco, inodoro, casi insípido, untuoso, prácticamente insoluble en agua, en ácidos o hidróxidos alcalinos. El caolín se usa frecuentemente como agente de

suspensión y anti aglomerante en formulaciones farmacéuticas orales y tópicas (Awad et al., 2017).

Es un material cristalino con una forma tricíclica que se encuentra en placas microscópicas pseudohexagonales, que se rompen con bastante facilidad. Su estructura se puede considerar como una capa de $\text{Al}(\text{OH})_3$, unida a una capa de siloxano Si_2O_5 . La estructura puede tener sustitución isomorfa de los iones Si y Al por metales de transición o hierro. Esto conduce a cargas eléctricas en las placas y sitios ácidos en la superficie de las partículas de caolinita (Rothon, 2017).

La caolinita reacciona solo con ácidos y bases muy fuertes, no se ve afectada por los disolventes orgánicos y sufre reacciones de intercambio iónico; pero se considera un mineral inerte. Sufre una serie de reacciones complejas cuando se calienta. Los productos comerciales se venden como caolín o arcilla china y el principal mineral presente suele ser la caolinita, la concentración e impurezas pueden variar (Rothon, 2017).

El caolín natural puede estar contaminado con gran cantidad de microorganismos por lo que requiere esterilización (Sweetman, 2009). El caolín debe almacenarse en envases bien cerrados (USP 41, 2018).

La pectina es un polímero de carbohidratos que consiste principalmente en ácidos poligalacturónicos parcialmente metoxilados como parte de la pared celular de tejidos vegetales. Ocurre naturalmente como el éster metílico parcial de las secuencias D-poligalacturonato unidas en α - (1 \rightarrow 4) interrumpidas con residuos de (1 \rightarrow 2) -L-ramnosa (O'Neil et al., 2013).

Además, es un polvo fino, blanco o amarillento, casi inodoro, con un sabor mucilaginoso. Se obtiene de la extracción con ácido diluido de la cáscara interna de los cítricos o de la pulpa de manzana. Una de las fuentes masa abundantes es la cáscara de limón o naranja que contiene cerca de un 30% de este polisacárido. Un gramo de pectina es soluble en 20 ml de agua y forma una solución coloidal viscosa, opalescente y de fácil flujo (Plumb, 2018).

La pectina está compuesta de partículas cargadas negativamente e hidratadas con carácter ácido. Puede formar azúcares neutros cuando azúcares como D-galactosa, L-arabinosa, D-xilosa y L-fucosa forman cadenas laterales en la molécula de pectina. Es insoluble en alcohol y en otros solventes orgánicos. Las soluciones son estables bajo condiciones levemente ácidas, la exposición a ácidos o bases fuertes puede provocar despolimerización (O'Neil et al., 2013).

Las diversas propiedades estructurales y macromoleculares de las pectinas, como la metoxilación de galacturonano, el contenido de ácido galacturónico, la composición de los azúcares neutros y el peso molecular, dependen de la fuente de pectina (Dranca & Oroian, 2018). La pectina se utiliza como agente emulsificante y estabilizante, es un agente adsorbente y formador de volumen. Estas características pueden afectar el tiempo de tránsito intestinal y afectar la absorción de otros fármacos (Sweetman, 2009). La pectina debe conservarse en envases impermeables (USP 41, 2018).

Mecanismo de Acción

Se cree que la combinación de caolín y pectina actúa como demulcente y adsorbente en el tratamiento de la diarrea. Esta acción puede estar relacionada con la unión a toxinas bacterianas en el tracto gastrointestinal. Sin embargo, los estudios clínicos no han demostrado ningún beneficio de su administración. Las investigaciones realizadas concluyen que estos agentes pueden cambiar la consistencia de las heces, pero no son efectivos al disminuir la pérdida de líquidos o electrolitos, ni reduce la sintomatología (Dowling, 2018).

En relación con el caolín se cree que tiene un potencial de inhibición bacteriana. El mecanismo puede estar relacionada con la transferencia de elementos como hierro, cobre, plomo, fósforo o vanadio que son tóxicos para las células bacterianas, además de cambios en el pH y en el estado de oxidación. La caolinita tiene la capacidad de generar cationes divalentes que se pueden transferir fácilmente desde la superficie de la arcilla a la membrana celular bacteriana (Awad et al., 2017).

Al llegar allí son oxidados y se da la precipitación de óxidos de Fe^{3+} y Cu^{3+} , estos a su vez generan radicales de hidroxilo letales que se adhieren y dañan biomoléculas presentes en las células bacterianas. Por su parte el catión Al^{3+} y otros cationes tri- o tetravalentes podrían precipitar en la pared celular bacteriana, inhibiendo la entrada de nutrientes o el flujo de residuos, provocando daño irreversible en los microorganismos (Awad et al., 2017).

Indicaciones de Uso en Medicina Veterinaria

La combinación caolín-pectina se usa principalmente en medicina veterinaria como agente antidiarreico oral. También se ha utilizado como agente adsorbente en casos de intoxicación (Plumb, 2018). El uso como adyuvantes se recomienda en casos de diarrea leve (Cooper, 2011).

Espectro de Acción

La combinación caolín-pectina es un agente inespecífico a nivel antibacteriano. Con respecto al potencial de adsorción de toxinas bacterianas, las investigaciones realizadas con enterotoxinas de *E. coli* han demostrado que estos agentes son inefectivos (Papich, 2016).

3.3. Suspensiones

Los componentes principales del producto a reformular se analizaron en las secciones anteriores. Con respecto a los antibióticos utilizados la neomicina es soluble en agua, pero no así las sulfonamidas, que son compuestos con poca solubilidad en agua (Boothe, 2018b).

Los excipientes como caolín y pectina también afectan las características de la forma farmacéutica. El primero es insoluble en agua, mientras que la pectina confiere viscosidad al vehículo al encontrarse disuelta. Todos estos aspectos deben ser tomados en cuenta para analizar el delicado equilibrio que se debe obtener para entender los problemas de estabilidad del producto y con esta información mejorar las características fisicoquímicas de la suspensión.

A continuación, se describirán las generalidades de las suspensiones y los diferentes factores que influyen en su formulación y estabilidad, además de los conceptos fisicoquímicos aplicados al estudio de estas formas farmacéuticas.

3.3.1. Generalidades

Las suspensiones son sistemas en donde las partículas, generalmente de un sólido prácticamente insoluble y finamente dividido, están dispersas en un medio, el cual generalmente es un líquido. Las suspensiones orales generalmente tienen una alta viscosidad y grandes cantidades de un sólido dispersado. Por otra parte, una suspensión parenteral generalmente tiene una viscosidad baja y contiene menos de 5% de partículas sólidas (Kulshreshtha et al., 2010).

Uno de los aspectos más importantes con respecto a las suspensiones es el tamaño de partícula del fármaco, en formulaciones farmacéuticas el diámetro puede rondar entre 1 y 50 μm (Crowley, 2005). Las suspensiones pueden dividirse en dos categorías principales según el tamaño de partícula: coloidales, con rango del diámetro de partícula aproximado de 0,1 a 1000 nm (1 μm), y gruesas, que tienen partículas más grandes (1 a 200 μm). Esto es de relevancia debido que la distribución de tamaño afecta las interacciones del sistema y las fuerzas que rigen estas interacciones (Moblely, 2013).

Las razones para formular un producto farmacéutico en forma de una suspensión pueden incluir la poca solubilidad del fármaco en el vehículo, enmascarar algún sabor amargo, aumentar la estabilidad del fármaco al evitar su degradación por hidrólisis, oxidación o por actividad microbiológica, o promover una liberación controlada o sostenida de los compuestos activos del medicamento (Nash, 2013).

La formulación de suspensiones está sometida a varios aspectos, como los relacionados a las partículas sólidas insolubles, la aptitud del medio dispersante para mantener estas partículas en suspensión y la facilidad con la que se puede revertir el estado suspendido cuando es alterado (Kulshreshtha et al., 2010).

3.3.2. Conceptos Físico Químicos Relevantes

Propiedades Interfaciales y Superficiales.

Las propiedades interfaciales y superficiales corresponden al estudio de las propiedades termodinámicas entre fases idealmente bien establecidas. El plano que marca idealmente el límite entre dos fases se denomina interfase, el plano que marca el límite entre la fase y el entorno a menudo se denomina superficie de la fase. Los fenómenos interfaciales estudiados incluyen temas como la adsorción, las energías interfaciales, la tensión interfacial, la carga superficial, y las relaciones entre ellas (Láng, 2015).

La energía libre de superficie es un fenómeno físico causado por las interacciones intermoleculares en una interfase, como las fuerzas de dispersión de Londres, la fuerza inductiva de Debye, las fuerzas de orientación de Keesom, los enlaces de hidrógeno y las interacciones ácido-base de Lewis. (Park & Seo, 2011).

Entre mayor es la energía superficial menos termodinámicamente estable es la suspensión resultante. Por lo tanto, entre más pequeñas son las partículas, más inestable será el sistema y este tiende a formar conglomerados para lograr mayor estabilidad. En el caso de la formación de suspensiones, el uso de agentes humectantes puede reducir la energía superficial. Estos compuestos logran esta reducción al adsorberse en la interfase. La ecuación que explica este fenómeno es:

$$\Delta G = \gamma \Delta A \quad (1)$$

Donde ΔG es el cambio en la energía libre de superficie, ΔA es el cambio en el área superficial, γ representa la tensión interfacial entre las partículas del sólido y el medio dispersante (Kulshreshtha et al., 2010; Tadros, 2014).

Doble Capa Eléctrica

La doble capa eléctrica es la capa que rodea una partícula de la fase dispersa, incluyendo los iones adsorbidos en la superficie de la partícula y una película o capa del medio de dispersión de carga contraria. La doble capa eléctrica es eléctricamente

neutra y está compuesta de 3 partes: una superficie cargada, una capa profunda o capa de Stern de contraiones y una capa difusa con iones libres del disolvente (Park y Seo, 2011). Esto puede observarse en la Figura 7.

Cuando las partículas dispersas están en contacto con una solución acuosa que contiene electrolitos, las partículas pueden adsorber selectivamente una carga conferida por estos iones. Los iones que dan a la partícula su carga, se denominan iones o co-iones determinantes del potencial. Las especies iónicas que quedan en la solución, que en su mayoría serían de una carga opuesta a la de los iones determinantes del potencial se conocen como contraiones. Estos se ven atraídos a la superficie cargada por fuerzas eléctricas opuestas y evitan la unión de cualquier carga adicional a la superficie de la partícula, una vez que se completa la adsorción inicial. Estas fuerzas eléctricas mantienen una distribución equitativa de todos los iones en solución (Dukhin & Goetz, 2017).

La parte del medio dispersante que rodea inmediatamente a las partículas estará formada por los contraiones. Esta parte del medio, junto con estos contraiones, que está estrechamente unida a la superficie de la partícula, se conoce como la capa de Stern (Tadros, 2013).

Alrededor de la capa de Stern se encuentra la capa difusa que contiene más contraiones que co-iones. La neutralidad eléctrica se obtiene dónde termina la capa difusa móvil. Más allá de la capa difusa, las concentraciones de co-iones y contraiones son iguales y las condiciones de neutralidad eléctrica prevalecen en la parte restante del medio de dispersión (Tadros, 2013). El grosor de la doble capa depende del tipo y concentración de iones en solución (Aulton, 2004).

Dos conceptos que están relacionados con la doble capa eléctrica es el potencial de Nernst y el potencial Zeta. El potencial de Nernst es la diferencia del potencial eléctrico entre un punto de la superficie de una partícula y la región electroneutral. También se llama potencial de superficie o electro-termodinámico (Kulshreshtha et al., 2010).

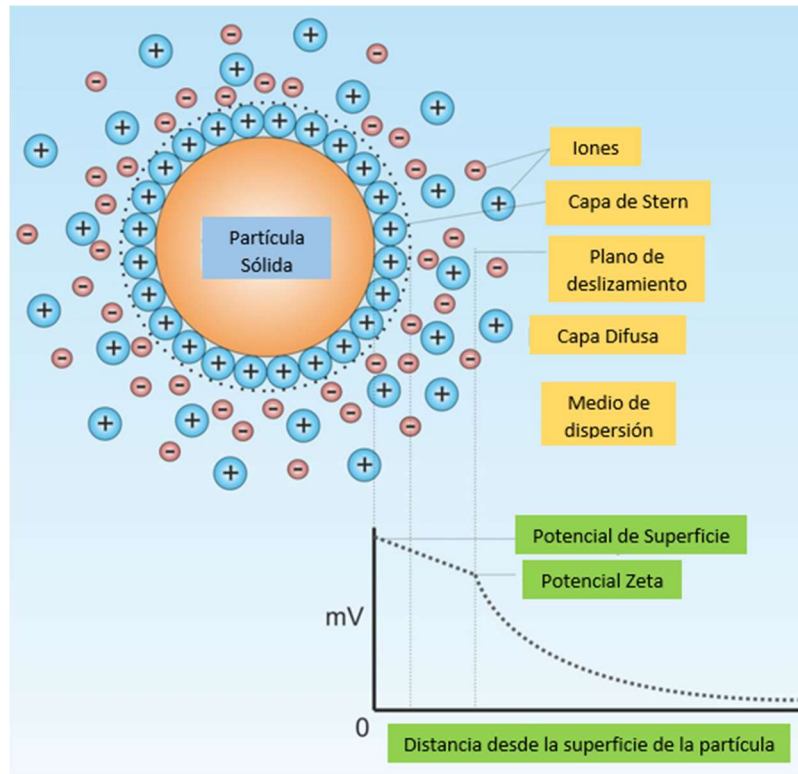


Figura 7 Representación de la doble capa eléctrica. Tomado de Vaziri Hassas, 2013.

Por su parte el potencial Zeta (ξ) se refiere a la diferencia de potencial entre el plano de desplazamiento que corresponde a los límites de la capa de Stern y la región electro-neutral. También se le llama potencial electrocinético y tiene gran efecto en la formulación de suspensiones estables. El potencial Zeta explica la repulsión entre partículas sólidas dispersas adyacentes de una misma carga. Si se logra reducir el potencial Zeta hasta cierto valor, las fuerzas atractivas de Van der Waals superan a las fuerzas de repulsión y las partículas pueden juntarse y formar flóculos. La magnitud del potencial depende de la carga y del grosor de la doble capa eléctrica (Giupponi y Pagonabarraga, 2011).

Teoría DLVO

La teoría DLVO explica el resultado de la interacción de partículas como coloides liófilos (coloides con poca atracción entre la fase dispersa y el medio dispersante). Sin embargo, también se puede aplicar a los sistemas de suspensión

grosera (Dukhin y Goetz, 2017). La colisión de partículas en una suspensión puede ocurrir debido al movimiento browniano o a las tasas de sedimentación diferencial. El resultado de esta colisión depende de las fuerzas atractivas o repulsivas entre las partículas (Kulshreshtha et al., 2010). La teoría de DLVO se expresa con la siguiente ecuación:

$$V_T = V_R + V_A \quad (2)$$

Donde V_T es la energía potencial de interacción entre partículas, V_R se refiere a la repulsión debido a la doble capa eléctrica y V_A se refiere a la atracción producto de las fuerzas de Van der Waals. V_R depende de otros factores como el radio de las partículas, la distancia entre ellas y la constante dieléctrica del medio, mientras que V_A se ve afectado por el radio y la distancia interparticular. Esta teoría también puede ser explicada de manera gráfica (Figura 8), donde la h representa la distancia entre partículas (Kulshreshtha et al., 2010).

En esta misma figura se pueden observar diferentes situaciones respecto a la colisión de partículas. Cuando el valor de V_R es mucho mayor que V_A como se muestra en la curva A ($V_R \gg V_A$), la dispersión será altamente estable debido a la alta fuerza de repulsión neta. Esta dispersión será resistente a la agregación (floculación o coagulación) siempre que las partículas no sedimenten por efecto de la gravedad (Kulshreshtha et al., 2010).

En ciertos casos, para aglomerarse, dos partículas en curso de colisión deben tener suficiente energía para superar el valor máximo (V_M) de repulsión. A medida que las partículas superan la repulsión, se aglomeran debido a la fuerza de atracción y se mantiene en este estado debido a la fuerza de van der Waals-London. Si V_M excede en gran medida la energía térmica media de las partículas, estas partículas no entrarán en P, el mínimo de energía primaria. El punto P del gráfico representa una distancia interparticular muy pequeña. El valor mínimo de V_M que puede crear esta situación corresponde a un potencial zeta mayor a 50 mV. La gran magnitud de energía en este punto hace que las partículas se unan fuertemente entre sí, por lo

que es posible que en este punto se dé la compactación del sedimento en un "cake" duro, que será muy difícil de redispersar (Kulshreshtha et al., 2010).

El punto S representa un mínimo secundario de la curva B donde se pueden crear agregados sueltos que generalmente se pueden resuspender o romper fácilmente por agitación o dilución. La floculación se produce en el mínimo de energía secundaria (el punto S) y la coagulación se produce en el mínimo de energía primaria o punto P. Cuando las fuerzas atractivas predominan sobre las fuerzas de repulsión ($V_A \gg V_R$) todo el tiempo se producirá una rápida agregación (curva C) (Kulshreshtha et al., 2010). La agregación o el aumento de tamaño de las partículas sólidas se da mediante dos procesos: la coagulación, que consiste en la reducción de la repulsión electrostática entre partículas y la floculación mediante la unión de partículas por medio de agentes poliméricos (Concha A, 2014).

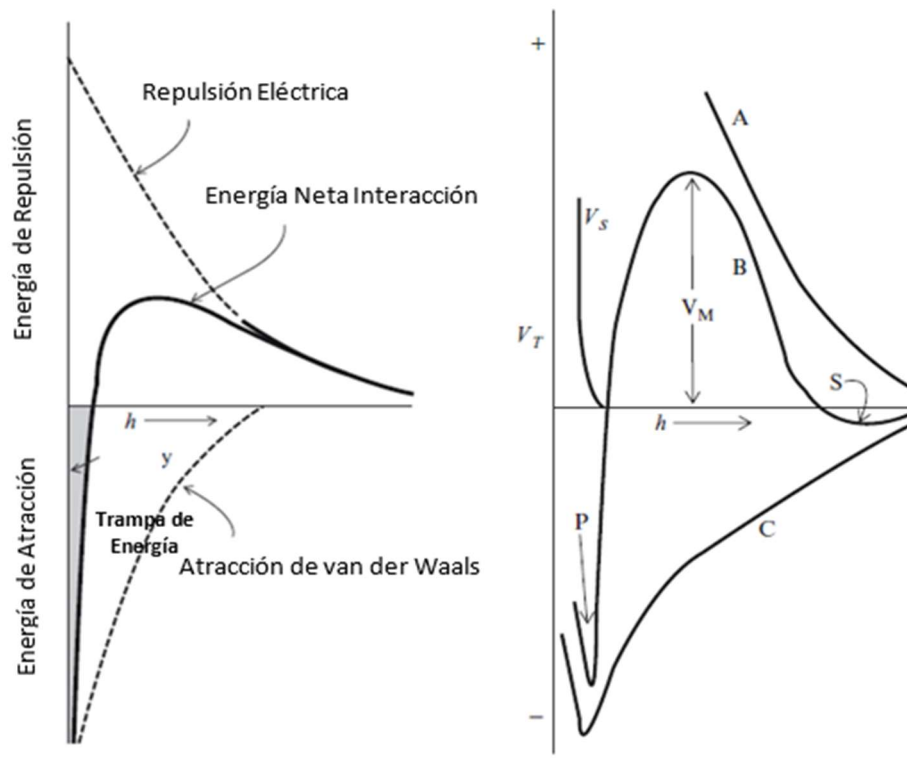


Figura 8: Representación de la Teoría DLVO Tomado de Kulshreshtha, 2010.

