

51941
1
2ej

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

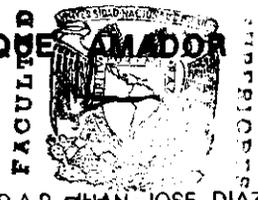


FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA

FABRICACION DE UN BOLO DE LIBERACION
PROLONGADA CON SULFAMETAZINA SODICA
PARA EL TRATAMIENTO DE COCCIDIOSIS EN
CABRAS

T E S I S I N A

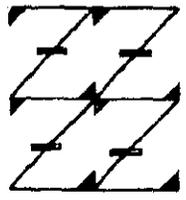
QUE PARA OBTENER EL DIPLOMA DE
**ESPECIALIZACION EN PROCESOS
FARMACEUTICOS**
P R E S E N T A :
Q.F.B. ENRIQUE AMADOR GONZALEZ



ASESORES: D.A.R. ~~ZUAN~~ JUAN-JOSE DIAZ ESQUIVEL
DRA. RAQUEL LOPEZ ARELLANO
DE PC
INVESTIGACION

27/5/23

UNAM
FES
ZARAGOZA



LO ROMANO EJE
DE NUESTRA REFLEXION

MEXICO, D. F.

1999

TESIS CON
LLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO

DR. JORGE TÓRTORA PÉREZ

DRA. RAQUEL LÓPEZ ARELLANO

D.A.R. JUAN JOSÉ DÍAZ ESQUIVEL

M.I.CI ARMANDO CERVANTES SANDOVAL

Q.F.B. LUIS ESTRADA FLORES

AGRADECIMIENTOS

Al D.A.R. Juan José Díaz Esquivel y a la Dra. Raquel López Arellano por su intensa labor en este proyecto de investigación, y por el apoyo que me han brindado siempre.

Al Dr. Jorge Tórtora Pérez por el apoyo profesional que brindó para la realización de este trabajo de investigación y por sus interesantes propuestas para el producto. Agradezco también el tiempo que dedicó a la revisión de esta tesina y sus valiosos comentarios.

Al M.V.Z. Oscar Chávez y a la M.V.Z. Angélica Garza por su generosa contribución al desarrollo del proyecto. Agradezco sinceramente su atención al cuidado de las cabras y a la realización de los conteos de oocistas.

Al Laboratorio de Microscopia Electrónica de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. En especial al Dr. Eliseo Hernández Baumgarten y al Técnico Rodolfo Robles Gómez. Agradezco el tiempo y el trabajo que dedicaron a la preparación y observación de numerosas muestras. Además a la toma, revelado, impresión y análisis de las excelentes micrografías que aparecen en la tesina.

Al M. en C. Armando Cervantes Sandoval y al Q.F.B. Luis Estrada Flores por su cuidadosa revisión del trabajo.

A la Q.F.B. Angélica María Mendoza Angeles, a la Q.F.B. Margot Gómez Mirón y a la Q.F.B. Ana Belem Trujeque García, por el tiempo y el esfuerzo que dedicaron al proyecto.

A CONACYT por su apoyo a la infraestructura del Laboratorio de Enseñanza Multidisciplinaria de Farmacia. Agradezco la beca de apoyo para realizar este trabajo.

Al PAPIIT por su apoyo al programa de los bolos.

A Becton Dickinson de México, quien amablemente donó el equipo necesario para realizar las tomas de muestra.

A Helm de México e International Química Carter por la donación de la Sulfametazina Sódica necesaria para la fabricación de los bolos.

A Importadora y Manufacturera Bruluart, por el apoyo que siempre ha brindado a la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán.