La estabilidad de una suspensión se ve afectada por estabilización eléctrica y estabilización estérica. Las sustancias como los tensioactivos no iónicos, cuando se adsorben en la superficie de la partícula, pueden estabilizar estéricamente una suspensión, incluso cuando no hay un potencial zeta significativo. El término V_S se refiere a esta estabilización estérica. Al agregar el término V_S a la ecuación DVLO resulta en:

$$V_r = V_R + V_A + V_S \quad (3)$$

3.3.3. Formulación de una Suspensión

Humectación

El término humectación se refiere al desplazamiento de aire en una superficie sólida. Los ángulos de contacto de equilibrio entre líquidos y sustratos sólidos están determinados por la interacción entre estas dos fases. La baja adhesión entre la fase líquida y la superficie de los sólidos genera un ángulo de contacto muy grande. En una suspensión se requiere la humectación de las partículas sólidas con el fin de que estas tengan la habilidad de dispersarse adecuadamente en el medio líquido (Starov, 2013).

El uso de agentes tensioactivos puede disminuir la tensión interfacial y generar una buena humectación. Las moléculas de estos agentes son anfifílicas o anfipáticas, ya que su estructura tiene una cabeza hidrófila (iónica o no iónica) con una afinidad por el agua y una cola hidrófoba (un grupo hidrocarburo) que es repelida por la fase acuosa. La cadena de hidrocarburos de los agentes tensioactivos se adsorbe sobre la superficie hidrofóbica de las partículas y el extremo polar permanece en contacto con el medio líquido (Kulshreshtha et al., 2010).

Los tensioactivos con valores de HLB (equilibrio hidrófilo lipófilo por sus siglas en inglés) entre 7 y 9 pueden ser utilizados como agentes humectantes en concentraciones usuales menores a 0,1%. Algunos ejemplos son los polisorbatos y ésteres de sorbitano. Sin embargo, un exceso de tensioactivo puede producir espuma o la formación de sistemas defloculados (Aulton & Taylor, 2017).

Algunos polímeros hidrofílicos también pueden usarse como agentes humectantes, como es el caso de la goma acacia, la goma tragacanto, la goma Xantán, bentonita, silicato de aluminio y magnesio, sílice coloidal y algunos derivados celulósicos. Estos polímeros actúan formando una capa hidrofílica en la superficie de los sólidos, mejorando la humectación, pero si son utilizados en cantidades muy altas se puede provocar la gelificación de la suspensión (Tadros, 2013).

La humectación también puede mejorarse con el uso de disolventes higroscópicos como alcohol, glicerina o propilenglicol, que son llamados agentes de levigación. Estos actúan disminuyendo la tensión líquido-aire, facilitando la penetración del disolvente entre las partículas del sólido y el desplazamiento del aire contenido en su superficie (Tadros, 2013).

Sistemas floculados y defloculados

La floculación de un sistema puede caracterizarse por la sedimentación observada. El volumen de sedimentación F , es la relación entre el volumen de equilibrio del sedimento, V_u y el volumen total de la suspensión, V_o como se puede observar en la siguiente ecuación:

$$F = \frac{V_u}{V_o} \quad (4)$$

El valor de F varía de 0 a 1. En el caso de una suspensión defloculada, F tiene un valor relativamente pequeño, alrededor de 0,2. La suspensión con valores de F de 1 representa el sistema ideal, en equilibrio de floculación (Kulshreshtha et al., 2010).

El equilibrio se obtiene cuando la suspensión está floculada, pero no hay sedimentación o formación de "cake". Este sistema también es estéticamente elegante ya que no presenta un sobrenadante visible. Los sistemas con valores de F mayores a 1, tienen un volumen final del sedimento mayor que el volumen original de la suspensión. Las partículas en la suspensión crean una red de flóculos tan sueltos que sobresalen del medio de dispersión, por lo que debe agregarse vehículo extra para cubrir el sedimento formado. El análisis del volumen de sedimentación aporta

una idea cualitativa sobre la sedimentación de una suspensión (Kulshreshtha et al., 2010).

Los sistemas floculados y defloculados se pueden diferenciar con respecto a las modificaciones que sufren al pasar el tiempo desde su fabricación. Un sistema defloculado casi no muestra cambios en la apariencia después de unos pocos minutos de fabricación. Después de varias horas, la suspensión aún sigue turbia, pero comienza a aparecer un sedimento compacto y pequeño. Después de un almacenamiento prolongado, se obtiene un sobrenadante claro junto con un sedimento compacto (Nash, 2013).

En un sistema floculado más bien, a pocos minutos de fabricación se evidencia un sobrenadante encima del sedimento. Después de varias horas, aumenta el volumen de sobrenadante, y en este punto, el tamaño del sedimento es mayor que el encontrado en el sistema defloculado. Después de un almacenamiento prolongado el volumen del sedimento mostrará pocos cambios (Nash, 2013).

La formación de una suspensión floculada consiste en la agregación menos rígida o suelta de las partículas, que se mantienen unidas mediante enlaces partícula-partícula relativamente débiles. Estos agregados son más grandes y pesados que las partículas individuales, por lo que se asientan más rápido que las partículas defloculadas. El sedimento se forma bastante rápido, se empaqueta de manera suelta y forma un volumen grande de sedimento que se resuspende fácilmente. La sedimentación produce un líquido sobrenadante que permanece claro, ya que las partículas quedan atrapadas dentro de la estructura y se asientan juntas (Bruschi, 2015; Gregory, 2013).

Con respecto a las características electrostáticas, un sistema defloculado tiene un potencial zeta mayor que el valor crítico en el momento en que las fuerzas repulsivas sobrepasan a las fuerzas atractivas. Cuando existe una fuerte atracción entre las partículas, es probable que las partículas en los agregados se adhieran al primer contacto, con pocas posibilidades de reorganización, formando flóculos sueltos. Por el contrario, cuando solo hay una atracción débil o una ligera repulsión

(como en las suspensiones defloculadas), pueden ser necesarias varias colisiones antes de que se produzca la unión de las partículas o agregados, lo que lleva a estructuras más compactas. Por esto las partículas de un sistema defloculado permanecen suspendidas por más tiempo, y solo una pequeña parte del sólido se sedimenta debido a la gravedad (Gregory, 2013).

Cuando finalmente se genera la sedimentación, las partículas más pequeñas se acoplan dentro de las más grandes y las partículas en el fondo del sedimento están presionadas por el peso de las partículas que están más arriba. Esto aumenta la cercanía de las partículas y la interacción por medio de las fuerzas de Van der Waals-London. Como resultado, se forma un sedimento compacto que es difícil o imposible de redispersar. Estas partículas pequeñas dan el aspecto turbio a las suspensiones defloculadas debido a los sólidos finos dispersos en el medio (Gregory, 2013).

La floculación puede ser provocada por agentes como tensioactivos no iónicos y polímeros. De igual forma agregar una pequeña cantidad de electrolito, el potencial zeta del sistema se reduce. Cuando se encuentra por debajo del valor crítico, las fuerzas atractivas son mayores que las fuerzas repulsivas, y se produce la formación de agregados (Nash, 2013).

Los sistemas defloculados por su lenta velocidad de sedimentación permiten una dosificación uniforme, en las suspensiones floculadas, por el contrario, las partículas se sedimentan rápidamente, lo que podría provocar una dosificación inexacta. La creación de una condición intermedia conocida como floculación controlada es posible y deseable, donde se obtienen las mejores características de ambos sistemas en una suspensión (Nash, 2013).

Floculación Controlada

Una suspensión parcialmente floculada, con suficiente viscosidad, tendrá propiedades de sedimentación deseables. La floculación controlada se puede lograr

mediante una combinación del control en el tamaño de partícula y el uso de agentes floculantes (Aulton & Taylor, 2017).

La formulación de un sistema de floculación controlada o estable se puede apreciar en la Figura 9 (Nash, 2013). El estado floculado representado en C, se puede alcanzar directamente humedeciendo y dispersando partículas hidrófobas (A) con un tensioactivo floculante adecuado, o indirectamente humedeciendo y dispersando para producir una partícula defloculada (B) con un tensioactivo adecuado y luego floculando con un agente adecuado tal como un coloide hidrófilo o un electrolito. La sobre-floculación severa, causada por la adición de un exceso de agente floculante o por una exposición prolongada a condiciones térmicas extremas tiende a producir sistemas irreversiblemente aglomerados o coagulados (E). En ausencia de un coloide protector, se genera el proceso de crecimiento de cristales como se indica mediante la flecha que conecta los estados A con D (Nash, 2013).

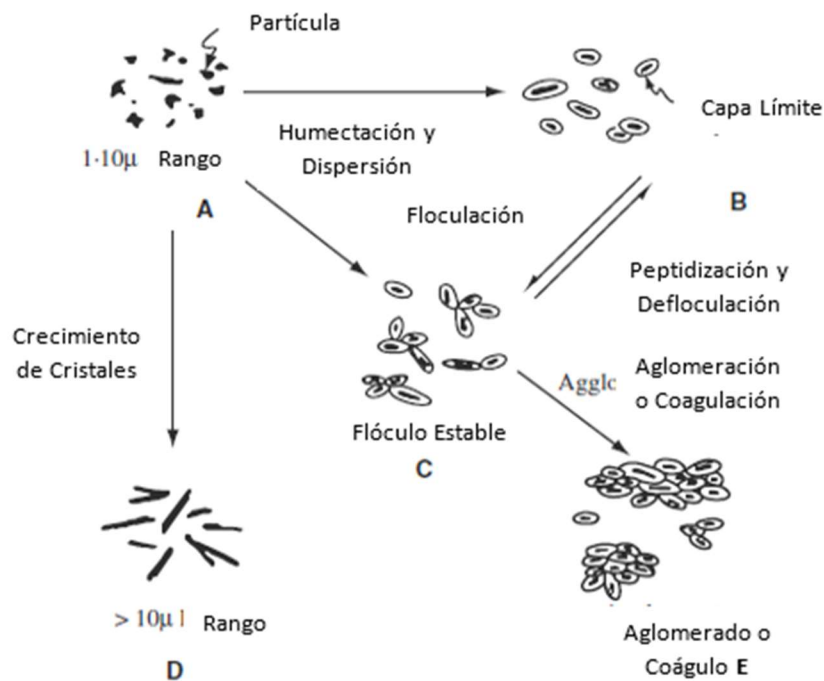


Figura 9: Fenómenos de floculación y defloculación en la formulación de una suspensión con floculación controlada. Tomado de Nash, 2013.

Con el fin de lograr una floculación controlada se utilizan una serie de agentes y estrategias de procesamiento que cumplen diferentes funciones en la estabilización del sistema en dispersión. Entre éstos los más utilizados son los electrolitos, los tensioactivos, los hidrocoloides, los métodos de reducción del tamaño de partícula, el control del crecimiento de cristales y la optimización del vehículo (Swarbrick et al., 2006).

Los electrolitos actúan reduciendo el potencial zeta, dando lugar a la unión de las partículas en estructuras laxas. El poder floculante de los iones aumenta con su valencia. Por lo tanto, los iones de calcio son más potentes que los iones de sodio o potasio. Según esta idea el uso de iones trivalentes sería lo más adecuado. Sin embargo, se usan con menos frecuencia debido a su toxicidad. Cuando se agregan electrolitos a una suspensión defloculada cargada positivamente, el potencial zeta disminuye lentamente. El volumen de sedimentación llega a su máximo en valores de potenciales cercanos a cero (Aulton y Taylor, 2017).

Se pueden usar tensioactivos iónicos y no iónicos como agentes floculantes. Los tensioactivos iónicos causan floculación al neutralizar la carga en las partículas. Debido a su estructura larga, los tensioactivos no iónicos se adsorben sobre más de una partícula, formando así una estructura floculada laxa (Aulton & Taylor, 2017).

Los polímeros de cadena lineal y ramificada forman una red similar a un gel que se adsorbe sobre la superficie de partículas dispersas, manteniéndolas en estado floculado. Los polímeros hidrofílicos también pueden funcionar como coloides protectores impidiendo que los flóculos se adhieran estéricamente entre sí. A bajas concentraciones de polímero, cuando las partículas del fármaco no están completamente cubiertas por los polímeros, se forman puentes entre múltiples partículas y se favorece la floculación (Kulshreshtha et al., 2010).

Los polielectrolitos son polímeros con grupos ionizables, los cuales se disocian en polímeros cargados de iones pequeños de carga opuesta al entrar en contacto con disolventes polares. Estos polímeros son capaces de actuar electrostática y estéricamente. Los polímeros lineales como la carboximetilcelulosa

sódica funcionan mejor como agentes floculantes; sin embargo, los polímeros enrollados como la polivinilpirrolidona no conducen a la floculación sino que mejoran la estabilidad estérica (Kulshreshtha et al., 2010).

Con respecto al tamaño, las partículas más pequeñas pueden tener un mayor efecto en el aumento de la viscosidad del sistema porque tienen un área de superficie mayor que las partículas más grandes. Con respecto a la biodisponibilidad, el uso de partículas más pequeñas puede proporcionar una mejor absorción del fármaco debido a su mayor área de superficial. Las partículas más pequeñas también son más adecuadas para lograr la uniformidad en la dosis. La mayoría de las suspensiones farmacéuticas contienen sólidos polidispersos y es deseable que la distribución de tamaño sea estrecha para asegurar una sedimentación uniforme y que además permita la repetibilidad de las características de la suspensión lote a lote (Swarbrick et al., 2006).

La maduración de Ostwald o el crecimiento de cristales, es un fenómeno que tiene efectos en la sedimentación, la estabilidad física, redispersabilidad, aspecto y biodisponibilidad de las suspensiones. Como se mencionó anteriormente en una suspensión hay un rango de tamaño de partícula, siendo las partículas más pequeñas más solubles en el medio de dispersión. Al aumentar la temperatura, más partículas pequeñas se disuelven y reducen más su tamaño. Al bajar la temperatura, el fármaco disuelto tiende a recristalizar en la superficie de las partículas existentes. Una ligera fluctuación de la temperatura puede hacer que la distribución en el tamaño de partícula cambie hacia tamaños de partícula más grandes. Este problema puede eliminarse inicialmente utilizando un rango de tamaño de partícula estrecho (Tadros, 2013).

Los agentes tensioactivos o coloides poliméricos pueden prevenir el crecimiento de cristales al ser adsorbidos en la superficie de la partícula. Cuanto menor sea la capacidad de solubilización del tensioactivo, más eficiente será en la prevención del crecimiento de cristales. El crecimiento de cristales también puede ocurrir con fármacos polimórficos, siendo la forma metaestable la más soluble. A

medida que la forma metaestable cambia a una forma más estable, se favorece la cristalización (Aulton y Taylor, 2017).

Sedimentación

La tasa de sedimentación de partículas se puede determinar por la ley de Stokes. Esta ecuación explica una condición ideal en la que las partículas sólidas perfectamente esféricas están en una suspensión muy diluida y se asientan sin turbulencia, sin chocar con otras partículas y sin atracción o afinidad química o física por el medio de dispersión. La ecuación incluye diferentes parámetros: V como la velocidad terminal de la sedimentación en cm/s, d es el diámetro de la partícula en cm, ρ_1 y ρ_2 son las densidades de las partículas suspendidas y el medio respectivamente, g es la aceleración de la gravedad, y η_0 es la viscosidad del medio (Kulshreshtha et al., 2010).

$$V = \frac{d^2 (\rho_1 - \rho_2) g}{18 \eta_0} \quad (5)$$

En relación con la ley de Stokes se infiere que las partículas más pequeñas producen una sedimentación lenta; de ser excesivamente lenta en una suspensión defloculada puede provocar la formación de sedimentos compactos. Esta ley puede usarse para mejorar una suspensión mediante el análisis de cada uno de sus componentes. Por ejemplo, la viscosidad del medio se puede aumentar para reducir la tasa de sedimentación. La diferencia de densidad entre la fase dispersa y el medio de dispersión es otro parámetro importante; una diferencia de cero significaría que no hay sedimentación. Aunque, la densidad de la fase dispersa no se puede cambiar, se puede aumentar la densidad del medio usando excipientes como sorbitol líquido, glicerina o propilenglicol. Estos agentes, además de reducir la diferencia de densidades, también pueden ser usados para aumentar la viscosidad del medio (Aulton y Taylor, 2017).

La ley de Stokes es válida para suspensiones farmacéuticas diluidas compuestas por no más de 2% de sólidos. Esta situación puede no ser aplicable a muchas formulaciones farmacéuticas. En una suspensión diluida, las partículas

sólidas sedimentan sin interferir entre sí. Por el contrario, en una suspensión concentrada estas interferencias pueden ocurrir y afectar los procesos de sedimentación. Además, una alta concentración de sólidos aumenta la viscosidad del sistema, afectando la velocidad de sedimentación. Otro aspecto importante es que la aplicación de la ecuación supone que las partículas son esféricas y monodispersas, lo cual es difícil de encontrar en sistemas reales (Siepmann et al., 2010).

La ley de Stokes no es aplicable completamente a los sistemas de suspensiones farmacéuticas comunes. La utilidad de la ley de Stokes radica en los conceptos básicos que se describen por medio de la ecuación analizada. Estos parámetros son indicativos de factores importantes que controlan de manera general los procesos de sedimentación de las partículas y por lo tanto sirven como guía para realizar posibles ajustes en el proceso de formulación de una suspensión (Siepmann et al., 2010).

Características reológicas deseadas

La reología es una rama de la física que estudia el flujo o la deformación de los fluidos frente a la aplicación de una fuerza. Las características reológicas de una forma de dosificación farmacéutica tienen impacto sobre su formulación, proceso de fabricación, control de calidad y en la estabilidad de la formulación. Dependiendo de la naturaleza y la concentración de las partículas dispersas, las suspensiones pueden exhibir flujo newtoniano o flujo no newtoniano, el cual se clasifica a su vez en flujo plástico, flujo pseudoplástico o flujo dilatante (Acharya et al., 2018).

La reología es importante en la estabilidad de las suspensiones farmacéuticas porque la viscosidad, según lo establecido por la ley de Stokes, puede modificar la velocidad de sedimentación. Mantener la viscosidad adecuada de las suspensiones es importante para garantizar la precisión de la dosificación y la facilidad de vertido de la suspensión. La reología también puede afectar el proceso de fabricación de suspensiones. Una mezcla altamente viscosa produce una fricción excesiva en la maquinaria de mezcla, lo que resulta en un gasto innecesario de energía (Aulton & Taylor, 2017).

Las suspensiones floculadas concentradas tienen una alta viscosidad cuando están estáticas, debido a la alta atracción interparticular. Al agitar el sistema, la viscosidad disminuye sustancialmente cuando se alcanza la fuerza mínima necesaria para superar esa atracción. Estas características son típicas de un fluido plástico, en el cual se observa un umbral de fluidez. En el caso de un fluido pseudoplástico, la viscosidad inicial es elevada bajo agitación reducida, aunque no presenta un umbral de fluidez. A medida que aumenta la fuerza aportada por la agitación la viscosidad disminuye. Los sistemas plásticos y pseudoplásticos pueden ser usados para formular suspensiones estables ya que, ante una fuerza como la agitación del recipiente que los contiene, se vuelven menos viscosos y se facilita la extracción y dosificación (Tadros, 2011).

Cuando cesa la fuerza aplicada, la viscosidad del sistema aumenta y vuelve al valor original. En el caso de fluidos pseudoplásticos con tixotropía, la recuperación del sistema hasta volver al estado inicial no es inmediato, lo cual representa una ventaja, dado que en reposo la viscosidad del producto será lo suficientemente alta para mantener las partículas suspendidas durante la vida útil. Pero cuando se somete el producto a agitación, se disminuirá la viscosidad y se mantendrá así durante un período de tiempo suficiente para permitir el retiro preciso de la dosis (Kulshreshtha et al., 2010).

En el flujo tixotrópico el aumento de la velocidad de cizalla por efecto de la agitación disminuye la viscosidad, provocado por la ruptura física en la estructura del material. Cuando se permite que el material quede en reposo, la estructura de red de gel puede reformarse, causando que la viscosidad aumente nuevamente. El reformar la estructura lleva tiempo porque requiere de difusión a nivel molecular o la migración de partículas por efecto de pequeñas fuerzas, lo que lleva a la disminución de la energía termodinámica (Darvell, 2018).

Los rasgos característicos de los materiales tixotrópicos son el punto de elasticidad o el punto inicial de deformación, la disminución de la viscosidad con el aumento de la velocidad de deformación y la incapacidad de volver por el mismo

camino cuando la velocidad de deformación por cizallamiento disminuye. En la figura 10 se puede observar que al aumentar constantemente la velocidad de cizalla (la deformación), la viscosidad (tangente) cae constantemente, pero al invertir la dirección de cambio de la velocidad de esfuerzo de cizalla, no se da por la trayectoria original (Darvell, 2018).

Esto significa una deformación en la estructura del sistema que no se reforma inmediatamente al suspender o reducir la fuerza de deformación y más bien presenta una recuperación lenta y gradual de la viscosidad. La tixotropía hace posible que una suspensión tenga alta consistencia en las condiciones de almacenamiento, no se sedimente en el recipiente, aumente su fluidez al agitarse y recupere rápidamente su consistencia para mantener las partículas en estado suspendido (Lee et al., 2009).

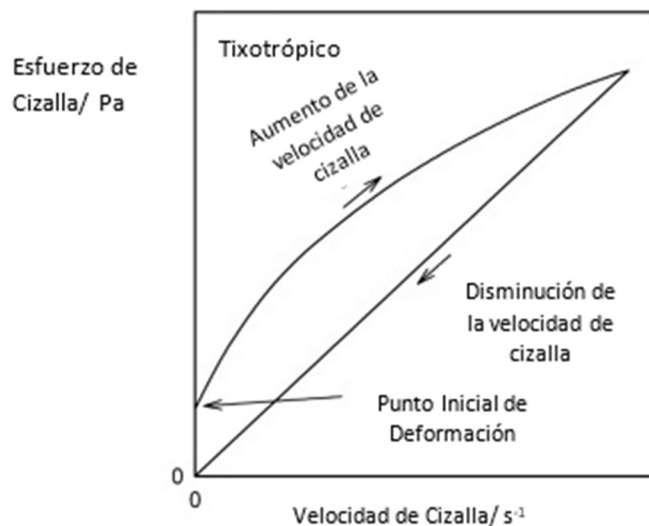


Figura 10: Representación del comportamiento de un fluido con comportamiento tixotrópico. Tomado de Darvell, 2018.

Algunos factores que afectan la reología de una suspensión son el contenido de sólidos de la fase dispersa y la forma de las partículas, ya que medida que las partículas se desvían de la forma esférica, la suspensión se vuelve más viscosa. El tamaño de partícula también puede afectar la tixotropía, ya que las partículas más pequeñas se agregan a una velocidad mayor que las partículas más grandes. Una

suspensión con una distribución desigual de tamaños de partícula muestra una viscosidad más baja que una que tenga una distribución más estrecha (Acharya et al., 2018).

Si una suspensión tiene demasiadas partículas pequeñas, estas tienden a colocarse en medio de partículas más grandes, reduciendo las interacciones entre las últimas. Las partículas más pequeñas y el medio de dispersión actúan como una fase pseudocontinua que transporta las partículas más grandes suspendidas, reduciendo el contenido efectivo de la fase dispersada y por lo tanto la viscosidad (Acharya et al., 2018).

El aumento de la temperatura provoca generalmente una disminución de la viscosidad. La temperatura puede afectar la viscosidad de una suspensión al modificar las propiedades interfaciales, modificando la floculación. También puede afectar la viscosidad de un sistema al aumentar el movimiento browniano y causar la expansión del volumen tanto en el medio de dispersión como en los sólidos (Kulshreshtha et al., 2010).

3.3.4. Estudios de Estabilidad en Suspensiones

El Comité de las Américas de Medicamentos Veterinarios (2017) establece lineamientos básicos para garantizar la calidad en todos los aspectos relacionados a la elaboración de medicamentos para uso animal. Los reglamentos técnicos centroamericanos como el RTCA 11.01.04:10 se refieren específicamente a los medicamentos de uso humano por lo que se revisará el documento equivalente para productos veterinarios.

El CAMEVET (2012) como organismo que pretende armonizar las regulaciones y controles de los productos farmacéuticos veterinarios en los países parte genera una guía de estudios de estabilidad en productos medicinales para uso en animales. La guía divide los estudios de estabilidad según su objetivo específico:

1. Estudio Acelerado: Selección tomando en cuenta la estabilidad de las formulaciones y sistemas de envasado para establecer las condiciones de almacenamiento de este.
2. Largo Plazo: permiten determinar el periodo de vida útil y además las condiciones de almacenamiento.

El proceso de evaluación farmacéutica relacionado con la estabilidad, se compone de diferentes pruebas químicas y físicas. La inestabilidad de los principios activos resultado de la influencia de diferentes factores como humedad, temperatura, pH, agentes oxidantes y la influencia de la luz pueden formar productos de degradación. El control de calidad en los productos farmacéuticos está generalmente relacionado con la determinación de las impurezas que puede ocurrir como resultado de las pruebas de estabilidad realizadas (Jamrógiewicz y Pieńkowska, 2019).

Las condiciones en las que se realizan estas pruebas se determinan según la forma farmacéutica; en general la temperatura y la humedad son indicadores de la estabilidad al usarse como factores catalíticos de degradación. En el caso de los productos destinados a almacenarse a temperatura ambiente las condiciones del estudio acelerado son los establecidos por la zona climática IV (cálida y húmeda): 40 ± 2 °C y $75\pm 5\%$ de humedad relativa en un tiempo de 6 meses. La estabilidad a largo plazo en productos destinados a ser almacenados a temperatura ambiente será evaluada con las condiciones de temperatura de 30 ± 2 °C y $70\pm 5\%$ en el caso de la humedad relativa (CAMEVET, 2012; EMEA, 2005).

Según los resultados de estas pruebas se obtiene la indicación de almacenamiento presente en la etiqueta. Para las condiciones de estudio mencionadas anteriormente la indicación en la etiqueta, luego de finalizados los estudios de estabilidad, corresponderá a: *Almacenar a no menos de 15 y no más de 30°C en promedio*. Además, la etiqueta incluirá advertencias respecto a la protección de la luz, la humedad y/o evitar la congelación del producto según sea el caso luego de las conclusiones derivadas del estudio de estabilidad (CAMEVET, 2012).

Las características de los estudios de estabilidad según EMEA (2005) son las siguientes:

1. El estudio de estabilidad acelerada tiene una duración mínima de 6 meses. Los estudios a largo plazo deben durar el mínimo de tiempo que se desee solicitar para el producto.
2. Para la frecuencia del muestreo, en los estudios acelerados se realiza un muestreo mínimo a 0, 3 y 6 meses. En el caso de estudios a largo plazo se realiza como mínimo cada 6 meses los primeros dos años del estudio (0,6,12,18 y 24 meses) y por cada año adicional mínimo cada 12 meses.
3. El tamaño y número de lotes a evaluar para la estabilidad acelerada son mínimo 3 lotes de tamaño piloto. Si los estudios se realizan para la comprobación del período de vida útil, aplican los estudios a largo plazo con un mínimo de 3 lotes de tamaño industrial.

El proceso de manufactura aplicado en lotes piloto simula los producidos a nivel industrial y su tamaño será un mínimo del 10% del tamaño de un lote industrial, además de cumplir con la misma calidad y especificaciones propuestas para el producto (WHO, 2018).

Los parámetros que serán evaluados a cada tiempo de muestreo incluyen todos aquellos que sean necesarios según las Farmacopeas oficiales de la forma farmacéutica en específico y que puedan ser utilizados para evaluar la estabilidad. Es importante identificar y cuantificar los productos de degradación cuando estos tengan relevancia terapéutica o toxicológica. En el caso de productos con múltiples principios activos se cuantifican todos los componentes como mínimo en el análisis inicial y final del estudio. Los análisis de esterilidad o recuento microbiano se realizarán mínimo al inicio y al final del estudio de estabilidad (CAMEVET, 2012).

Los estudios se realizarán utilizando los mismos envases en los que se tiene planeado comercializar el producto. En el caso de productos comercializados en varias presentaciones y con empaques de diferente tamaño, los estudios deben

realizarse en el empaque con el menor tamaño, este es el que presentará las condiciones más desfavorables respecto a la relación de superficie del envase que estará en contacto con el producto. En el caso de envases de diferente material se realizarán estudios en cada uno de ellos, si se conoce o sospecha el material de envase que pueda provocar mayor deterioro sobre el producto, se realizará el estudio de estabilidad en este envase (WHO, 2018).

Al final el estudio se requiere realizar un informe con la información relevante al estudio de estabilidad incluyendo las condiciones, metodología analítica, validación, cálculos estadísticos con el fin de respaldar el periodo de validez y las condiciones de almacenamiento propuestas para el producto (CAMEVET, 2012).

Para el proyecto se tuvo como objetivo preparar todas las modificaciones propuestas junto con la documentación pertinente para que la compañía pueda dar inicio a los estudios de estabilidad. Para el cumplimiento de los requisitos respecto a la metodología analítica fue diseñada según la etapa 3 de este protocolo.

4. Metodología

La metodología fue dividida en cuatro etapas, que comprendió en una revisión de bibliografía y de los registros existentes en Faryvet S.A. correspondientes al producto, luego la reformulación del producto para que la compañía pueda realizar la fabricación de lotes piloto e iniciar un estudio acelerado de estabilidad. Además, se revisó y completó la metodología analítica para el producto, con la cual se podrán realizar los controles de calidad necesarios para el estudio de estabilidad y los controles rutinarios de los lotes de producción.

4.1. Etapa 1: Revisión Bibliográfica y de Registros existentes del producto

Se realizó una revisión bibliográfica respecto a:

1. Tecnología de producción de suspensiones.
2. Excipientes y vehículos apropiados para la formulación de suspensiones farmacéuticas estables.

3. Aspectos fisicoquímicos relevantes de los principios activos contenidos en el producto con el fin de realizar una propuesta de cambios en la formulación y en los procesos de fabricación.

Además, se revisaron los registros relacionados con el producto en el laboratorio fabricante. Esta consistió en:

1. Revisión de la metodología analítica empleada hasta la fecha con la formulación original.
2. Documentos históricos de la fabricación de lotes del producto.
3. Registros de las modificaciones realizadas a la formulación o al proceso de fabricación.
4. Revisión de los resultados de los estudios de estabilidad realizados con el producto original hasta la fecha.

4.2. Etapa 2: Reformulación del producto

4.2.1. Análisis crítico de la Fórmula original

Una vez reunida información suficiente para caracterizar los problemas de formulación presentados y el historial de fabricación del producto, se procedió a establecer las posibles causas de inestabilidad en la fórmula original y las estrategias de formulación que tendrían mayor impacto para solucionar el problema. Se propuso emplear una metodología de diagrama de Ishikawa para presentar este análisis.

4.2.2. Estudio de reformulación

Una vez establecidas las principales problemas y causas de la inestabilidad de la suspensión se establecieron las diferentes estrategias de formulación del producto, como el análisis de la capacidad amortiguadora del buffer de citratos utilizado y el análisis de los pasos de fabricación establecidos, esto con base en el análisis derivado del diagrama de Ishikawa. En el producto reformulado se conservaron los aspectos organolépticos del producto original y no se realizaron modificaciones en cuanto al tipo y concentración de los saborizantes o colorantes.

La estabilidad de una suspensión se evaluó por su comportamiento de sedimentación, por ser fácil de observar. Esto se realizó utilizando un volumen conocido de las suspensiones prueba. El volumen fue vertido en probetas que fueron tapadas con papel Parafilm®. Las suspensiones se dejaron en reposo durante 72 horas para permitir que ocurriera la sedimentación. Luego se realizaron estimaciones del volumen del sedimento (Aulton & Taylor, 2017).

4.3. Etapa 3: Fabricación de lotes piloto para estudio de pre-estabilidad

Con el fin de obtener información preliminar con respecto a los cambios en la formulación, principalmente el caso de eliminar el sulfato de neomicina y luego para evaluar los cambios en el proceso de manufactura, se fabricaron lotes piloto de 1L y se recolectaron datos de estabilidad acelerada a tiempo cero, uno y tres meses. Se utilizaron los materiales de envasado, materias primas y equipo de Faryvet S.A. El método de fabricación desarrollado para los lotes piloto pretende servir como base para realizar una propuesta de método de fabricación de los lotes industriales.

Con estos resultados se redactó el protocolo de estudio de estabilidad para la fabricación por parte del laboratorio de lotes piloto y el inicio de los estudios de estabilidad natural y acelerados. Este estudio permitirá evaluar los cambios realizados y recopilar información con respecto al efecto en la estabilidad de los envases de las presentaciones comerciales del producto

4.4. Etapa 4: Desarrollo de la metodología analítica para la nueva fórmula

La siguiente etapa consistió en el diseño de la metodología analítica que será utilizada para la evaluación de la estabilidad y para el control de calidad de los futuros lotes de producción. Este aspecto es importante ya que, como parte del control de calidad rutinario no se realizan algunas pruebas como la determinación de viscosidad, el análisis cuantitativo del sulfato de neomicina o la identificación de los principios activos (en el caso de las sulfonamidas solo se reporta su cuantificación). Además, fue necesario efectuar ajustes menores con respecto a las especificaciones

y los métodos analíticos utilizados por Faryvet S.A. hasta la fecha para este producto. Las pruebas analíticas desarrolladas fueron las siguientes:

Identificación de los Principios Activos:

Los tiempos de retención fueron comparados contra los respectivos estándares de las tres sulfamidas con un equipo HPLC Thermo Scientific® acoplado a un detector UV-Vis de la misma marca empleando la metodología para su cuantificación.

En el caso de la neomicina, el método que se establece en la Farmacopea de los Estados Unidos (USP, 2018) es el de cromatografía en capa fina (Capítulo General <201>) y consisten en comparar una solución de la muestra con una solución estándar y la posterior detección de manchas por medio de un reactivo revelador.

Apariencia:

Al agregar la suspensión a una probeta graduada transparente se observó la uniformidad del color, la apariencia del sedimento, si hay grietas o burbujas de aire, si el líquido sobre el sedimento es uniforme o si existe material que se adhiere a las paredes. Esta prueba se realizó luego de permitir el reposo de la suspensión y que fuera visible la separación del sedimento (Nash 2013).

Examen al microscopio:

Se examinó la suspensión empleando un microscopio Olympus® Modelo CH30RF100 y una Cámara de Neubauer, con el fin de detectar cambios en la distribución de tamaños de partícula y el tamaño de los cristales y conglomerados de partículas sólidas (Nash 2013).

Color, Olor y Sabor:

Se realizó una caracterización organoléptica de la suspensión. Estas características son de importancia en suspensiones de administración oral. La

variación del color puede indicar distribución irregular de las partículas y diferencias de tamaño (Nash 2013).

Volumen de Entrega:

Se estableció según el Capítulo General <698> de la USP, con el fin de “garantizar que las preparaciones líquidas orales, cuando se transfieren desde su envase original, entreguen el volumen de la forma farmacéutica que se declara en la etiqueta” del producto. La prueba se aplica a productos que declaren contener no más de 250 mL, con una selección de 30 envases al azar y vaciando el contenido individual en probetas graduadas estableciendo el peso y volumen para cada recipiente (USP, 2018). Esta prueba no fue realizada en los lotes pilotos, a que por su tamaño no permitieron obtener los 30 envases, sin embargo, fue incluida dentro de las pruebas a realizar en el protocolo para el estudio de estabilidad.

Velocidad de sedimentación, volumen de sedimento y facilidad de resuspensión:

Se determinó el volumen de sedimento con el uso de una probeta graduada lo suficientemente grande para que sea fácil la resuspensión con agitación leve (Nash 2013).

Gravedad Específica:

La gravedad específica de la suspensión es un parámetro importante, su disminución en puede indicar la presencia de aire atrapado dentro de la estructura de la suspensión. Las mediciones de densidad (gravedad específica) a una temperatura dada se realizaron utilizando suspensiones que sean uniformes y bien mezcladas. La determinación de la gravedad específica se realizó utilizando un picnómetro de vidrio marca Kimax®.

Viscosidad:

Se utilizó un viscosímetro marca Brookfield® modelo DV-II +Pro (LV) para determinar las características reológicas de la suspensión y establecer los parámetros de operación del equipo para efectos de definir la especificación.

Valor de pH:

Se midió el valor de pH de la suspensión a utilizando un pHmetro marca HANNA®.

Recuento Microbiano:

Esta prueba se realizó en el área de Microbiología de Faryvet SA utilizando los equipos e instalaciones con los que cuenta este laboratorio. Se realizaron pruebas únicamente posteriores a la fabricación del producto debido a que la cantidad fabricada no fue lo suficiente para dar un seguimiento a 1 y 3 meses. Según el Capítulo General <61> de la Farmacopea de los Estados Unidos USP 41 (2018), la prueba de recuento microbiano puede realizarse por dos técnicas generales: Filtración por Membrana y Método de Recuento en Placa.

Para los objetivos de este proyecto se utilizó el Método de Recuento en Placa, según la metodología establecida por el laboratorio fabricante. La especificación consistió en un conteo de menos de 200 UFC de bacterias, menos de 20 UFC de hongos y la ausencia de *E. coli*, *P. aeruginosa* y *S. aureus* en 1 ml o 1 g de la muestra.

Valoración de Sulfonamidas:

Se empleó el método analítico de la compañía Faryvet empleando un equipo HPLC Thermo Scientific® acoplado a un detector UV-Vis de la misma marca, para realizar la cuantificación de las sulfonamidas en el producto.

Valoración de Neomicina:

Esta prueba se realizó en la sección de Bioanálisis del Laboratorio de Análisis y Asesoría Farmacéutica (LAYAFA®) utilizando los equipos e instalaciones con los que cuenta este laboratorio. Según el Capítulo General <81> de la Farmacopea de los Estados Unidos (2018), la “actividad (potencia) de los antibióticos puede demostrarse por su efecto inhibidor sobre los microorganismos”. Se utiliza en este caso la valoración en cilindro-placa. Para el producto original esta prueba no se

realiza en el laboratorio fabricante, por lo que parte de este proyecto fue recalcar la necesidad de hacer esta determinación. Dicho análisis será contratado por el laboratorio fabricante a los servicios analíticos de su elección ya que no se cuenta con los insumos necesarios.

La valoración en cilindro-placa se basa “en la difusión del antibiótico desde un cilindro vertical a través de una capa de agar solidificado en un plato o placa de Petri. El crecimiento del microorganismo específico inoculado en el agar resulta inhibido en un área circular o zona en torno al cilindro que contiene la solución del antibiótico” (USP 41, 2018). La base de este ensayo es la evaluación del área de inhibición obtenida.

Con el fin de cumplir los objetivos de este proyecto se realizó una prueba de selectividad del microorganismo (*Staphylococcus epidermidis*) con respecto a preparaciones de placebo o el producto obteniendo únicamente las sulfas. Esto se realizó con el fin de comprobar la idoneidad del método, realizar las modificaciones pertinentes o establecer la necesidad de desarrollar un método no microbiológico para la cuantificación de la neomicina. Esta prueba fue realizada en la sección de Bioanálisis del Laboratorio de Análisis y Asesoría Farmacéutica (LAYAFA®)

La Farmacopea establece *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228) como la cepa de elección para el análisis de la neomicina. Esta cepa fue preparada en el medio establecido por la Farmacopea, el cual corresponde al Medio 1, mientras que la preparación del inóculo requerida en esta prueba será realizada utilizando el Medio 11. La incubación de la cepa se realizó a la temperatura entre 32 °C y 35 °C por un tiempo de 24 horas.

Este inóculo se estandarizó mediante la adición de la cepa a un tubo de solución salina estéril y mediante método espectrofotométrico se obtuvo un valor de transmitancia de 10,0% a una longitud de onda de 580 nm con un equipo Marca PC Instruments® Modelo T06v.

El análisis se realizó agregando 21 mL de medio 11 a las placas de Petri, capa base, y dejando solidificar. Con el inóculo preparado anteriormente se adicionó una cantidad de este a 4 mL de medio 11, posteriormente este inóculo junto con el medio (capa siembra) fue agregado al solidificar la capa base agregada anteriormente.

Posteriormente se prepara una curva de soluciones a partir del patrón establecido para neomicina, utilizando como disolvente la solución de Buffer 3, que consistieron en 5 diluciones las cuales tendrán como mediana o valor correspondiente la solución S_3 de concentración 1ug/ml. La muestra (U_3) corresponde a la cantidad de producto que contiene una concentración similar a la solución S_3 de la curva.