DEDICATORIA

*A mi esposa Lucía y a mi hija Andrea,
Que han iluminado mi vida
Y la han llenado de amor y alegría.*

*A mis Padres y Hermanos por todo lo bueno que
Representan para mí y para mi familia.*

*A María Fernanda Amador y a Jorge Luis Real
Pequeños hoy, Gigantes Mañana.*

*A Mary, Carmen, Chucho, Clara, Gloria, Adrián,
José Luis, Nena, Luis, Chava y Karla.
Que me han mostrado lo importante que es la Familia*

*A Estrella, Verence, Alicia, Lalo, Lilia
Celso, Saúl, Miguel, Carmen, Juliana y Fili.
Mis Compañeros de la Especialidad*

INDICE

	Página
Introducción	IV
1. Formas de Dosificación para Animales	
1.1. Fundamentos	1
1.2. Tabletas y Bolos	2
1.3. Bolos de Acción Prolongada	3
2. Dispositivos de Retención en Rumen RRD's	
2.1. Principios Fisiológicos	5
2.2. Oportunidades para la Liberación de Activos	7
2.3. Razones para el Éxito Actual de los RRD's	8
2.4. Principios que Gobiernan el Diseño y la Función de los RRD's	9
2.4.1. Regurgitación	9
2.4.2. Ambiente del Rumen	11
2.4.3. Resistencia a Activos	11
2.4.4. Consideraciones Regulatorias	12
2.5. Dispositivos de Liberación Sostenida	13
2.5.1. Dispositivos de Liberación Retardada	13
2.5.2. Dispositivo de Liberación Continua	16
2.6. Dispositivos de Liberación Intermitente	21
3. Matrices Inertes Insolubles	24
3.1. Matrices Lipídicas	25
3.1.1. Granulación por Fusión	26
3.1.2. Excipientes Lipídicos	27
3.1.3. Influencia del Proceso de Granulación	28
3.1.4. Influencia del Excipiente Lipídico	30
3.1.5. Influencia de la Cantidad de Excipiente Lipídico	31
3.1.6. Influencia de la Fuerza de Compresión	32
3.1.7. Efecto de la Concentración del Principio Activo	32

3.1.8. Efecto de la Porosidad	33
3.1.9. La Tortuosidad	33
3.1.10. Efecto de la Estructura Interna	34
3.1.11. Influencia de la Solubilidad del Principio Activo	35
3.2. Formación de Matrices Lipídicas de Liberación Sostenida dentro de Cápsulas de Gelatina Dura en un Lecho Fluido	36
3.3. Preparación de Microesferas	37
3.4. Sistemas de Núcleo en Copa	39
4. Coccidiosis	41
4.1. Cuadro Clínico	43
4.2. Diagnóstico	43
4.3. Tratamiento	43.
5. Objetivos	44
6. Plan experimental	44
7. Métodos	
7.1. Primera Etapa	
7.1.1. Evaluación de los Excipientes	45
7.2. Segunda Etapa	46
7.2.1. Método I: Compresión Directa	46
7.2.2. Método II: Granulación por Fusión	47
7.3. Tercera Etapa	49
7.3.1. Primera Compresión	49
7.3.2. Segunda Compresión	49
7.4. Prueba de Liberación in vitro	50
7.4.1. Integridad de los Bolos	53
7.5. Prueba de Liberación in vivo	54
7.5.1. Administración de los Bolos	54
7.5.2. Perfiles Plasmáticos	55
7.5.3. Cuenta de Ooquistes	55
7.5.4. Estudios de Rayos - X	55
7.5.5. Bolos del Rumen	56

8. Resultados y Discusión	
8.1. Primera Etapa	
8.1.1. Excipientes	57
8.2. Segunda Etapa	59
8.2.1. Compresión Directa	59
8.2.2. Granulación por Fusión	63
8.3. Tercera Etapa	
8.3.1. Primera Compresión	65
8.3.2. Segunda Compresión	66
8.4. Liberación in vitro	67
8.4.1. Integridad de los Bolos	69
8.5. Liberación in vivo	
8.5.1. Perfiles Plasmáticos de Sulfametazina	74
8.5.2. Conteos de Ooquistes	75
8.5.3. Consumo de Alimento y Ganancia de Peso de los Animales	76
8.5.4. Estudios de Rayos - X	78
8.5.5. Bolos del Rumen	79
9. Conclusiones	84
10. Bibliografía	86
11. Anexos	90

INTRODUCCIÓN

El campo de la salud animal proporciona una gran oportunidad para la introducción de nuevos dispositivos para la liberación controlada de fármacos. Estos dispositivos emplean elementos nuevos e interesantes de otros campos para estos sistemas. (23)