Luego se colocan 6 cilindros de metal con el equipo Marca Arthur E® y se le agregan 300 uL de las soluciones en cada cilindro. Las placas fueron incubadas usando un equipo marca Blue M® Modelo 200 A y a una temperatura entre 36 y 37,5 °C por un tiempo entre 18 y 24 horas. Transcurrido este tiempo se retiraron los cilindros y se realizaron las mediciones del área de inhibición con el programa Image J. Con los datos obtenidos se compararon los halos inhibitorios de la S_3 y la muestra.

5. Resultados y Discusión

5.1. Análisis Crítico de la Fórmula Original

El análisis de la situación del producto fue realizado por medio de una revisión de documentación y bibliografía que posteriormente fue utilizada para la construcción del diagrama de Ishikawa presentado (Anexo 1). Se concluye en resumen que los problemas de formulación generan una suspensión poco estable, de rápida sedimentación y difícil de resuspender. El impacto se da en diferentes aspectos: necesidad de reprocesos, valores de pH fuera de especificaciones luego de 12 meses en los estudios de estabilidad natural realizados (6 meses en el estudio acelerado), de igual forma los principios activos analizados (sulfas) están fuera de las especificaciones luego de 12 meses y por último la reducción de la vida útil del producto.

En el pasado se experimentaron problemas al fabricar lotes de gran tamaño (300 L) por lo que paulatinamente se decidió por parte del laboratorio disminuir el volumen a fabricar. Las causas principales son la dificultad de mantener el producto suspendido, por su rápida sedimentación y formación de “cake”, este problema dificulta a su vez el envasado y la realización de los análisis de control de calidad. Además, se han reportado problemas recurrentes en el homogeneizador utilizado, dichas fallas están relacionadas a que no existe un mantenimiento preventivo del mismo. Este problema también incluye las cámaras de estabilidad, al no ser realizado un mantenimiento preventivo no es posible detectar fallas de manera previa, con el riesgo de producir algún error al modificar las condiciones controladas que requieren los estudios de estabilidad.

Con respecto a los métodos y procesos es importante analizar el proceso de fabricación, el dispensado y la toma de muestras para los análisis. La principal problemática es la realización de cambios no supervisados en el proceso de fabricación (tiempos de agitación, potencia, adición de agua, secuencia de pasos). Además, se encontró que los tiempos y potencias de agitación son parámetros que no estuvieron controlados durante mucho tiempo en la fabricación de los lotes. Estos además se encuentran establecidos de manera general y no según el tamaño de lote.

El proceso de fabricación actual presenta algunos pasos que requieren el transvase de materias primas poco solubles en medio acuoso, por lo que podría presentarse pérdidas del material y bajos rendimientos, así como variaciones en los análisis químicos entre lotes. La secuencia de adición de las materias primas evidencia debilidades en la validación de la fórmula, ya que cuando se realizaron cambios en la adición las materias primas o en la secuencia de los pasos de fabricación, la estabilidad y el comportamiento de la suspensión presenta una mejoría (se mantiene suspendido durante más tiempo, sedimento laxo y de gran volumen).

La adición de los preservantes fue un punto importante a revisar, ya que por su baja solubilidad en agua no es posible asegurar su distribución al ser agregados (Rowe et al., 2009) en los pasos finales de homogenización de la suspensión. Además, es importante realizar una revisión del cumplimiento y la idoneidad en procedimientos como el dispensado y la toma de muestra para los análisis y el establecimiento de protocolos cuando no se tengan.

Un aspecto relacionado al producto es el incidente reportado de uso de una materia prima (caolín), que se encontraba almacenado en condiciones no adecuadas o el uso de una materia prima no adecuada (el uso de un caolín regular en vez de caolín coloidal). Este evento generó problemas en la estabilidad de la suspensión, sin embargo, este incidente y su posterior investigación no se encuentran documentados apropiadamente. El caolín por su naturaleza higroscópica debe evitarse humedecerse con agua ya que forma una pasta plástica que pudo haber afectado las características del producto, considerando la primera opción como razón probable del problema (Rowe et al., 2009).

Los análisis de materia prima especificados en las farmacopeas oficiales (USP y BP) se realizan de manera incompleta por falta de reactivos. Esto fue detectado en los reportes de algunas de las materias primas necesarias en la fabricación del producto como por ejemplo en los citratos.

El producto tiene dos presentaciones comerciales con diferente material de envase, la presentación de 250 ml cuenta con envase de polietileno, mientras que los envases de 100 ml son de PET (Tereftalato de polietileno). El efecto del material de envase en la estabilidad del producto no ha sido evaluado, por lo que no se tiene datos al respecto.

La liberación de lotes depende mayoritariamente de los valores del análisis de la potencia de las sulfonamidas y no se realiza ningún tipo de análisis para la neomicina (potencia o cuantificación). Además, tampoco se realizan análisis de viscosidad y las variaciones en el valor de densidad o pH no se consideran críticos con respecto a la conformidad de los lotes. Se tiene establecido un límite máximo de

2 para la desviación estándar relativa (DER), aunque se registra que valores superiores no han afectado la liberación de lotes.

La selección de la especificación de pH no se encuentra documentada, de igual manera la justificación o el análisis correspondiente a la estabilidad de los componentes de la suspensión. Al realizar el cálculo correspondiente al buffer de citratos se descubre que la capacidad amortiguadora utilizada es subóptima.

Con respecto a la cuantificación de las sulfonamidas se presentan problemas resultado de la formación de un sedimento compacto, difícil de resuspender, además de la rápida sedimentación. En el análisis se deben realizar cambios como en la selección de la columna, velocidad de flujo, cambio en la orientación de la columna, variaciones en la proporción de fase móvil, entre otros con el fin de llevar a cabo la valoración.

La necesidad de reprocesos es frecuente en los lotes fabricados, en la forma de adición de cantidades de algún principio activo, o la remezcla del lote. Este problema fue mayor previo al cambio realizado de utilizar caolín coloidal en la fabricación del producto, sin embargo, se podría reducir al mejorar el cumplimiento de los criterios de fabricación. La escogencia entre agregar más principio activo o remezclar depende de los resultados analíticos, aunque sería pertinente la creación de un protocolo para este fin.

Según lo analizado anteriormente se procedió a seleccionar los problemas más significativos encontrados y congruentes con el alcance de este proyecto para realizar un proceso de reformulación del producto, completar la metodología analítica y la creación de documentación relacionada.

5.2. Justificación de la Fórmula

El proyecto de investigación fue originado buscando la solución a los problemas de estabilidad de producto y la combinación de principios activos. El uso de tres sulfonamidas junto con el aminoglucósido neomicina provocó que la autoridad

reguladora en materia de productos veterinarios (SENASA) pidiera una justificación por parte del laboratorio fabricante.

El producto toma como base otras formulaciones existentes que combinan sulfonamidas con aminoglucósidos como los productos Kaobiotic® (combinación de sulfas con neomicina), Keosul® (neomicina, sulfaguanidina, caolín y pectina), Neo-sulphentrin® (combinación de sulfas con neomicina y estreptomina) por mencionar algunos (Martin, 1989). También se encuentran registrados en el país por medio de SENASA Keosul® y otras combinaciones como Neocan® (caolín, belladona, Neomicina, Pectina y Sulfaguanidina).

Se realizó una investigación para la justificación de la fórmula en cuanto a la combinación de principios activos. Esta investigación incluye la consulta en el 2018 al Centro de Información de Medicamentos (CIMED) donde se concluye que no se encontraron datos en la literatura que justifiquen su uso combinado.

Por las razones citadas anteriormente, inicialmente se decidió la reformulación del producto con solo las tres sulfonamidas como principios activos y se iniciaron todas las pruebas y los análisis correspondientes a la nueva formulación.

El laboratorio fabricante, sin embargo, siguió en la búsqueda de la justificación de la combinación de antibióticos para finalmente presentar un documento el cual fue aprobado por SENASA a inicios del mes de abril del 2019. Dicha justificación se basó en la ventaja que ofrece el producto con la combinación de activos al ampliar el espectro de acción contra agentes causantes de diarrea como son las infecciones bacterianas y originados por coccidios, según la revisión bibliográfica realizada por la compañía.

La aprobación de esta justificación cambió la dinámica de la investigación y se procedió a realizar los cambios correspondientes a la fórmula y a establecer la metodología relacionada a análisis del sulfato de neomicina.

5.3. Estudio de Reformulación y Análisis de la Metodología Analítica

5.3.1. Idoneidad de la Especificación del pH

Todas las sulfonamidas, aparte de la sulfaguanidina, son compuestos con dos grupos funcionales básicos y uno ácido. Los grupos funcionales básicos son el grupo amina de la anilina y la base heterocíclica específica de cada SA. El grupo funcional ácido en las SA es el grupo sulfonamida, que pierde su protón con relativa facilidad ($pK_a \approx 5-8$), debido al potente efecto de extracción de electrones del sustituyente SO_2 y la estabilización del anión resultante por resonancia (Cairns, 2012). Estos compuestos pueden describirse por los valores de pK_{a1} , pK_{a2} y pK_{a3} correspondientes a la estructura doble protonada (I), una vez protonada (II) y forma neutra de SA (III). La forma doble protonada (I) es un ácido fuerte con un pK_{a1} muy baja (<2), por lo que solo existe en condiciones muy ácidas y no se suelen mencionar (Białk-Bielińska et al., 2012).

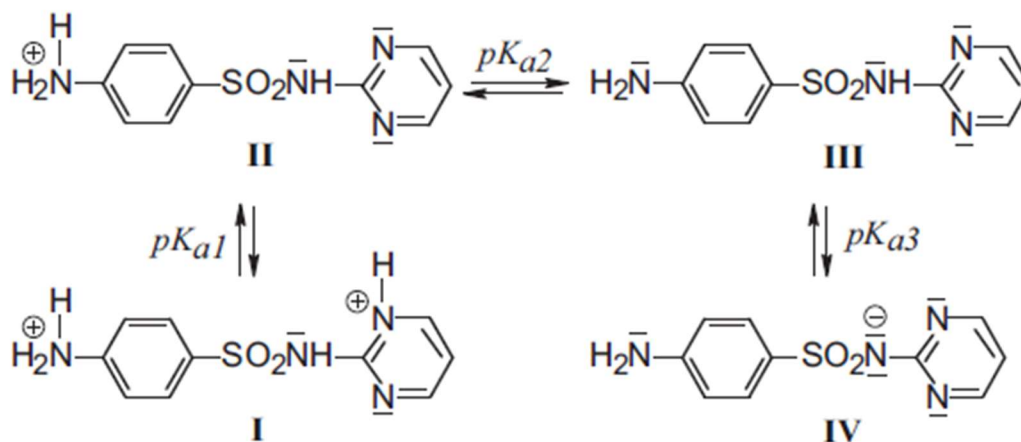


Figura 11: Representación de las formas de las sulfonamidas a diferentes valores de pH. Tomado de Białk-Bielińska et al., 2012.

La sulfaguanidina es inusual respecto a otras sulfas porque no tiene un grupo funcional ácido. En la forma neutra, la sulfaguanidina no presenta protonación en la sulfonamida, por lo que tiene propiedades ácidas muy débiles (Białk-Bielińska et al., 2012).

Tabla 2: Comparación de diferentes valores de pKa reportados en la literatura para las sulfonamidas de interés.

Sulfonamida	pKa1	pKa2	pKa3
Sulfaguanidina	0,5	1,55; 2,8	11,24; 12,1
Sulfadiazina	-	1,8; 2,10	6,28; 6,43; 6,5
Sulfamerazina	-	1,8; 2,06; 2,17; 2,22	6,77; 6,8; 6,90

Tomados de las revisiones realizadas por Białk-Bielińska et al., 2012 y Babić et al., 2007.

Según la tabla anterior se puede suponer que en el rango de pH establecido en la especificación del producto (4,0 a 5,5) es adecuado para mantener a las sulfas en su estado neutro, evitando su protonación y sus consecuencias como la solubilización, la maduración de Ostwald, la susceptibilidad a reacciones de degradación como la hidrólisis, la oxidación y a foto degradación (Conde-Cid et al., 2018; Ge et al., 2019).

En el caso de la neomicina, es un antibiótico polibásico soluble en agua, relativamente estable en solución en un rango de pH 2,0 a 9; aunque presenta mayor actividad en solución alcalina (Simone y Popino, 1955; O'Neil et al., 2013). De la misma forma la información proporcionada para la neomicina permite justificar la especificación de pH establecida.

5.3.2. Capacidad Amortiguadora

En una solución acuosa la capacidad amortiguadora, se relaciona con la concentración de ácido o base que debe ser añadido para que se dé un cambio en el pH (Urbansky y Schock, 2000). La capacidad del buffer de una solución tiene un valor de 1 cuando la adición de 1 g Eq de base fuerte (o ácido) a 1 litro de la solución del tampón produce un cambio de 1 unidad de pH. La capacidad amortiguadora de

un buffer puede ser calculada por medio de la siguiente ecuación, donde C es la concentración total del buffer, es decir, la suma de las concentraciones molares del ácido y la sal (Sinko y Singh, 2011).

$$\beta = 2,3 C \frac{k_{a[H_3O^+]}}{(k_{a+[H_3O^+]})^2} \quad (6)$$

Debido a los resultados arrojados por el estudio de estabilidad realizado a 24 meses con el producto, después de los 12 meses el pH comenzó a presentar variaciones, primero de valores superiores a las especificaciones (cerca de 6), luego a los 18 meses en valores inferiores a la especificación y continuó a la baja hacia el final del estudio. Según la fórmula original la pareja amortiguadora está compuesta de citrato trisódico dihidratado y de ácido cítrico anhidro en porcentajes cercanos al 0,1%. Al realizar el cálculo de la capacidad amortiguadora para las concentraciones anteriores se obtienen valores inferiores a 0,01 para el intervalo referido en la especificación.

Un Buffer tiene su mayor capacidad amortiguadora donde la relación $[Sal]/[Ácido] = 1$, y, por lo tanto, donde $pH = pKa$. Un aumento en la concentración de los componentes del buffer da como resultado una mayor capacidad o eficiencia amortiguadora. Un aumento en la concentración total de búfer, $C = [Sal] + [Ácido]$, resulta en un mayor valor de β (Sinko y Singh, 2011). En la práctica se procura llegar a una concentración total, de modo que β se encuentre dentro del rango de 0,01 a 0,1 (Sandmann et al., 2013). Los datos utilizados para la resolución de la ecuación de capacidad amortiguadora se encuentran en la siguiente tabla.

Tabla 3: Datos relevantes con respecto al buffer de citratos

Dato	Valor	Referencia
Constante pka	pka ₁ 3,128 pka ₂ 4,761 (ka=1,7338x10⁻⁵ M) pka ₃ 6,396	Crea et al., 2004

PM Ácido Cítrico Anhidro	192,12 g/mol	O'Neil et al., 2013
PM Citrato de sodio	258,07 g/mol 294,10 g/mol (dihidrato)	O'Neil et al., 2013

Luego se realizaron los cálculos correspondientes con el fin de conseguir un valor de β de 0,01, tomando en cuenta, que cualquier cambio en la cantidad de iones presente en la suspensión puede afectar la estabilidad del sistema como se discutió anteriormente. Las cantidades finales del par amortiguador que no provocaron mayores cambios en la estabilidad fueron superiores al doble de las anteriores y generaron un pH experimental de 4,66.

5.3.3. Comportamiento Reológico y Especificación para la Viscosidad

La tixotropía se define como una recuperación comparativamente lenta, en reposo de un material, que ha perdido su consistencia a través del cizallamiento. El área entre las curvas ascendentes y descendentes, llamada el bucle de histéresis, puede proporcionar información sobre la destrucción y la reconstrucción de la estructura (Moghimpour et al., 2014).

La determinación del comportamiento tixotrópico de la suspensión se realizó por medio del incremento paulatino en la velocidad sin detener la rotación del spindle reportando la viscosidad y el porcentaje de torque. Esto fue repetido luego aumentando varias velocidades, para que luego sin parar, las mediciones del viscosímetro se realizaron a una serie de velocidades de agitación decrecientes.

En el intervalo de tiempo entre las mediciones al aumentar la velocidad y las mediciones a velocidades decrecientes, la viscosidad muestra un descenso y la curva resultante está por debajo de la curva realizada al realizar mediciones en la secuencia de velocidades crecientes, como se observa en el siguiente gráfico (Figura 12). El bucle de histéresis que se forma es una característica de tixotropía. El tamaño del bucle dependerá del tiempo durante el cual se cizalla el material a cada velocidad, del número de velocidades empleadas y de la velocidad máxima de

cizallamiento utilizada, así como de las características de flujo del material (Cheremisinoff, 2001).

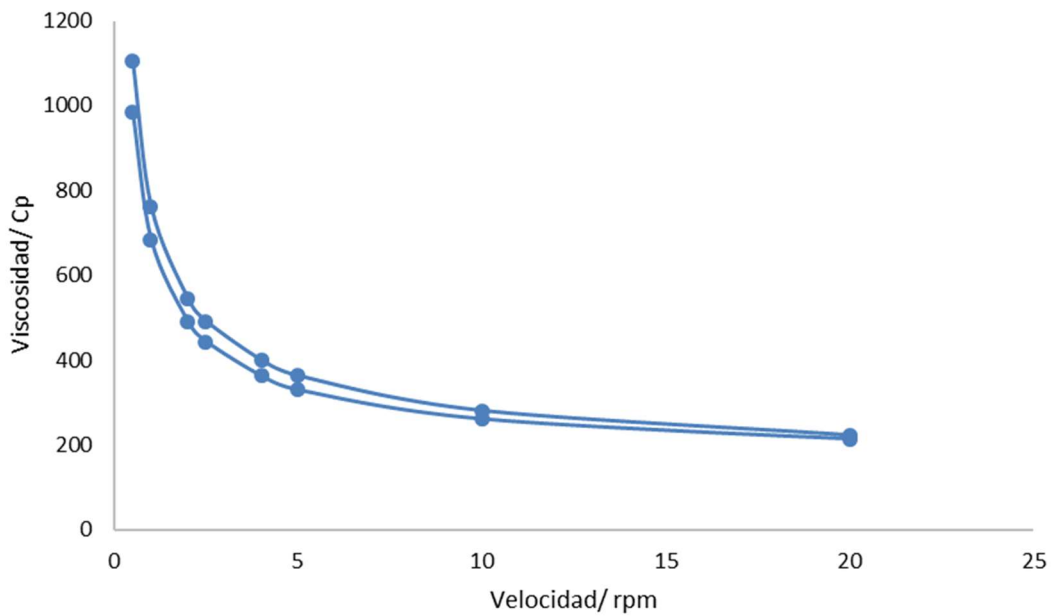


Figura 12: Comportamiento de la viscosidad según las revoluciones por minuto a temperatura constante. Fuente: Elaboración propia.

La figura 13 también evidencia el comportamiento antes mencionado, ya que se observa como disminuye la viscosidad de la suspensión en el tiempo bajo una velocidad y temperatura constante.

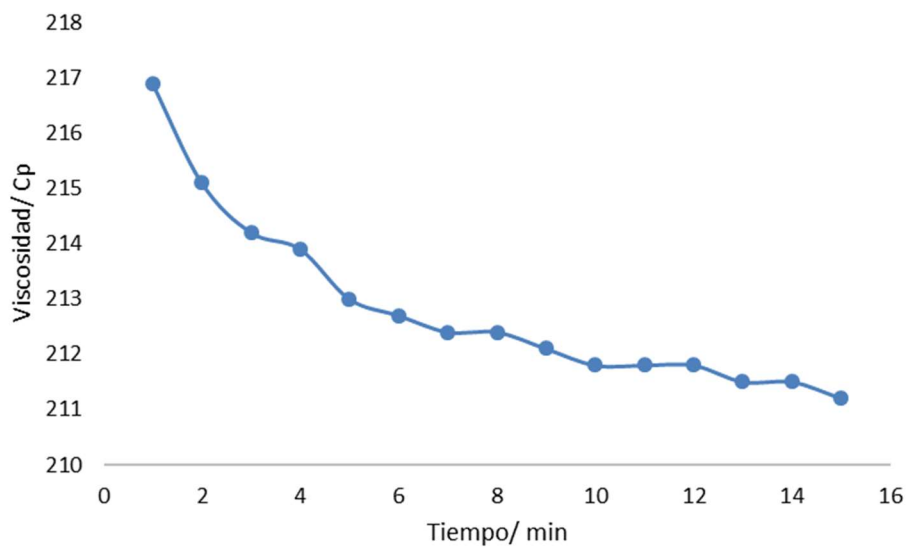


Figura 13: Comportamiento de la viscosidad según el tiempo a 20 revoluciones por minuto a temperatura constante. Fuente: Elaboración propia.

Con el fin de determinar la especificación de viscosidad para la suspensión de antibióticos se realizaron mediciones a diferentes revoluciones por minuto. En la siguiente figura se puede observar que luego de los 7 minutos de someter la suspensión a 5 rpm las mediciones de viscosidad son constantes por un tiempo suficiente que permita realizar las mediciones de manera rutinaria.

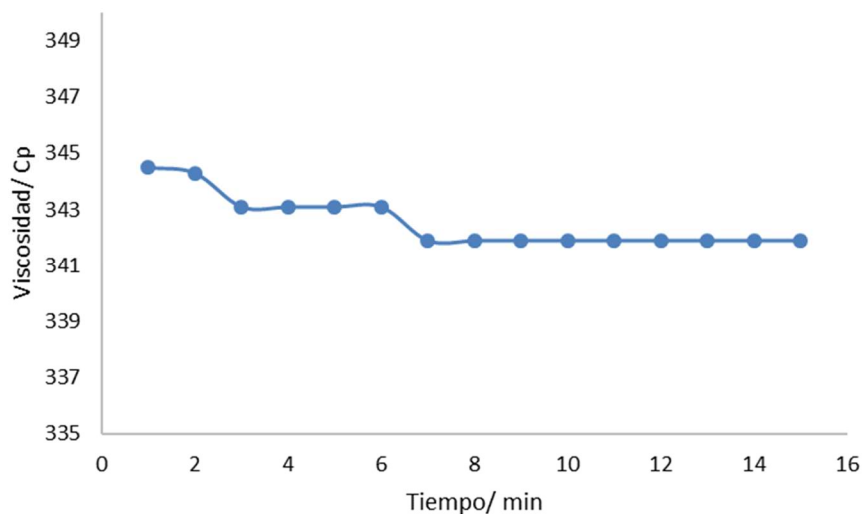


Figura 14: Comportamiento de la viscosidad según el tiempo a una velocidad de 5 revoluciones por minuto a temperatura constante. Fuente: Elaboración propia.

Tomando en consideración toda la información anterior se propone establecer como procedimiento para la medición de viscosidad lo siguiente: Determine la viscosidad de 600 ml de muestra directamente utilizando un viscosímetro Brookfield DV-II+ Pro (LV) con el spindle 61 (S1) a una velocidad de 5 rpm a una temperatura de $25 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ y reportar el valor obtenido a los 10 minutos. La especificación debe establecerse de manera específica mediante el análisis de varios lotes de producción.

5.3.4. Especificación de Densidad

La especificación para la densidad o de forma más adecuada gravedad específica del producto fue establecida con base en los datos reportados de este parámetro en la revisión de los lotes históricos del producto. Se tomaron en cuenta los problemas reportados en el proceso de llenado como criterio para establecer el mínimo y máximo de la especificación (Wheeler, 2003).

Con respecto a los valores máximos y mínimos encontrados en los registros se encuentra una gravedad específica de 1,1092 y un valor máximo de 1,25730. Es de resaltar un problema de llenado reportado por un exceso de espuma en el producto al obtenerse una gravedad específica de 1,1786 en el control de calidad realizado en proceso. Tomando en cuenta los datos anteriores el rango de gravedad específica propuesto es de: 1,1800 a 1,2600.

5.3.5. Identificación de Principios Activos:

Los documentos para los análisis de control de calidad del producto solo tomaban en cuenta la cuantificación de los principios activos y no se tenía establecida una especificación con respecto a la identificación de estos. En el caso de las sulfonamidas su cuantificación se realiza por medio de HPLC, por lo que se utilizaron los tiempos de retención y la forma de los picos para establecer la especificación de esta manera: “La forma y tiempos de retención de los picos principales de la muestra corresponden a los de la Solución Estándar, según el procedimiento de la Valoración”.

En el caso de la cuantificación de la neomicina el procedimiento farmacopeico para su análisis es mediante la potencia microbiológica en el caso de la cuantificación, para la identificación se establece el método de cromatografía de capa fina (USP, 2018). El laboratorio fabricante no realiza ninguno de estos métodos, sin embargo, para otro producto que contiene este principio activo se realiza la cuantificación por un método espectrofotométrico. Por la naturaleza de la fórmula y las interferencias posibles nunca se determinó como método específico para este producto.

La determinación espectrofotométrica se basa en la prueba de Rimini para aminas primarias alifáticas. El método implica la reacción de la amina con acetona para formar una base de Schiff que forma un complejo con nitroprusiato de sodio resultando en un color violeta (Varma y Gaikwad, 2008). El grupo nitrosilo del pentacianonitrosilferrato disódico (II) o nitroprusiato de sodio tiene una carga formal de +1. Por esta razón, el reactivo es susceptible de ser atacado por agentes nucleofílicos (bases como los aminoglucósidos) a través del grupo NO^+ . La ecuación general para la formulación del producto coloreado es:



Los resultados muestran que todos los grupos amino participan en el ataque nucleofílico en el grupo NO. La neomicina presenta la mayor sensibilidad de reacción con respecto al grupo de aminoglucósidos, ya que contiene 6 grupos amino primarios (Confino y Bontchev, 1990). La longitud de onda adecuada para realizar las mediciones se establece como 540 nm, por lo que se decide seguir el mismo procedimiento para la muestra del producto y realizar un barrido desde los 350 a 700nm.

El resultado de este análisis muestra (Figura 15) un pico en el estándar de neomicina a los 560 nm que corresponde a la longitud de onda reportada para el análisis realizado por Confino y Bontchey (1990). Sin embargo, en el caso del producto el pico correspondiente se genera a los 530 nm y la amplitud es menor a la del estándar, ya que ambas muestras fueron preparadas para que representaran concentraciones similares de sulfato de neomicina. Los números que se observan en la imagen representan únicamente una secuencia de los picos que se generaron en el espectro.

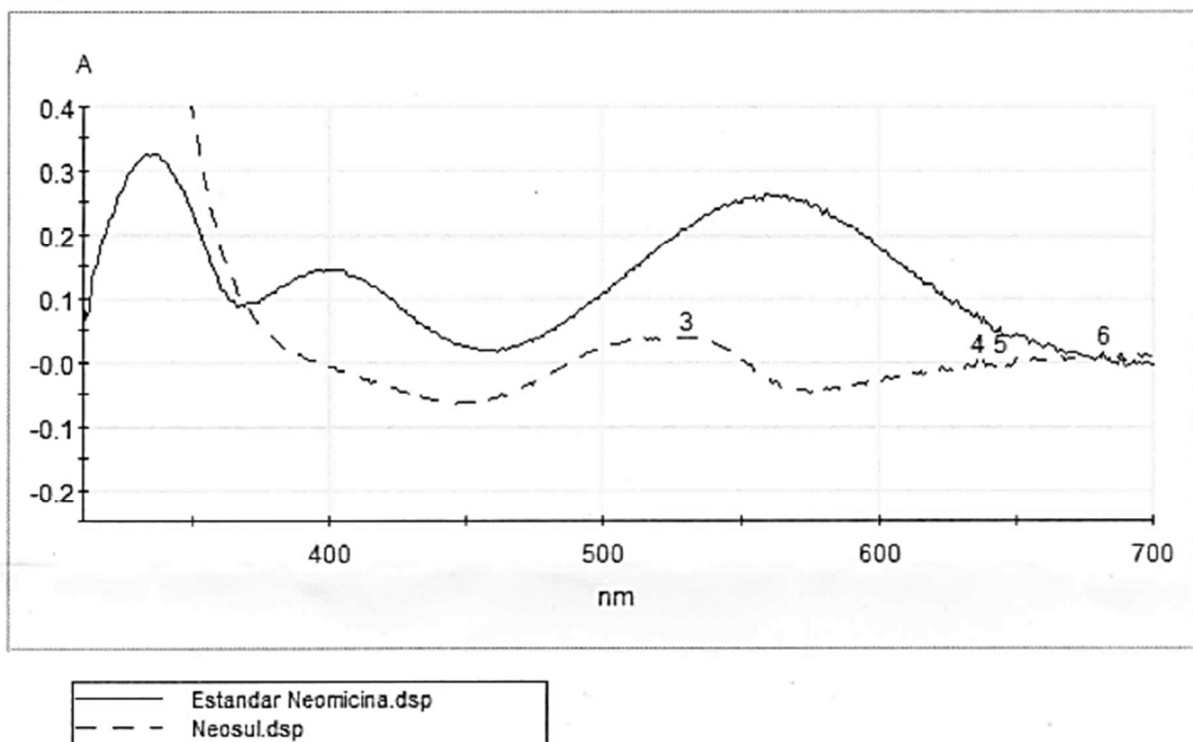


Figura 15: Espectro de absorbancia comparando el estándar de sulfato de neomicina y el producto luego de ser tratados mediante de la reacción de Rimini. Fuente: Elaboración propia.

En este caso se procede a realizar la identificación por medio de capa fina como lo establece la farmacopea estadounidense. Según esta técnica, el sulfato de neomicina debe presentar una mancha violeta característica de la reacción del aminoglucósido con ninhidrina al 0,2%, luego de su desarrollo en una fase móvil específica. El mecanismo de la reacción del hidrato de ninhidrina con grupos amino, produce el cromóforo de ninhidrina llamado púrpura de Ruhemann (λ_{max} 570 nm) (Friedman, 2004). La reacción por la cual se produce este compuesto coloreado se puede observar en la siguiente Figura 16.

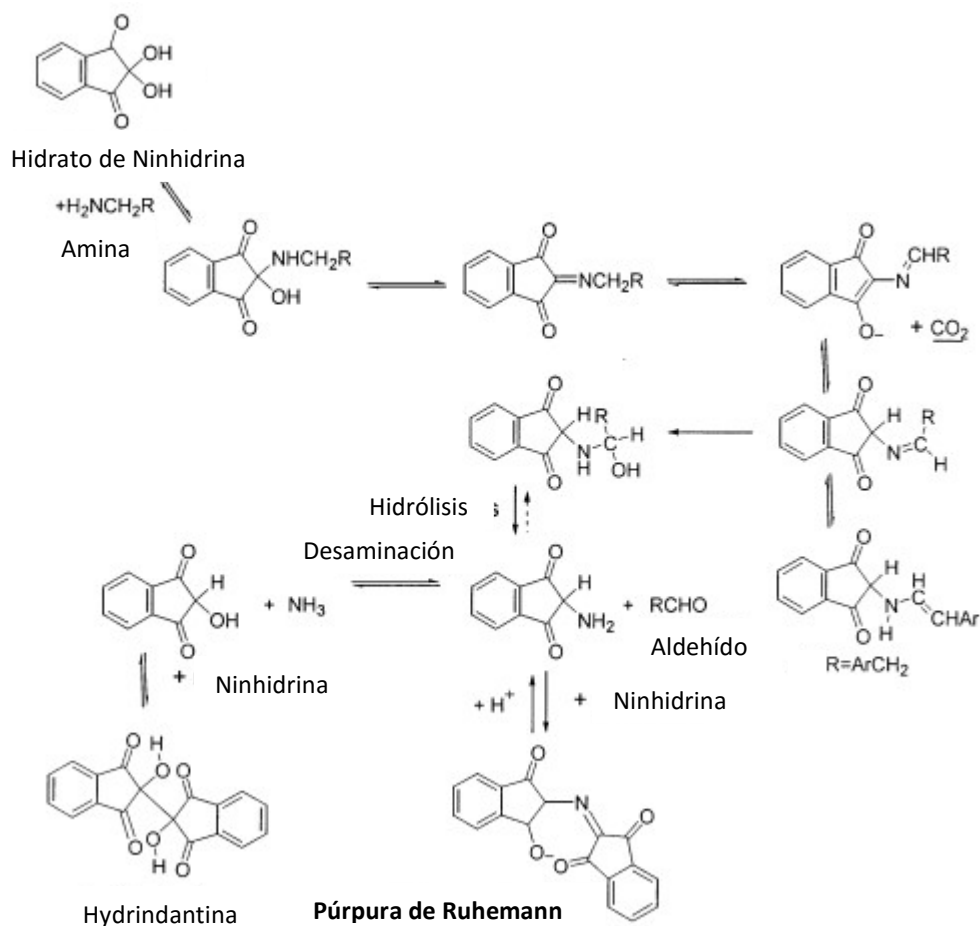


Figura 16: Mecanismos de reacción de las aminas con hidrato de ninhidrina para formación de la púrpura de Ruhemann. Tomado de Friedman, 2004.

Al realizar la prueba se logra distinguir las manchas color morado en los estándares de neomicina, sin embargo, en el caso de la muestra se observan manchas color morado pero estas no coinciden en el valor R_f del estándar (Figura 17). Posteriormente se realiza la corrida del producto junto con el placebo para determinar si las manchas del producto corresponden a la neomicina. Tanto el placebo como una muestra de producto que contiene únicamente las sulfas no mostraron las mencionadas manchas por lo que se puede suponer que las manchas son generadas por la presencia de neomicina en el producto.

Seguidamente con el fin de mejorar la separación de la neomicina se procede a filtrar el producto para separarlo de los otros componentes no hidrosolubles. En el caso de este cromatograma se logra observar una gran mancha blanca de igual forma y proporciones a la que se observó anteriormente con el producto, pero sin la coloración morada de la Figura 17. La imagen de esta segunda prueba no se muestra por la ausencia en la coloración morada.

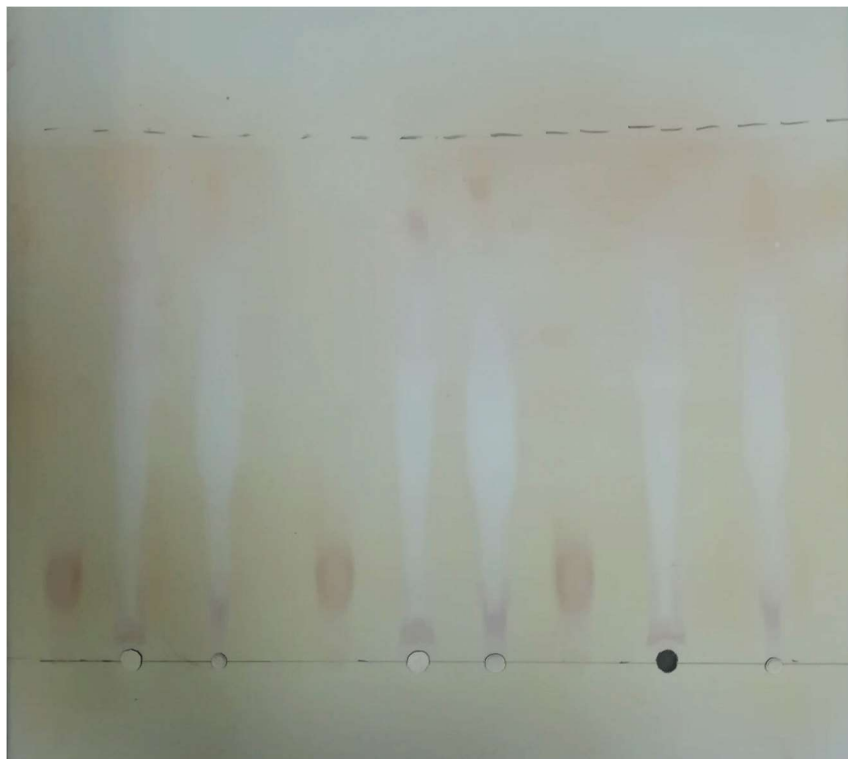


Figura 17: Cromatografía de capa fina para la identificación del sulfato de neomicina en el producto. Repetición por triplicado del estándar, producto aplicado de forma directa y el producto tratado con HCl 0,1 N. Fuente: Elaboración propia.

Los resultados anteriores permiten suponer que existe alguna interacción con ciertos componentes de la fórmula que no permiten la completa separación en la muestra y por lo tanto los valores de Rf obtenidos para la muestra (0,16 con respecto a 0,08). Con el fin de contrarrestar esta interacción se propone establecer una metodología para el tratamiento de la muestra previo a la siembra en las placas.

El desarrollo de la metodología para la determinación por capa fina en diferentes formas farmacéuticas semisólidas Sharaf y colaboradores (2002) fue aplicada para mejorar el método establecido inicialmente. Los cambios fueron aplicados al tratamiento de la muestra previo a su siembra en la sílice. El procedimiento realizado es el siguiente: se toma una cantidad de 1,50g del producto y se transfieren a un tubo de ensayo de 15ml, luego se agregan 4 ml de cloroformo a la muestra y se agita en un vortex por 1 minuto. Luego se agrega 1ml de ácido clorhídrico 0,1N para finalmente agitar por otros 4 min, la mezcla resultante puede ser centrifugada por 10 minutos o aplicada sobre la capa de sílice directamente.

Este método fue aplicado para el producto logrando, como se observa en la siguiente figura, la separación de componentes que permiten valores similares de Rf (relación de frentes) entre el estándar y la muestra.

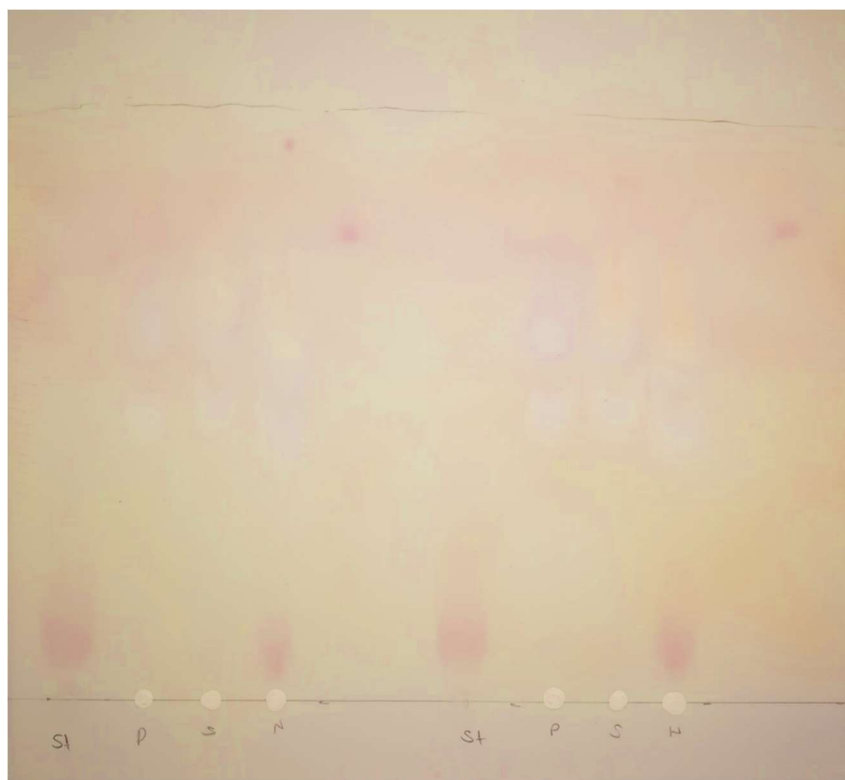


Figura 18: Cromatografía de capa fina para la identificación del sulfato de neomicina en el producto utilizando un método de dispersión con cloroformo. Simbología: St

estándar, P placebo, S producto únicamente con las sulfas y M producto con la combinación de antibióticos. Fuente: Elaboración propia.

5.3.6. Determinación de la Potencia Microbiológica

La determinación de la potencia microbiológica para el sulfato de neomicina se propone que sea realizada como servicio analítico en LAYAFA, por lo que como parte de este trabajo de investigación únicamente se realizaron las pruebas preliminares correspondientes a la selectividad del método respecto a la neomicina, ya que el producto cuenta con una combinación de antibióticos.