El éxito que pueda tener cualquier programa de tratamiento para animales, igual que para el humano, depende de la administración del medicamento adecuado en la dosis correcta al animal o grupo de animales, en el momento apropiado y con la frecuencia necesaria. (39)

Debido a las variaciones en la morfología y condiciones de manejo de los animales sujetos a tratamiento y a la capacidad económica del ganadero, el fabricante de productos veterinarios desarrolla diversas formas de dosificación y sistemas de liberación para el fármaco. (39)

En el caso de los rumiantes y gracias a las características fisiológicas únicas de estos animales productores de alimento, se pueden desarrollar sistemas de liberación de fármacos.

Los rumiantes poseen un órgano digestivo anterior llamado reticulorumen, el cual funciona como sitio inicial para el "rompimiento" microbiano de celulosa y los demás nutrientes complejos. Un dispositivo que se mantenga allí empleando los medios apropiados, puede servir como una plataforma para la liberación prolongada de medicamentos profilácticos o terapéuticos.

Desde los albores de la humanidad hasta nuestros días, la cabra ha constituido una de las especies domésticas más importantes para el hombre, como fuente de alimento (carne y leche), para su vestimenta (pelos y pieles), así como para el control de las malas hierbas y como productora de abono orgánico de alta calidad y aún como animal de ornato.

La coccidiosis es una enfermedad infecciosa y contagiosa que se caracteriza clínicamente por diarrea con sangre y anemia. Generalmente se presenta en animales jóvenes en forma aguda, mientras que en los adultos es crónica. La transmisión se realiza por la ingestión de alimentos y agua contaminada con ooquistes. (32)

En este trabajo se desarrolló un bolo de retención en rumen para controlar la coccidiosis en cabras. Esta forma de dosificación liberó sulfametazina durante un periodo prolongado de tiempo y mostró efectos muy positivos para el tratamiento de la enfermedad.

Se evaluó la funcionalidad de un sistema tipo matriz lipídica conteniendo a la sulfametazina sódica y a un agente densificador (hierro reducido). A este sistema se le dio la forma de un bolo para animales. Para elaborarlo se emplearon dos métodos: la compresión directa y la granulación por fusión. A los bolos se les evaluaron las características farmacotécnicas y la liberación de sulfametazina in vitro. Los bolos se administraron a un conjunto de cabras y se determinaron las concentraciones plasmáticas del fármaco por más de veinte días. Además, se evaluaron importantes parámetros como las cuentas de ooquistes, el consumo de alimento y la ganancia de peso de los animales. Se emplearon estudios de rayos-x para evidenciar la presencia del bolo al interior de los animales, y en diversas etapas del trabajo se realizaron estudios en el microscopio electrónico de barrido para evaluar la condición de los bolos. La realización del trabajo requirió la unión de esfuerzos de profesores y estudiantes de diversas áreas para que la multidisciplinaria se hiciera realidad.

1. FORMAS DE DOSIFICACIÓN PARA ANIMALES

La administración de medicamentos a los animales puede realizarse mediante la dosificación individual de un animal o basándose en una masa a través del alimento o el agua de beber del animal. (4)

1.1. Fundamentos

La forma de dosificación consiste de un vehículo que contiene al activo, hecho al gusto del cliente, para un compuesto con características físicas y químicas específicas. Los animales son medicados con una variedad de formas de dosificación (Tabla 1), y por varias rutas o vías de administración (Tabla 2). (4)

Tabla 1. Formas de Dosificación para la Salud Animal (4)

Aerosoles	Ungüentos
Bolos y Tabletas	Pastas y Geles
Cápsulas	Polvos
Cremas	Soluciones
Gránulos	Supositorios
Implantes	Suspensiones

Tabla 2. Rutas de Administración (4)

Oral	Oftálmica
○ Por Boca	
○ Por Tubo Estomacal	
○ Intra-Ruminalmente	Rectal
Parenteral	
□ Intravenosa	Vaginal
□ Subcutánea	
□ Intramuscular	
□ Intra-Articular	
□ Intraperitoneal	Intramamaria
Tópica	
> Efecto Dérmico local	
> Efecto Sistémico	Inhalación

En ocasiones, la administración de medicamentos a animales requiere de una forma especial que se ajuste a dispositivos mecánicos de dosificación. La liberación del activo en un sitio específico puede obligar el uso de recubrimiento y/o vehículos especiales, para promover la pronta acción o para prevenir la destrucción metabólica.