Figura 19: Halos de inhibición sobre *S. epidermidis* al aplicar el producto bajo diversos tratamientos. Fuente: Elaboración propia.

Se realizaron diferentes pruebas para determinar un posible método de potencia para el producto y determinar posibles interferencias entre la neomicina y los otros componentes de la fórmula como lo son las sulfonamidas. Se utilizó un placebo, un producto solo conteniendo las sulfas, un producto con el sulfato de neomicina y el producto con la combinación de principios activos. Primero se realizó la extracción del producto con éter anhidro y se comparó con el producto sin

extracción, además de la comparación con los estándares de sulfonamidas y de sulfato de neomicina.

Tabla 4. Mediciones de las áreas de inhibición al aplicar el producto bajo diversos tratamientos.

Sustancia	Área (mm)	Diámetro (mm)
S ₃	134,65	13,09
Placebo directo	46,69	7,71
Neosul® directo	107,42	11,70
Producto con neomicina directo	107,59	11,70
Neosul® con extracción con éter	170,47	14,73
Producto con neomicina extracción con éter	106,43	11,64
S ₃	136,15	13,17
Sulfamerazina	62,66	8,93
Sulfadiazina	49,54	7,94
Sulfaguanidina	53,03	8,22
Producto con sulfas con extracción con éter	157,05	14,14
Placebo extracción con éter	78,67	10,01

Fuente: Elaboración propia.

La tabla 4 presenta las mediciones de las áreas de inhibición, los resultados para el placebo son esperables ya que no cuenta con ninguno de los principios activos. Además, se puede observar que la extracción con éter genera halos de inhibición más grandes que el patrón (S₃); el producto que contiene sulfas y el Neosul® presentan halos de mayor área que el correspondiente al producto con neomicina. Mientras que en la determinación del producto sin realizar la extracción las áreas de inhibición para el producto con neomicina y el Neosul® son similares, por lo que se puede suponer que en el método directo se logra realizar la determinación para el sulfato de neomicina de manera específica. Sin embargo, es

importante recalcar que estos resultados corresponden a una prueba preliminar y lo ideal es realizar varios análisis con el fin de establecer la metodología precisa para el control de calidad rutinario.

5.3.7. Modificaciones al Proceso de Manufactura

Adición de Parabenos

Al realizar un análisis del proceso de manufactura fue posible señalar posibles puntos de mejora. Uno de ellos consistió en la adición de los preservantes. Los parabenos se agregan según el procedimiento original, en un punto donde la matriz contiene la mayoría de agua, glicerina, sorbitol y propilenglicol sin que se pueda realizar la verificación de la distribución homogénea de estos excipientes en el producto.

Es conocido que la solubilidad de los parabenos es muy pobre en agua, pero es alta en alcoholes (Cárdenas et al., 2017). Co-solventes como etanol, propilenglicol y glicerol pueden usarse para aumentar la solubilidad acuosa del metil y propilparabeno. Entre más polar es el disolvente la solubilidad de los parabenos es menor (Darwish y Bloomfield, 1997).

Entre los disolventes anteriores el menos polar sería el alcohol, seguido del propilenglicol. Debido a la cantidad de etanol que presenta la fórmula se propone adicionar los parabenos a la cantidad total de propilenglicol y su posterior homogenización para luego continuar con la adición de las otras materias primas.

Adición de la Pectina

La pectina es un coloide hidrófilo con una humectabilidad muy alta. En consecuencia, si la pectina se agrega al agua incorrectamente, tenderá a formar grumos. Estos bultos pueden ser extremadamente difíciles de dispersar porque un gel externo formado alrededor de la pectina hidratada evitará que el agua penetre más en la masa interior (Featherstone, 2016).

La literatura propone la disolución de la pectina por medio del uso de calor y la adición de azúcares por mencionar algunos ejemplos (Einhorn-Stoll, 2018). Debido a que la adición de calor puede afectar el equilibrio de la suspensión y utilizando los excipientes establecidos en la fórmula se propone el uso del alcohol al 95% como adyuvante en la adición de la pectina al producto.

Un método bastante conocido es la precipitación de polímeros con el uso de alcohol. La precipitación de la pectina con alcohol se debe a la interrupción de las interacciones entre las moléculas de polímero y disolvente. La adición de alcohol disminuye la polaridad del solvente esto provoca la disminución de dichas interacciones y por lo tanto la gelificación (Guo et al, 2016). Utilizando este mismo principio se propone la mezcla de alcohol 95%, la cantidad total de pectina junto con un porcentaje de agua purificada para formar una pasta suave que permita la incorporación de la pectina y la distribución homogénea en el producto.

Esta técnica de la adición de la pectina fue establecida por el laboratorio fabricante con base en las instrucciones de manufactura de un producto similar, por lo que como parte de este proyecto de graduación únicamente se buscó la justificación a esta práctica.

Incorporación de los Principios Activos

El procedimiento de manufactura ha sido objeto de variadas modificaciones a lo largo de la vida útil del producto. Esto con el objetivo de contrarrestar los diferentes problemas de sedimentación y estabilidad que se han presentado. La división de la materia prima en diferentes mezclas y la adición de estas en un orden específico logró mejorar las propiedades de la suspensión, aumentando el volumen de sedimento y su facilidad de suspensión.

El procedimiento actual indica la mezcla de la sulfaguanidina con partes de glicerina, propilenglicol y agua purificada. Esta mezcla se debe trasvasar al tanque de preparación, debido a la baja solubilidad de la sulfaguanidina es posible tener pérdidas de materia prima en este proceso. Como propuesta para este proyecto de

investigación se sugiere la adición de la sulfaguanidina en conjunto con el resto de los principios activos.

Efecto en la Viscosidad de la Adición de la Neomicina

La adición del sulfato de neomicina siguiendo las instrucciones de manufactura produce un incremento visible en la viscosidad resultante de la suspensión. La consistencia final del producto puede ser apreciado en la figura 20. El producto normalmente presenta una consistencia líquida para facilidad de vertido. Luego de realizar una pequeña investigación combinando las diferentes materias primas con el sulfato de neomicina se encontró que la adición del sulfato de neomicina a la suspensión del caolín coloidal en agua producía una pasta viscosa, por lo que se procedió a buscar en la bibliografía referencias de esta situación particular.



Figura 20: Comportamiento del producto luego de la adición del sulfato de neomicina siguiendo el proceso de fabricación habitual. Fuente: Elaboración propia.

Las partículas de caolinita están naturalmente en forma de placas pseudo-hexagonales y van desde partículas micrométricas hasta nanométricas. Las partículas de caolinita consisten en una superficie tetraédrica de sílice y una superficie octaédrica de hidróxido de aluminio. Se cree que usualmente las superficies de las caras de las partículas de caolinita están cargadas negativamente

debido a la sustitución isomórfica de Al^{3+} por Si^{4+} en la capa tetraédrica de sílice y Mg^{2+} por Al^{3+} en la capa octaédrica de alúmina, mientras que la superficie de los bordes tiene una carga positiva o negativa dependiendo del pH del sistema (Gupta et al., 2011).

La cara tetraédrica de sílice de la caolinita se ha registrado que presenta carga negativa a un pH mayor de 4, mientras que la cara octaédrica de alúmina de la caolinita se carga de forma positiva a un pH menor de 6 y tiene carga negativa a un pH mayor que 8. Según esto las partículas pueden presentar diferentes interacciones. En una suspensión de partículas de arcilla, pueden ocurrir tres modos diferentes de asociación de partículas: cara-cara, borde-cara y borde-borde (Gupta et

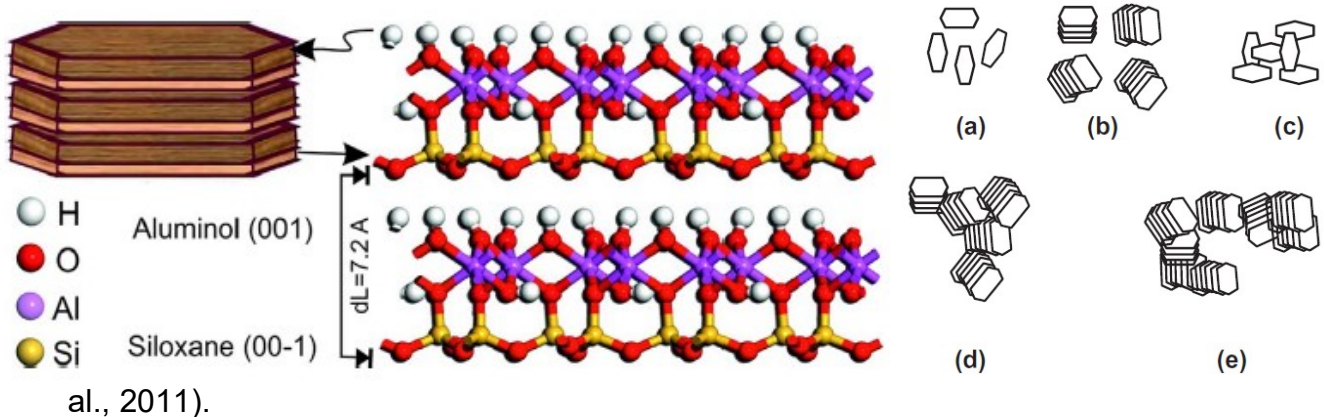


Figura 21: Representación molecular de la estructura de la caolinita y de la formación de agregados dependiendo del medio dispersante. Tomado de Awad et al., 2017 y Gupta et al., 2011.

Las capas de caolinita se consideran dipolos fuertes, donde la superficie del siloxano es hidrófoba y está dominada por cargas negativas, mientras que la superficie del aluminol presenta cargas positivas y es hidrófila. Las cargas negativas dominantes en las superficies hidratadas de caolinita conducen a crear repulsiones electrostáticas permanentes entre las partículas. Por lo tanto, las partículas tienden a estabilizarse en un estado de desfloculación, **(a)** en la Figura 21, y dan lugar a una forma de suspensión de viscosa (Awad et al., 2017).

El caolín tiene la capacidad de adsorber iones y moléculas neutras de dos maneras: por intercambio iónico en los sitios con carga negativa permanente que se originan del reemplazo de los átomos de Si (IV) por los átomos de Al (III) en las hojas tetraédricas o a través de la formación de complejos de superficie con los grupos Al-OH y Si-OH ubicados en los bordes de la capa (Ziółkowska et al., 2009).

Las partículas de caolín son susceptibles a la creación de enlaces de hidrógeno y por lo tanto exhiben fuertes interacciones electroquímicas en medios acuosos. Esta es la razón por la que una pequeña adición de un electrolito influye en la viscosidad y estabilidad final de las suspensiones acuosas de caolín. En la literatura los aditivos estudiados disminuyen la viscosidad de las suspensiones acuosas de caolín. Solo los aditivos en presencia de iones Ca^{2+} o en entornos básicos se comportan de manera diferente, aumentando la viscosidad de la suspensión (Penkavova et al., 2015).

Los iones de Ca^{2+} tienen efectos sobre la dispersión de los materiales arcillosos por medio de su adsorción en la superficie de la caolinita, reduciendo el espesor de la doble capa eléctrica. Esto provoca una disminución de la magnitud de las fuerzas repulsivas electrostáticas y un aumento de la viscosidad (Andreola et al., 2006). En la literatura no se hace referencia a este fenómeno aumento de la viscosidad en relación con el sulfato de neomicina, pero se puede suponer que alguna interacción entre ese y las partículas de caolín presenten algún tipo de adsorción o de formación de puentes de hidrogeno que favorezca la formación de conglomerados y el aumento aparente de la viscosidad.

Para evitar este aumento de viscosidad se procedió a investigar la técnica utilizada en la fabricación del producto, la cual consiste en el aumento de la velocidad de homogenización junto con la adición de agua en la adición final del caolín. Esta información fue incluida dentro de las instrucciones de manufactura.

Ajuste Final del Volumen de Agua

Como resultado de la recopilación de información de los lotes fabricados del producto se encontró que ha existido la necesidad constante de realizar reprocesos por resultados fuera de especificaciones con respecto a la concentración de alguna de las sulfonamidas. Muchos de estos reprocesos consistieron a la adición al lote terminado de la cantidad faltante del principio activo, esto presenta una problemática respecto a la homogenización de la cantidad agregada en el volumen total del producto terminado y la consecuente adición de la sustancia en un paso diferente con respecto al procedimiento de manufactura.

El paso final de la fabricación es el ajuste del volumen total a la marca de aforo en el tanque de preparación. La recopilación de información realizada al inicio del proyecto permite conocer que esta marca de aforo no se utiliza como la referencia para el ajuste final de volumen. Según los datos revisados, existen casos en los que la concentración de las sulfas en los análisis de calidad resulta fuera de las especificaciones, por lo que es practica usual a nivel de producción modificar esta cantidad de manera aproximada según los resultados obtenidos para el lote anterior. Estas modificaciones no se documentan de forma apropiada y podrían generar variaciones entre los resultados para otras pruebas analíticas como la densidad y la viscosidad, además de la probabilidad que se requiera de reprocesos de lotes terminados.

Tomando en cuenta la cantidad de agua purificada que establece el procedimiento de fabricación, se procedió a realizar un lote a escala piloto con un tamaño de 1L y se le realizó el análisis de cuantificación de las sulfas, cuyo resultado fue utilizado para realizar el cálculo correspondiente a la cantidad de agua purificada que se requiere agregar para cumplir con las especificaciones del producto.

Posteriormente se procedió a fabricar un lote a escala piloto de 1L con el fin de verificar el cálculo realizado y se obtuvieron los resultados de análisis de cuantificación de las sulfas dentro de las especificaciones. Este análisis permite proponer que se establezca en el procedimiento un volumen determinado para el

ajuste final de un lote de 100L. Esta propuesta debe de evauarse en la fabricación de un lote piloto en el laboratorio fabricante y luego si es aplicable a los lotes regulares de producción con el fin de realizar los ajustes necesarios.

5.4. Estudios de Pre-estabilidad

El análisis de las modificaciones realizadas a la fórmula se llevó a cabo por medio de la fabricación de dos lotes a escala piloto de 1 litro cada uno. El primer lote fue identificado como UCR021801 y su propósito consistió en establecer si el producto sufría algún cambio en la estabilidad al quitar el sulfato de neomicina de la fórmula original. Luego de la fabricación se decidió realizar un estudio de estabilidad acelerado con pruebas al mes y a los 3 meses. Se realizaron a estos intervalos de tiempo para poder realizar las pruebas dentro del tiempo establecido de duración del proyecto.

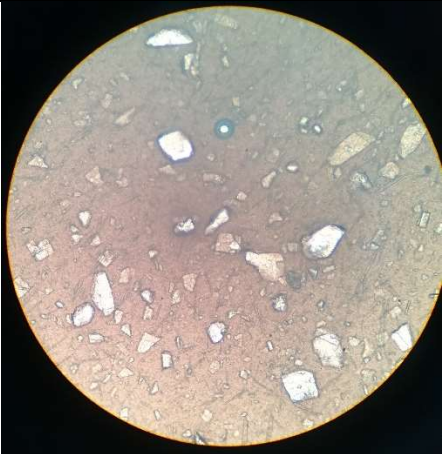
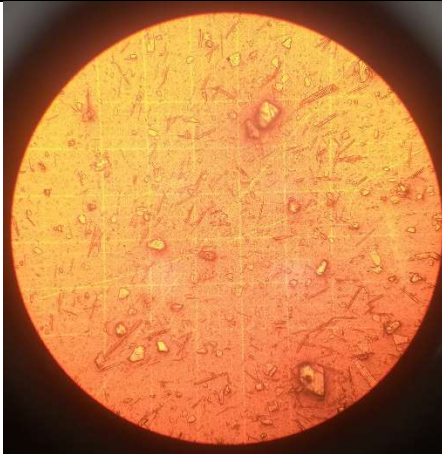
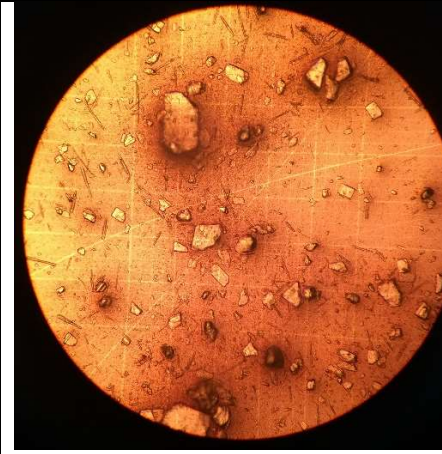
Los resultados de los análisis se muestran a continuación. Los análisis que se realizaron al lote fabricando priorizaron las pruebas de cuantificación de los principios activos (sulfonamidas) y la determinación del pH respondiendo a las no conformidades encontradas en el estudio de estabilidad realizado anteriormente. Las pruebas de volumen de entrega no se realizaron para este lote debido a que el volumen fabricado fue insuficiente. Los análisis de recuento microbiano fueron realizados únicamente al inicio del estudio por la misma razón.

Tabla 5. Resultados del análisis de calidad para el lote UCR021801.

Especificación	Descripción	Inicial	1 Mes	3 Meses
Apariencia	Líquido viscoso, color rosado pálido, libre de materias extrañas con olor y sabor a cereza.	Conforme	Conforme	Conforme
pH	Entre 4,0 a 5,5	4,26	4,28	4,21

Gravedad Específica	Sin Especificación	1,2668	1,2630	1,2887
Viscosidad	341,9 cP	NA	NA	NA
Valoración	Sulfaguanidina 90,0% a 110,0%	111,29 DER 0,03%	111,82 DER 1,94%	112,08 DER 1,31
	Sulfadiazina 90,0% a 110,0%	127,86 DER 0,04%	124,07 DER 0,65%	117,77 DER 1,8
	Sulfamerazina 90,0% a 110,0%	111,85 DER 0,03%	109,97 DER 0,24%	109,76 DER 0,14
Volumen de Sedimento	Porcentaje de sedimento respecto al volumen total a 36 h	98,9%	98,8%	98,4%
Recuento Microbiano	Recuento Bacterias Aerobiasa < 100 UFC/g de bacterias	Conforme	NA	NA
	Recuento de Hongos y Levaduras < 10 UFC/g de hongos y levaduras	Conforme	NA	NA
	Ausencia de <i>S. aureus</i>	Conforme	NA	NA
	Ausencia <i>P. aeruginosa</i>	Conforme	NA	NA
	Ausencia <i>E. coli</i>	Conforme	NA	NA

Tabla 6: Examen al Microscopio de la suspensión.

Inicial	1 Mes	3 Meses
		
Aumento 10x	Aumento 10x	Aumento 10x

En la tabla 6 se puede observar los cristales de los diferentes componentes de la suspensión utilizando una cámara de Neubauer, se puede observar que los cristales más grandes tienen un tamaño de alrededor 0,2 mm, mientras que se pueden ver partículas que miden incluso menos de la subdivisión más pequeña de la cámara que son los 0,05mm (aproximadamente de 50 a 200 μ m). En la imagen de correspondiente a los 3 meses se observan varios cristales de tamaño superior a los 0,2 mm sin embargo, se considera apropiado observar este comportamiento durante un rango de tiempo mayor para verificar este comportamiento.

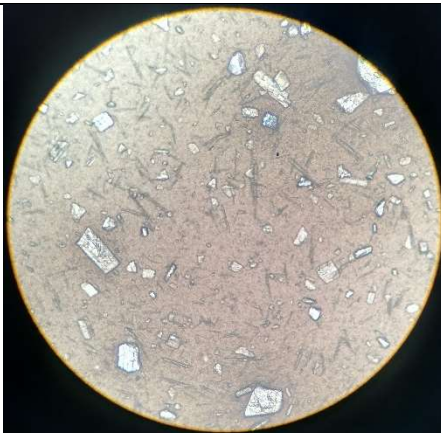

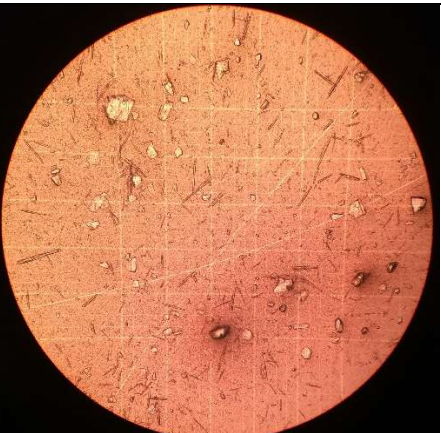
El segundo lote realizado fue identificado como UCR021902 y con este lote se pretendió analizar los cambios realizados al proceso de fabricación, incluyendo el ajuste de la cantidad de agua. Con este análisis se procedió a cuantificar la cantidad de agua requerida para cumplir con las especificaciones del producto. Al igual que el lote anterior se realizaron los análisis al tiempo inicial, 1 mes y a los 3 meses.