1.2. Tabletas y Bolos

En la medicina humana, las formas de dosificación sólidas como las tabletas son el medio más comúnmente utilizado para la administración de un medicamento. La tableta ofrece muchas ventajas sobre otras formas de dosificación como el bajo costo de fabricación por unidad, estabilidad, uniformidad en la dosis, y facilidad en el empaque. (4)

En el caso de los animales, se utiliza comúnmente una *tableta con forma de cápsula o cilíndrica comúnmente denominada "bolo"*. El instrumento usado para sostener el bolo y liberarlo en la boca del animal se denomina "pistola" de bolos. Los bolos, comúnmente llamados "píldoras para caballos", rara vez se administran a caballos debido a la dificultad en el manejo de estos animales, la facilidad con que el caballo puede escupirlos, y la posibilidad de ahogar (atragantar) al caballo. *Los bolos son sin embargo una forma de dosificación útil para ganado vacuno, ovejas y cabras.* (4)

La relación entre el fármaco y el material inerte en un bolo será usualmente mucho mayor que en las tabletas. Esto deja menos espacio para la adición de un diluyente o un material auxiliar para superar objetables características de un activo que puede interferir con la compresión, desintegración, o disolución. Durante la compresión de un bolo, suficiente aire puede ser adsorbido sobre la superficie de la granulación para provocar una severa formación de capas en el bolo. Esto puede observarse en forma de pequeñas explosiones segundos después de que el bolo es expulsado de la matriz, conforme el aire escapa separando la parte superior del bolo. Esto es particularmente cierto con máquinas monopunzónicas. Cuando el volumen de producción lo permite, el uso de equipo más reciente para compresión con multiestaciones con rodillos de precompresión ayudará a superar este problema. (4)

Se puede intentar eliminar este aire ocluido cambiando el tamaño del gránulo, disminuyendo su volumen (aumentando la densidad), ajustando el contenido de humedad, o adicionando un excipiente higroscópico como el sorbitol o polietilenglicol sólido. Las orillas del bolo usualmente muy redondeadas también incrementan la tendencia hacia la formación de capas. (4)

Cuando se fabrican bolos grandes, la extrema profundidad y espesor (anchura) de la cavidad de la matriz pueden fomentar el "puenteo" y un llenado no uniforme.

Esto se puede minimizar modificando el tamaño de partícula y la densidad del gránulo para mejorar el flujo. La adición de un deslizante para mejorar aún más el flujo, también debe ser investigado. Augsburger y Shangraw (1966) reportaron el uso de varias silicas y silicatos con este propósito. (4)

Un tiempo de desintegración de 30 minutos usualmente es considerado un máximo para tabletas sin recubrir. *En el caso de los bolos, debido al incremento en tamaño, la penetración de fluido puede requerir más tiempo, y un periodo tan largo como 50 minutos no debe considerarse irrazonable o excesivo. Es difícil creer que una diferencia en el comienzo de la acción de 30 a 60 minutos puede tener significado práctico.* (4)

Cuando este es el caso, la medicación parenteral debe ser indicada. Este tipo de razonamientos, sin embargo, se utilizan con frecuencia para probar una ventaja competitiva. Cuando los tiempos de desintegración se retardan más de 60 minutos, la adición de un surfactante para ayudar a la humectación del bolo y a la penetración de líquido puede disminuir el tiempo de desintegración. La adición de un material como la celulosa microcristalina proporciona un medio para disminuir el tiempo de desintegración. (4)

El pegado de la granulación a los punzones y matrices durante la compresión es un problema común durante la manufactura de tabletas. *Este problema se complica en la manufactura de bolos debido a la gran área de contacto. Para lograr la máxima efectividad, un lubricante debe estar recubriendo ligeramente la superficie del polvo o gránulos. El sobremezclado disminuirá la eficiencia del lubricante, y por causar resistencia a la humectación, puede incrementar el tiempo de desintegración.* (4)

1.3. Bolos de Acción Prolongada

Uno de los factores limitantes de la duración de la acción de un activo administrado oralmente en humanos es el tiempo de tránsito por el tracto gastrointestinal. Varias técnicas han sido empleadas para desarrollar formas de dosificación oral de acción prolongada, pero una forma de dosificación efectiva por más de 12 horas es extremadamente rara. (4)

Sin embargo, en un rumiante como una vaca u oveja, es posible para objetos sólidos el permanecer en el saco ruminoreticular indefinidamente. La densidad del objeto es el factor crítico determinante de la retención del sólido en el saco. (4)

Existen varias patentes para la medicación de acción prolongada de ruminantes que proporcionan un reservorio del activo en el saco ruminoreticular. *El activo en la forma de bolo, se mantiene en el saco debido a su naturaleza densa.* (4)

Marston (1960 y 1962), en su invención se refiere a "pellets" en la forma de cilindros de aluminio o acero llenados con una mezcla de activo y diluyente o "pellets" formados moldeando y horneando una mezcla de arcilla, activo, y otros ingredientes. Él establece: "la densidad puede ser tan alta como sea practicable, pero como está indicado, se prefiere que se encuentre entre 4.0 y 4.5. El límite superior para la densidad no es critico, y puede establecerse que *mientras mayor sea la densidad será mejor la retención.*"⁽⁴⁾

Estos "pellets" son capaces de permanecer en el saco ruminoreticular por un periodo indefinido de tiempo y pueden ser utilizados para proveer cantidades traza de elementos necesarios como cobalto o cobre. Encambio serán un medio menos práctico de proveer una gran cantidad de activo para un periodo finito de 5 a 10 días.

Patentes subsecuentes tratan con formulaciones de bolos hechas lo suficientemente densas para sumirse en el contenido ruminal y permanecer de esta forma disponible para liberación retardada. *Se considera que es deseable un rango de densidades de 1.5 a 8.0.*⁽⁴⁾

Rednick y Tucker (1970), prepararon *bolos de sulfametazina, sulfatiazol, furazolidona, o cloramfenicol densificados con hierro reducido y/o sulfato de calcio dihidratado.* La velocidad de liberación está gobernada por la cantidad de estearato de magnesio usado. La desintegración puede ser controlada por más de 10 días. Siegrist y colaboradores describen bolos densificados por la adición de bismuto insoluble o sales de bario. La liberación del activo varió de acuerdo a la mezcla de cera y glicerilmonoestearato y/o polietilenglicol usado en los bolos.⁽⁴⁾

Carlson (1977), descubrió un medio para fabricar un bolo de liberación controlada consistente en una matriz soluble en agua pero lentamente digerible (digestible) hecha de sólidos de leche sin desnaturalizar con enlaces cruzados debidos a un tratamiento con formaldehído. Bolos conteniendo sulfonamidas, tetraciclinas, aspirina u organofosforados fueron hechos de esta manera. Una característica única de la patente es una velocidad de liberación prolongada cuando se utiliza en animales con fiebre.⁽⁴⁾

Chou (1978), ha patentado otro bolo que también es retenido en el saco ruminoreticular en virtud de su densidad. Chou usa polvo de hierro para densificar los bolos, como se reportó recientemente por Rednik y colaboradores. Zeína es el principal ingrediente usado para aglutinar (pegar o unir) al activo y disminuir la velocidad de disolución en el contenido ruminal.⁽⁴⁾

Miller y Beadles (1979), reportaron la preparación de un bolo densificado con sulfato de bario conteniendo una combinación de cera y grasa, y un regulador del crecimiento de insectos. La característica inusual de este bolo no es su composición, sino la manera en la cual se logra su propósito. El regulador es lentamente liberado en el rumen y finalmente aparece en el estiércol donde controla la actividad larvívica de artrópodos. (4)