Tabla 7. Resultados del análisis de calidad para el lote UCR021801.

Especificación	Descripción	Inicial	1 Mes	3 Meses
Apariencia	Líquido viscoso, color rosado pálido, libre de materias extrañas con olor y sabor a cereza.	Conforme	Conforme	Conforme
pH	Entre 4,0 a 5,5	4,30	4,23	4,33
Gravedad Específica	Sin Especificación	1,2389	1,2419	1,2448
Viscosidad	223,2 cP	NA	NA	NA
Valoración	Sulfaguanidina 90,0% a 110,0%	103,44 DER 0,01%	101,82 DER 1,77%	100,82 DER 1,12%
	Sulfadiazina 90,0% a 110,0%	97,85 DER 0,02%	101,81 DER 1,74%	107,16 DER 0,61%
	Sulfamerazina 90,0% a 110,0%	102,83 DER 0,05%	98,53 DER 1,76%	106,04 DER 0,42%
Volumen de Sedimento	Porcentaje de sedimento respecto al volumen total a 36 h	97,7%	98%	97,9%
Recuento Microbiano	Recuento Bacterias Aerobias < 100 UFC/g de bacterias	Conforme	NA	NA
	Recuento de Hongos y	Conforme	NA	NA

	Levaduras < 10 UFC/g de hongos y levaduras			
	Ausencia de <i>S. aureus</i>	Conforme	NA	NA
	Ausencia <i>P. aeruginosa</i>	Conforme	NA	NA
	Ausencia <i>E. coli</i>	Conforme	NA	NA

Tabla 8: Examen al Microscopio de la suspensión.

Inicial	1 Mes	3 Meses
		
Aumento 10x	Aumento 10x	Aumento 10x

En la tabla 8 se puede observar los cristales de la suspensión igual que en el lote anterior, se puede observar que la distribución de tamaño de los cristales es similar al primer lote con un rango de aproximadamente de 50 a 200µm. Tampoco se puede observar de manera preliminar algún crecimiento de cristales que pueda resultar en cambios para la estabilidad de la suspensión en los diferentes tiempos de muestreo, por lo que se recomienda un análisis posterior.

5.5. Documentación Relacionada con el Producto

Una parte importante del proyecto fue la actualización de documentos relacionados con el producto como fue el caso del método de fabricación, la metodología de análisis y las especificaciones para control de calidad. Además de la propuesta de estas nuevas versiones fue importante la creación de manuales para estandarizar procedimientos que no habían sido realizados en el laboratorio, como el uso del viscosímetro Brookfield en la determinación de la viscosidad y el procedimiento para realizar los análisis por medio de cromatografía de capa fina.

Adicionalmente se crearon protocolos para el inicio del estudio de estabilidad del producto en los materiales de empaque de sus dos presentaciones comerciales, con el fin de obtener información respecto a su efecto en la estabilidad. Paralelo a esto se crearon dos documentos que corresponden a protocolos de validación para la metodología analítica de la cuantificación de las sulfonamidas y el procedimiento de la prueba de límite microbiano. Ninguna de estas metodologías analíticas había sido validada anteriormente, por lo que se crearon los protocolos con base en el RTCA 11.03.39:06 y la Farmacopea de los Estados Unidos.

6. Conclusión

Se realizó una revisión de la documentación relacionada con el producto, órdenes de producción, metodología de análisis y especificaciones. Con base en esta información se establecieron las posibles mejoras a realizar respecto a la formulación del producto y a completar la documentación relacionada a los análisis de control de calidad.

Se revisó la especificación con respecto al pH, además de mejorar la capacidad amortiguadora del buffer con el fin de que el producto se encuentre durante su vida útil dentro de la misma.

Se estableció la metodología de análisis para la determinación de la viscosidad, además de establecer la especificación para la densidad con respecto al comportamiento histórico del producto.

Se estableció el método de análisis para la identificación del sulfato de neomicina en el producto y las pruebas preliminares para su cuantificación.

Se realizó una revisión del método de manufactura buscando optimizar el mismo, además de actualizarlo con respecto a cambios no documentados realizados en la fabricación por los operarios.

Se redactaron los protocolos para el inicio de un estudio de estabilidad natural y acelerado para evaluar los cambios realizados como parte de este proyecto de investigación, además de obtener información relevante con respecto al material de empaque utilizado en las presentaciones comerciales del producto.

También se crearon manuales con respecto al uso del viscosímetro y al desarrollo del análisis por capa fina, ya que estos procedimientos no eran realizados en el laboratorio fabricante.

Se diseñaron protocolos de validación para la metodología analítica de cuantificación para las sulfonamidas en el producto y para la metodología de recuento microbiano.

7. Recomendaciones

Establecer un programa de capacitación con el fin de mejorar la cultura de documentación dentro de la empresa.

Contratar los servicios de análisis para la realización de la potencia microbiana de antibióticos.

Realizar la validación de la metodología analítica relacionada al producto.

Iniciar el estudio de estabilidad natural y acelerado para estudiar los cambios propuestos a la fórmula y proceso de manufactura del producto.

8. Bibliografía:

- Acharya, P. C., Soares, D., Shetty, S., Fernandes, C., & Tekade, R. K. (2018). Chapter 16 - Rheology and Its Implications on Performance of Liquid Dosage Forms. En R. K. Tekade (Ed.), *Dosage Form Design Considerations* (pp. 549–597). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814423-7.00016-2>
- Albarellos, G. A., & Landoni, M. F. (2009). Current concepts on the use of antimicrobials in cats. *The Veterinary Journal*, 180(3), 304–316. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2008.01.001>
- Andreola, F., Castellini, E., Ferreira, J. M. F., Olhero, S., & Romagnoli, M. (2006). Effect of sodium hexametaphosphate and ageing on the rheological behaviour of kaolin dispersions. *Applied Clay Science*, 31(1), 56–64. <https://doi.org/10.1016/j.clay.2005.08.004>
- Asamblea Legislativa. *Ley General de Salud* N° 5395, Pub. L. No. N° 5395 (1974). Recuperado de http://www.pgrweb.go.cr/scij/Busqueda/Normativa/Normas/nrm_texto_completo.aspx?param1=NRTC&nValor1=1&nValor2=6581&nValor3=112234¶m2=1&strTipM=TC&Resultado=10&strSim=simp
- Aulton, M. E. (2004). *Farmacia: la ciencia del diseño de las formas farmacéuticas*. Elsevier España.
- Aulton, M. E., & Taylor, K. M. G. (2017). *Aulton's Pharmaceutics, International Edition: The Design and Manufacture of Medicines*. Elsevier Health Sciences.
- Awad, M. E., López-Galindo, A., Setti, M., El-Rahmany, M. M., & Iborra, C. V. (2017). Kaolinite in pharmaceutics and biomedicine. *International Journal of Pharmaceutics*, 533(1), 34–48. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2017.09.056>
- Babić, S., Horvat, A. J. M., Mutavdžić Pavlović, D., & Kaštelan-Macan, M. (2007). Determination of pKa values of active pharmaceutical ingredients. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 26(11), 1043–1061. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2007.09.004>
- Bazzini, P., & Wermuth, C. G. (2015). Chapter 13 - Substituent Groups. En C. G. Wermuth, D. Aldous, P. Raboisson, & D. Rognan (Eds.), *The Practice of*

- Medicinal Chemistry* (Fourth Edition) (pp. 319–357). San Diego: Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-417205-0.00013-4>
- Bernatová, S., Samek, O., Pilát, Z., Serý, M., Ježek, J., Jákl, P., Siler, M., Krzyžánek, V., Zemánek, P., Holá, V., Dvořáčková, M., Růžička, F. (2013). Following the mechanisms of bacteriostatic versus bactericidal action using Raman spectroscopy. *Molecules* (Basel, Switzerland), 18(11), 13188–13199. <https://doi.org/10.3390/molecules181113188>
- Białk-Bielińska, A., Stolte, S., Matzke, M., Fabiańska, A., Maszkowska, J., Kołodziejka, M., Liberek, M., Stepnowski, P., Kumirska, J. (2012). Hydrolysis of sulphonamides in aqueous solutions. *Journal of Hazardous Materials*, 221–222, 264–274. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2012.04.044>
- Boothe, D. M. (2018a). Aminoglycosides - Pharmacology. En *Veterinary Manual*. Merck Sharp & Dohme, *MSD Manuales*. Recuperado el 3 de noviembre de 2018, de <https://www.msdivetmanual.com/pharmacology/antibacterial-agents/aminoglycosides>
- Boothe, D. M. (2018b). Sulfonamides and Sulfonamide Combinations - Pharmacology. En *Veterinary Manual*. Merck Sharp & Dohme, *MSD Manuales*. Recuperado de <https://www.msdivetmanual.com/pharmacology/antibacterial-agents/sulfonamides-and-sulfonamide-combinations>
- Bruschi, M. L. (Ed.). (2015). 6 - Drug delivery systems. En *Strategies to Modify the Drug Release from Pharmaceutical Systems* (pp. 87–194). Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100092-2.00006-0>
- Cairns, D. (Ed.). (2012). Physicochemical properties of drugs. En *Essentials of pharmaceutical chemistry* (4. ed, pp. 57–79). London: Pharmaceutical Press.
- Cárdenas, Z. J., Jiménez, D. M., Delgado, D. R., Almanza, O. A., Jouyban, A., Martínez, F., & Acree, W. E. (2017). Solubility and preferential solvation of some n-alkyl-parabens in methanol+water mixtures at 298.15K. *The Journal of Chemical Thermodynamics*, 108, 26–37. <https://doi.org/10.1016/j.jct.2017.01.005>

- Caron, V., Hu, Y., Tajber, L., Erxleben, A., Corrigan, O. I., McArdle, P., & Healy, A. M. (2013). Amorphous Solid Dispersions of Sulfonamide/Soluplus® and Sulfonamide/PVP Prepared by Ball Milling. *AAPS PharmSciTech*, 14(1), 464–474. <https://doi.org/10.1208/s12249-013-9931-7>
- Carroll, K. C., Hobden, J. A., Miller, S., Morse, S. A., Mietzner, T. A., Detrick, B., Sakanari, J. A. (2015). Antimicrobial Chemotherapy. En *Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology, 27e* (Vols. 1–Book, Section). New York, NY: McGraw-Hill Education. Recuperado de accesspharmacy.mhmedical.com/content.aspx?aid=1114735759
- Cheremisinoff, N. P. (2001). Time-Dependent Fluid. En N. P. Cheremisinoff (Ed.), *Condensed Encyclopedia of Polymer Engineering Terms* (pp. 301–326). <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-050282-3.50024-X>
- Comité Americano de Medicamentos Veterinarios (CAMEVET). (2012). GUIA PARA LA ELABORACIÓN DE ESTUDIOS DE ESTABILIDAD DE PRODUCTOS FARMACÉUTICOS VETERINARIOS. OIE Organización Mundial de Sanidad Animal. Recuperado de <http://www.rr-americas.oie.int/actividades-regionales/comevet/>
- Comité Americano de Medicamentos Veterinarios (CAMEVET). (2017). BUENAS PRÁCTICAS DE MANUFACTURA NORMA DE BUENAS PRÁCTICAS DE FABRICACIÓN DE MEDICAMENTOS VETERINARIOS. OIE Organización Mundial de Sanidad Animal. Recuperado de <http://www.rr-americas.oie.int/actividades-regionales/comevet/>
- Concha A., F. (2014). Particle Aggregation by Coagulation and Flocculation. En F. Concha A. (Ed.), *Solid-Liquid Separation in the Mining Industry* (pp. 143–172). Cham: Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-02484-4_7
- Conde-Cid, M., Fernández-Calviño, D., Nóvoa-Muñoz, J. C., Arias-Estévez, M., Díaz-Raviña, M., Núñez-Delgado, A., ... Álvarez-Rodríguez, E. (2018). Degradation of sulfadiazine, sulfachloropyridazine and sulfamethazine in aqueous media.

- Journal of Environmental Management, 228, 239–248.
<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.09.025>
- Confino, M., & Bontchev, P. (1990). Spectrophotometric determination of amikacin, kanamycin, neomycin and tobramycin. *Microchimica Acta*, 102(4), 305–309.
<https://doi.org/10.1007/BF01244771>
- Cooper, S. (2011). Recurrent diarrhoea in cats. In *Practice*; London, 33(6).
<http://dx.doi.org.ezproxy.sibdi.ucr.ac.cr:2048/10.1136/inp.d3573>
- Crea, F., De Stefano, C., Millero, F. J., & Sharma, V. K. (2004). Dissociation Constants for Citric Acid in NaCl and KCl Solutions and their Mixtures at 25 °C. *Journal of Solution Chemistry*, 33(11), 1349–1366.
<https://doi.org/10.1007/s10953-004-1046-z>
- Craigmill, A. L., Sundlof, S. F., & Riviere, J. E. (2018). *Handbook of comparative pharmacokinetics and residues of veterinary therapeutic drugs*. Recuperado de <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&scope=site&db=nlebk&db=nlabk&AN=1693760>
- Crowley, M. (2006). Solutions, Emulsions, Suspensions, and Extracts. En D. B. Troy & P. Beringer (Eds.), *Remington: the science and practice of pharmacy* (21. ed). Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- Darvell, B. W. (2018). Chapter 4 - Rheology. En B. W. Darvell (Ed.), *Materials Science for Dentistry (Tenth Edition)* (pp. 92–120). Woodhead Publishing.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-08-101035-8.50004-3>
- Darwish, R. M., & Bloomfield, S. F. (1997). Effect of ethanol, propylene glycol and glycerol on the interaction of methyl and propyl p-hydroxybenzoate with *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. *International Journal of Pharmaceutics*, 147(1), 51–60. [https://doi.org/10.1016/S0378-5173\(97\)87784-8](https://doi.org/10.1016/S0378-5173(97)87784-8)
- Dranca, F., & Oroian, M. (2018). Extraction, purification and characterization of pectin from alternative sources with potential technological applications. *Food Research International*, 113, 327–350.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.06.065>

- Dowling, P. (2018). Drugs Used in Treatment of Diarrhea (Monogastric) - Pharmacology. En *Veterinary Manual*. Merck Sharp & Dohme, *MSD Manuales*. Recuperado el 4 de noviembre de 2018, de <https://www.msdrvetermanual.com/pharmacology/systemic-pharmacotherapeutics-of-the-digestive-system/drugs-used-in-treatment-of-diarrhea-monogastric>
- Dukhin, A. S., & Goetz, P. J. (2017). Chapter 2 - Fundamentals of Interface and Colloid Science. En A. S. Dukhin & P. J. Goetz (Eds.), *Characterization of Liquids, Dispersions, Emulsions, and Porous Materials Using Ultrasound (Third Edition)* (pp. 19–83). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63908-0.00002-8>
- Einhorn-Stoll, U. (2018). Pectin-water interactions in foods – From powder to gel. *Food Hydrocolloids*, 78, 109–119. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.05.029>
- European Medicines Agency (EMA) (2005). EMEA/CVMP/VICH/899/99-Rev.1- Guideline on Stability Testing of New Veterinary Drug Substances and Medicinal Products (Revision at Step 9). Recuperado de https://www.ema.europa.eu/documents/scientific-guideline/vich-gl3-stability-testing-new-veterinary-drug-substances-medicinal-products-revision-step-9_en.pdf
- Fathi Azarbayjani, A., Jouyban, A., & Chan, S. Y. (2009). Impact of surface tension in pharmaceutical sciences. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences: A Publication of the Canadian Society for Pharmaceutical Sciences, Societe Canadienne Des Sciences Pharmaceutiques*, 12(2), 218–228.
- Featherstone, S. (Ed.). (2016). 9 - Jams, jellies, and related products. En *A Complete Course in Canning and Related Processes (Fourteenth Edition)* (pp. 313–349). <https://doi.org/10.1016/B978-0-85709-679-1.00009-X>
- Florey, K. (1982). *Analytical Profiles of Drug Substances*, 11. Burlington: Elsevier. Recuperado de http://www.123library.org/book_details/?id=41277

- Friedman, M. (2004). Applications of the Ninhydrin Reaction for Analysis of Amino Acids, Peptides, and Proteins to Agricultural and Biomedical Sciences. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(3), 385–406. <https://doi.org/10.1021/jf030490p>
- Ge, L., Zhang, P., Halsall, C., Li, Y., Chen, C.-E., Li, J., Sun, H., Yao, Z. (2019). The importance of reactive oxygen species on the aqueous phototransformation of sulfonamide antibiotics: kinetics, pathways, and comparisons with direct photolysis. *Water Research*, 149, 243–250. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.11.009>
- German, A. J., Maddison, J. E., & Guilford, G. (2008). Chapter 19 - Gastrointestinal drugs. En J. E. Maddison, S. W. Page, & D. B. Church (Eds.), *Small Animal Clinical Pharmacology* (Second Edition) (pp. 469–497). Edinburgh: W.B. Saunders. <https://doi.org/10.1016/B978-070202858-8.50021-X>
- Giupponi, G., & Pagonabarraga, I. (2011). Determination of the zeta potential for highly charged colloidal suspensions. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 369(1945), 2546–2554. <https://doi.org/10.1098/rsta.2011.0024>
- Gregory, J. (2013). Flocculation Fundamentals. En T. Tadros (Ed.), *Encyclopedia of Colloid and Interface Science* (pp. 459–491). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-20665-8_17
- Guo, X., Meng, H., Tang, Q., Pan, R., Zhu, S., & Yu, S. (2016). Effects of the precipitation pH on the ethanolic precipitation of sugar beet pectins. *Food Hydrocolloids*, 52, 431–437. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.07.013>
- Gupta, V., Hampton, M. A., Stokes, J. R., Nguyen, A. V., & Miller, J. D. (2011). Particle interactions in kaolinite suspensions and corresponding aggregate structures. *Journal of Colloid and Interface Science*, 359(1), 95–103. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2011.03.043>
- Haldar, S. K., & Tišljarić, J. (2014). Chapter 2 - Basic Mineralogy. En S. K. Haldar & J. Tišljarić (Eds.), *Introduction to Mineralogy and Petrology* (pp. 39–79). Oxford: Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-408133-8.00002-X>

- Heyes, W. F. (1979). Neomycin. En K. Florey (Ed.), *Analytical Profiles of Drug Substances* (Vol. 8, pp. 399–488). Academic Press.
[https://doi.org/10.1016/S0099-5428\(08\)60125-2](https://doi.org/10.1016/S0099-5428(08)60125-2)
- Jamrógiewicz, M., & Pieńkowska, K. (2019). Recent breakthroughs in the stability testing of pharmaceutical compounds. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 111, 118–127. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.12.007>
- Katzung, B. G. (2018). *Basic & Clinical Pharmacology*. (14a ed.). New York, NY: McGraw-Hill Education. Recuperado de <http://accesspharmacy.mhmedical.com.ezproxy.sibdi.ucr.ac.cr:2048/content.aspx?bookid=2249§ionid=175215158>
- Katzung, B. G., Kruidering-Hall, M., & Trevor, A. J. (2019). Sulfonamides, Trimethoprim, & Fluoroquinolones. En *Katzung & Trevor's Pharmacology: Examination & Board Review*, 12e (Vols. 1–Book, Section). New York, NY: McGraw-Hill Education. Recuperado de accesspharmacy.mhmedical.com/content.aspx?aid=1156530350
- Kulshreshtha, A. K., Singh, O. N., & Wall, G. M. (Eds.). (2010). *Pharmaceutical suspensions: from formulation development to manufacturing*. New York: Springer.
- Lampiris, H. W., & Maddix, D. S. (2017). Clinical Use of Antimicrobial Agents. En B. G. Katzung (Ed.), *Basic & Clinical Pharmacology*, 14e (Vols. 1–Book, Section). New York, NY: McGraw-Hill Education. Recuperado de accesspharmacy.mhmedical.com/content.aspx?aid=1148441090
- Láng, G. G. (2015). Basic interfacial thermodynamics and related mathematical background. *ChemTexts*, 1(4), 16. <https://doi.org/10.1007/s40828-015-0015-z>
- Lee, C. H., Moturi, V., & Lee, Y. (2009). Thixotropic property in pharmaceutical formulations. *Journal of Controlled Release*, 136(2), 88–98. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2009.02.0>
- Lloyd, D. H. (2007). Reservoirs of Antimicrobial Resistance in Pet Animals. *Clinical Infectious Diseases*, 45(Supplement_2), S148–S152. <https://doi.org/10.1086/519254>

- Lovering, A. M., & Reeves, D. S. (2011). CHAPTER 12 - Aminoglycosides and aminocyclitols. En R. G. Finch, D. Greenwood, S. R. Norrby, & R. J. Whitley (Eds.), *Antibiotic and Chemotherapy* (Ninth Edition) (pp. 145–169). London: W.B. Saunders. <https://doi.org/10.1016/B978-0-7020-4064-1.00012-9>
- MacDougall, C. (2018). Aminoglycosides. En *Goodman & Gilman's: The Pharmacological Basis of Therapeutics* (13a ed.). McGraw-Hill Medical. Recuperado de <https://accesspharmacy-mhmedical.com.ezproxy.sibdi.ucr.ac.cr/content.aspx?sectionid=172485100&bookid=2189&jumpsectionID=194554114&Resultclick=2#1154986825>
- Maddison, J. E., Watson, A. D. J., & Elliott, J. (2008). Chapter 8 - Antibacterial drugs. En JILL E Maddison, S. W. Page, & D. B. Church (Eds.), *Small Animal Clinical Pharmacology (Second Edition)* (pp. 148–185). Edinburgh: W.B. Saunders. <https://doi.org/10.1016/B978-070202858-8.50010-5>
- Marks, S. L., Rankin, S. C., Byrne, B. A., & Weese, J. S. (2011). Enteropathogenic Bacteria in Dogs and Cats: Diagnosis, Epidemiology, Treatment, and Control. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 25(6), 1195–1208. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2011.00821.x>
- Marks, S. L. (2013). Chapter 11 - Diarrhea. En R. J. Washabau & M. J. Day (Eds.), *Canine and Feline Gastroenterology* (pp. 99–108). Saint Louis: W.B. Saunders. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4160-3661-6.00011-0>
- Martin, R. J. (1989). Small animal therapeutics. Butterworth & Co. Recuperado de <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&scope=site&db=nlebk&db=nlabk&AN=873496>
- Mobley, W. C. (2013). Dispersed Systems. En M. M. Amiji, T. J. Cook, & W. C. Mobley (Eds.), *Applied Physical Pharmacy*, 2e (Vols. 1–Book, Section). New York, NY: McGraw-Hill Education. Recuperado de accesspharmacy.mhmedical.com/content.aspx?aid=1102748861
- Moghimpour, E., Salimi, A., Rezaee, S., Balack, M., & Handali, S. (2014). Influence of Flocculating Agents and Structural Vehicles on the Physical Stability and Rheological Behavior of Nitrofurantoin Suspension. *Jundishapur Journal of*

- Natural Pharmaceutical Products*, 9(2). Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4036373/>
- Nash, R. A. (2013). Suspensions. En *Encyclopedia of pharmaceutical science and technology* (Fourth edition). Boca Raton: CRC Press, Taylor & Francis Group.
- National Center for Biotechnology Information (NCBI). PubChem Compound Database; (2019). Framycetin. CID=8378. Recuperado el 13 de enero de 2019, de <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/8378>
- O'Neil, M. J., Heckelman, P. E., Dobbelaar, P. H., Roman, K. J., Kenny, C. M., Karaffa, L. S., & Royal Society of Chemistry (Great Britain) (Eds.). (2013). *The Merck index: an encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals* (15th ed). Cambridge, UK: Royal Society of Chemistry.
- Papich, M. G. (2016). *Saunders Handbook of Veterinary Drugs (Fourth Edition)* (pp. 479, 450, 559–560). St. Louis: W.B. Saunders. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-24485-5.00409-5>
- Park, S.-J., & Seo, M.-K. (2011). Chapter 2 - Solid-Gas Interaction. En S.-J. Park & M.-K. Seo (Eds.), *Interface Science and Technology* (Vol. 18, pp. 59–145). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-375049-5.00002-5>
- Park, S.-A., Lee, S., & Kim, W.-S. (2015). Polymorphic Crystallization of Sulfamerazine in Taylor Vortex Flow: Polymorphic Nucleation and Phase Transformation. *Crystal Growth & Design*, 15(8), 3617–3627. <https://doi.org/10.1021/acs.cgd.5b00002>
- Penkavova, V., Guerreiro, M., Tihon, J., & Teixeira, J. A. C. (2015). Deflocculation of kaolin suspensions - The effect of various electrolytes. *Applied Rheology*; ETH Zurich. <https://doi.org/10.3933/applrheol-25-24151>
- Piriyaarasarth, S., & Sriamornsak, P. (2011). Flocculating and suspending properties of commercial citrus pectin and pectin extracted from pomelo (*Citrus maxima*) peel. *Carbohydrate Polymers*, 83(2), 561–568. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.08.018>
- Plumb, D. (2018). *Plumb's Veterinary Drug Handbook: Desk* (9a ed.). Wiley-Blackwell. Recuperado de <https://www.wiley.com/en->

[us/Plumb%27s+Veterinary+Drug+Handbook%3A+Desk%2C+9th+Edition-p-9781119344452](http://www.pgrweb.go.cr/scij/Busqueda/Normativa/Normas/nrm_texto_completo.aspx?param1=NRTC&nValor1=1&nValor2=59896&nValor3=75461¶m2=1&strTipM=TC&lResultado=4&strSim=simp)

Poder Ejecutivo. (2006). Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 11.03.39:06 Productos Farmacéuticos. Reglamento de Validación de Métodos Analíticos para la Evaluación de la Calidad de los Medicamentos, Pub. L. No. 188–2006. Recuperado de http://www.pgrweb.go.cr/scij/Busqueda/Normativa/Normas/nrm_texto_completo.aspx?param1=NRTC&nValor1=1&nValor2=59896&nValor3=75461¶m2=1&strTipM=TC&lResultado=4&strSim=simp

Poder Ejecutivo (2007). Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 11.03.47:07 Productos Farmacéuticos, Medicamentos para Uso Humano, Verificación de la Calidad, Pub. L. No. 214–2007. Recuperado de http://www.pgrweb.go.cr/scij/Busqueda/Normativa/Normas/nrm_texto_completo.aspx?param1=NRTC&nValor1=1&nValor2=63033&nValor3=72240&strTipM=TC

Poder Ejecutivo (2011a). Reglamento de Registro y Control de Medicamentos Veterinarios, Pub. L. No. N° 28861-MAG (2001). Recuperado de http://www.pgrweb.go.cr/scij/Busqueda/Normativa/Normas/nrm_texto_completo.aspx?param1=NRTC&nValor1=1&nValor2=44151&nValor3=46519&strTipM=TC

Poder Ejecutivo (2011b). Reglamento General para el Otorgamiento del Certificado Veterinario de Operación, Pub. L. No. N° 34859-MAG. Recuperado de http://www.pgrweb.go.cr/scij/Busqueda/Normativa/Normas/nrm_texto_completo.aspx?param1=NRTC&nValor1=1&nValor2=64426&nValor3=84774&strTipM=TC

Poder Ejecutivo (2015). Resolución 257-2010 (COMIECO-LIX): Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 65.05.51:08 Medicamentos Veterinarios y Productos Afines. Requisitos Registro y Control (anexo 1) y Acuerdos Conexos RTCA 65.05.51:08 (anexo 2), Pub. L. No. N° 36605-COMEX-MEIC-MAG Recuperado de

http://www.pgrweb.go.cr/scij/Busqueda/Normativa/Normas/nrm_texto_completo.aspx?param1=NRTC&nValor1=1&nValor2=70451&nValor3=102905¶m2=1&strTipM=TC&IResultado=2&strSim=simp

- Pomba, C., Rantala, M., Greko, C., Baptiste, K. E., Catry, B., van Duijkeren, E., Törneke, K. (2017). Public health risk of antimicrobial resistance transfer from companion animals. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 72(4), 957–968. <https://doi.org/10.1093/jac/dkw481>
- Rendle, D. I., & Page, S. W. (2018). Antimicrobial resistance in companion animals. *Equine Veterinary Journal*, 50(2), 147–152. <https://doi.org/10.1111/evj.12785>
- Riviere, J. E., & Papich, M. G. (Eds.). (2017). *Veterinary pharmacology and therapeutics* (Tenth edition). Hoboken, NJ: John Wiley & Sons Inc.
- Romanski, F. S., Jayjock, E., Muzzio, F. J., & Tomassone, M. S. (2011). Important Factors in the Size Reduction of Polymer-Stabilized Drug Particle Suspensions Using High-Pressure Homogenization. *Journal of Pharmaceutical Innovation*, 6(2), 97–106. <https://doi.org/10.1007/s12247-011-9107-5>
- Rothon, R. (2017). China Clay or Kaolin. En R. Rothon (Ed.), *Fillers for Polymer Applications* (pp. 161–175). Cham: Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-28117-9_80
- Rowe, R. C., Sheskey, P. J., & Quinn, M. E. (Eds.). (2009). Handbook of pharmaceutical excipients: (6th ed). London; Chicago: American Pharmacists Association (APhA) /Pharmaceutical Press.
- Sandmann, B. J., Dash, A. K., Al-Achi, A., & Greenwood, R. (2013). Ionic Equilibria and Buffers. En M. M. Amiji, T. J. Cook, & W. C. Mobley (Eds.), *Applied Physical Pharmacy*, 2e (Vols. 1–Book, Section). Recuperado de accesspharmacy.mhmedical.com/content.aspx?aid=1102747954
- Sainz-Díaz, C. I., Francisco-Márquez, M., & Soriano-Correa, C. (2018). Polymorphism, Intermolecular Interactions, and Spectroscopic Properties in Crystal Structures of Sulfonamides. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 107(1), 273–285. <https://doi.org/10.1016/j.xphs.2017.10.015>

- Saldarriaga Quintero, E., Echeverri-Toro, L., & Ospina Ospina, S. (2015). Factores clínicos asociados a multirresistencia bacteriana en un hospital de cuarto nivel. *Infectio*, 19(4), 161–167. <https://doi.org/10.1016/j.infect.2015.04.003>
- SENASA Servicio Nacional de Salud Animal. (s/f). Dirección de Medicamentos Veterinarios. Recuperado el 1 de diciembre de 2018, de <http://www.senasa.go.cr/institucion/organizacion/direcciones-nacionales/direccion-de-medicamentos-veterinarios>.
- SENASA (2009). Declara como oficiales, bajo las normas y directrices del Servicio Nacional de Salud Animal las labores que realizan Médicos Veterinarios, N° SENASA-DG-R011-2009 §. Recuperado de http://www.pgrweb.go.cr/scij/Busqueda/Normativa/Normas/nrm_texto_completo.aspx?param1=NRTC&nValor1=1&nValor2=65485&nValor3=76531&strTipM=TC
- Sharaf, M. H. M., Sanchez, A. L., White, P. A., & Manning, R. G. (2002). Tlc Separation and Identification of Neomycin Sulfate, Polymyxin B Sulfate, and Bacitracin Zinc in Ointments. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 25(6), 927–935. <https://doi.org/10.1081/JLC-120003270>
- Siepmann, J., Rungseevijitprapa, W., Siepmann, F., & Paeratakul, O. (2010). Disperse Systems. En A. T. Florence & J. Siepmann (Eds.), *Modern Pharmaceutics* (5a ed., Vol. 1). Boca Raton, FL: CRC Press.
- Simone, R. M., & Popino, R. P. (1955). The stability of neomycin in several pharmaceutical preparations. *Journal of the American Pharmaceutical Association*, 44(5), 275–280. <https://doi.org/10.1002/jps.3030440507>
- Sinko, P. J., & Singh, Y. (Eds.). (2011). Martin's physical pharmacy and pharmaceutical sciences: physical chemical and biopharmaceutical principles in the pharmaceutical sciences (6th ed). Baltimore, MD: Lippincott Williams & Wilkins.
- Smith, M., King, C., Davis, M., Dickson, A., Park, J., Smith, F., Flowers, P. (2018). Pet owner and vet interactions: exploring the drivers of AMR. *Antimicrobial*

Resistance and Infection Control, 7. <https://doi.org/10.1186/s13756-018-0341-1>

- Starov, V. (2013). Wetting. En T. Tadros (Ed.), *Encyclopedia of Colloid and Interface Science* (pp. 1399–1422). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-20665-8_45
- Stypulkowska, K., Blazewicz, A., Fijalek, Z., Warowna-Grzeskiewicz, M., & Srebrzynska, K. (2013). Determination of neomycin and related substances in pharmaceutical preparations by reversed-phase high performance liquid chromatography with mass spectrometry and charged aerosol detection. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 76, 207–214. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2012.12.025>
- Swarbrick, J., Rubino, J., & Rubino, O. (2006). Coarse Dispersions. En D. B. Troy & P. Beringer (Eds.), *Remington: the science and practice of pharmacy* (21. ed). Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- Sweetman, S. C. (Ed.). (2009). *Martindale: the complete drug reference* (36. ed). London: Pharmaceutical Press.
- Tadros, T. (2011). Interparticle interactions in concentrated suspensions and their bulk (Rheological) properties. *Advances in Colloid and Interface Science*, 168(1), 263–277. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2011.05.003>
- Tadros, T. (2013). Suspensions. En T. Tadros (Ed.), *Encyclopedia of Colloid and Interface Science* (pp. 1334–1388). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-20665-8_44
- Tadros, T. (2014). Chapter 2 - Colloid and interface aspects of pharmaceutical science. En H. Ohshima & K. Makino (Eds.), *Colloid and Interface Science in Pharmaceutical Research and Development* (pp. 29–54). Amsterdam: Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-62614-1.00002-8>
- Trevor, A. J., Katzung, B. G., & Kruidering-Hall, M. (2015). *Katzung & Trevor's Pharmacology: examination & board review* (11th edition). New York: McGraw-Hill Medical, Lange. Recuperado de

- <http://accesspharmacy.mhmedical.com.ezproxy.sibdi.ucr.ac.cr:2048/content.aspx?bookid=1568§ionid=95700697>. Accessed December 02, 2018.
- United States Pharmacopeial Convention. (2018). *U.S. Pharmacopeia National Formulary 2017: USP 41 NF 36* (Vols. 1–5). Rockville: United States Pharmacopeial Convention.
- Urbansky, E. T., & Schock, M. R. (2000). Understanding, Deriving, and Computing Buffer Capacity. *Journal of Chemical Education*, 77(12), 1640. <https://doi.org/10.1021/ed077p1640>
- Valdés, S., & Ángel, M. (2017). La resistencia microbiana en el contexto actual y la importancia del conocimiento y aplicación en la política antimicrobiana. *Revista Habanera de Ciencias Médicas*, 16(3), 402–419.
- van Bambeke, F., Mingeot-Leclercq, M.-P., Glupczynski, Y., & Tulkens, P. M. (2017). 137 - Mechanisms of Action. En J. Cohen, W. G. Powderly, & S. M. Opal (Eds.), *Infectious Diseases (Fourth Edition)* (pp. 1162-1180.e1). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-7020-6285-8.00137-4>
- Varma, R. J., & Gaikwad, B. G. (2008). Spectrophotometric method for estimation of aliphatic primary amines in biological samples. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24(4), 573–576. <https://doi.org/10.1007/s11274-007-9499-z>
- Wheeler, D. J. (2003). How to Establish Manufacturing Specifications. *ASQ Statistics Division Special Publication*. Recuperado de <http://asq.org/statistics/2003/05/how-to-establish-manufacturing-specifications.pdf>
- World Health Organization WHO. (1986). Accelerated Stability Studies of Widely Used Pharmaceutical Substances Under Simulated Tropical Conditions (No. WHO/PHARM/86.529. Unpublished) (p. 119). Geneva. Recuperado de <http://apps.who.int/medicinedocs/en/d/Jh1808e/>
- World Health Organization WHO. (2018). Stability testing of active pharmaceutical ingredients and finished pharmaceutical products - Annex 10 (Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations No. No.1010)

(pp. 309–351). Recuperado de https://extranet.who.int/prequal/sites/default/files/documents/TRS1010_Annex10.pdf

- Yang, S. S., & Guillory, J. (1972). Polymorphism in sulfonamides. *Journal of pharmaceutical sciences*, 61, 26–40. <https://doi.org/10.1002/jps.2600610104>
- Yu, L. X., Amidon, G., Khan, M. A., Hoag, S. W., Polli, J., Raju, G. K., & Woodcock, J. (2014). Understanding Pharmaceutical Quality by Design. *The AAPS Journal*, 16(4), 771–783. <https://doi.org/10.1208/s12248-014-9598-3>
- Zhao, G. H., Kapur, N., Carlin, B., Selinger, E., & Guthrie, J. T. (2011). Characterisation of the interactive properties of microcrystalline cellulose–carboxymethyl cellulose hydrogels. *International Journal of Pharmaceutics*, 415(1), 95–101. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2011.05.054>
- Zhang, G. G. Z., Gu, C., Zell, M. T., Burkhardt, R. T., Munson, E. J., & Grant, D. J. W. (2002). Crystallization and transitions of sulfamerazine polymorphs. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 91(4), 1089–1100. <https://doi.org/10.1002/jps.10100>
- Zhang, X., Wang, C., Zhou, L., Yang, W., Zhou, L., Bao, Y., Yin, Q. (2018). Effects of Hydrogen Bond Acceptor Ability of Solvents on Molecular Self-Assembly of Sulfadiazine Solvates. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 107(11), 2823–2828. <https://doi.org/10.1016/j.xphs.2018.06.026>
- Ziółkowska, D., Shyichuk, A., Karwasz, I., & Witkowska, M. (2009). Adsorption of Cationic and Anionic Dyes onto Commercial Kaolin. *Adsorption Science & Technology*, 27(2), 205–214.

9. Anexos

Diagrama de Ishikawa

CONTROL DE CALIDAD

PRODUCTO

- Metodología de análisis de materia prima incompleta
- Falta de reactivos requeridos para algunos análisis de materia prima según USP y BP.
- Falta método para determinar la potencia de neomicina
- Falta especificación y método para determinar la viscosidad
- No se tienen especificaciones de densidad
- Problemas en la obtención de la muestra
- Rápida sedimentación y adherencia al empaque primario
- Condición de las columnas cromatográficas
- Sesgo analítico no cuantificado

- Uso de materia prima almacenada en condiciones no adecuadas.
- Capacidad amortiguadora no adecuada
- Diseño de la fórmula no validado
- Presentaciones comerciales con material de empaque diferente
- No existe información de estabilidad

Inestabilidad de la Suspensión

- Fallas históricas recurrentes en el homogenizador
- Falta de mantenimiento preventivo oportuno
- Dificultad para fabricar lotes mayores a 100L.
- Las cámaras de estabilidad no cuentan con un programa de mantenimiento
- Sesgo analítico no cuantificado

- No se tiene establecido un tiempo de manufactura por tamaño de lote
- No está establecido un equipo específico para el producto
- Parámetros de fabricación no documentados
- Falta de documentación de ajustes realizados
- Adición de materias primas en una secuencia no apropiada
- No hay garantía de la precisión del dispensado
- Incorporación de preservantes no adecuada
- No está definido un tiempo de reposo del granel antes del llenado
- Uso de bomba manual en proceso de llenado
- El proceso de toma de muestras no se encuentra estandarizado

MÁQUINAS

PROCESO