La tesis doctoral de Teel (1979), evalúa el uso de un bolo administrado oralmente al ganado para controlar la garrapata, un parásito externo, por más de 60 días. Los bolos contenían cera de carnauba y polietilenglicol para regular la liberación de "Famphur", y sulfato de bario para mantener el bolo en el rumen. Un número de bolos de acción prolongada comercialmente exitosos ha demostrado las ventajas prácticas de estos como un producto. (4)

2. DISPOSITIVOS DE RETENCIÓN EN RUMEN (RRD's)

2.1. Principios Fisiológicos

Los rumiantes poseen un órgano digestivo anterior llamado reticulorumen, el cual funciona como el sitio inicial para el "rompimiento" microbiano de nutrientes complejos incluida la celulosa. La fermentación activa de bacterias simbióticas y protozoarios realiza el proceso. Los metabolitos de la fermentación así como los propios microorganismos son utilizados por el animal para satisfacer sus propios requerimientos metabólicos para crecimiento, mantenimiento y producción. (23)

El reticulorumen puede ser visualizado como una "cuba" de fermentación de 100 a 200 litros en las vacas y de 10 a 15 litros en las ovejas y cabras. Tiene un orificio de entrada en el extremo proximal del esófago a través del cual entran la comida y la saliva "amortiguadora", y una salida esfínter a través de la cual el contenido del rumen entra al abomaso, o "estómago verdadero", después de pasar a través de un "filtro", el omaso. El tracto digestivo restante es similar al de la mayoría de los mamíferos monogástricos. (23)

Un dispositivo de retención en rumen (RRD del inglés: "Rumen Retention Devices") con una densidad mayor a 2.5g/ml asegura la disposición del RRD en el retículo. Los RRD's que dependen de su geometría para su retención, flotan libremente por toda la extensión del rumen. Los RRD's son administrados oralmente por medio de un dispositivo especial llamado "pistola de bolos". (23)

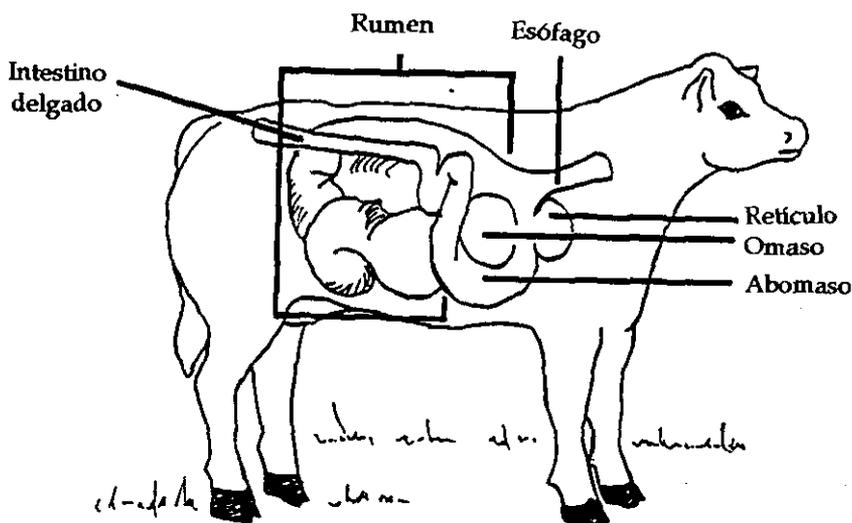


Figura 1. El sistema digestivo de un rumiante mostrando la posición relativa de los órganos digestivos. (23)

El retículorumen proporciona una oportunidad única para la aplicación de sistemas de liberación; un dispositivo mantenido allí por medios adecuados puede servir como una plataforma para la liberación prolongada de medicamentos profilácticos o terapéuticos. (23)

El tracto alimenticio de los rumiantes se extiende antes de su verdadero estómago (abomaso) en una serie de cámaras (rumen, retículo, omaso) Figura 2. Una retención prolongada dentro del retículorumen puede lograrse mediante el control de la densidad de la formulación o el tamaño del dispositivo. El dispositivo o la formulación pueden mantenerse en el retículorumen por días, semanas, meses o años, dependiendo del tiempo de liberación requerido para el fármaco. (31)

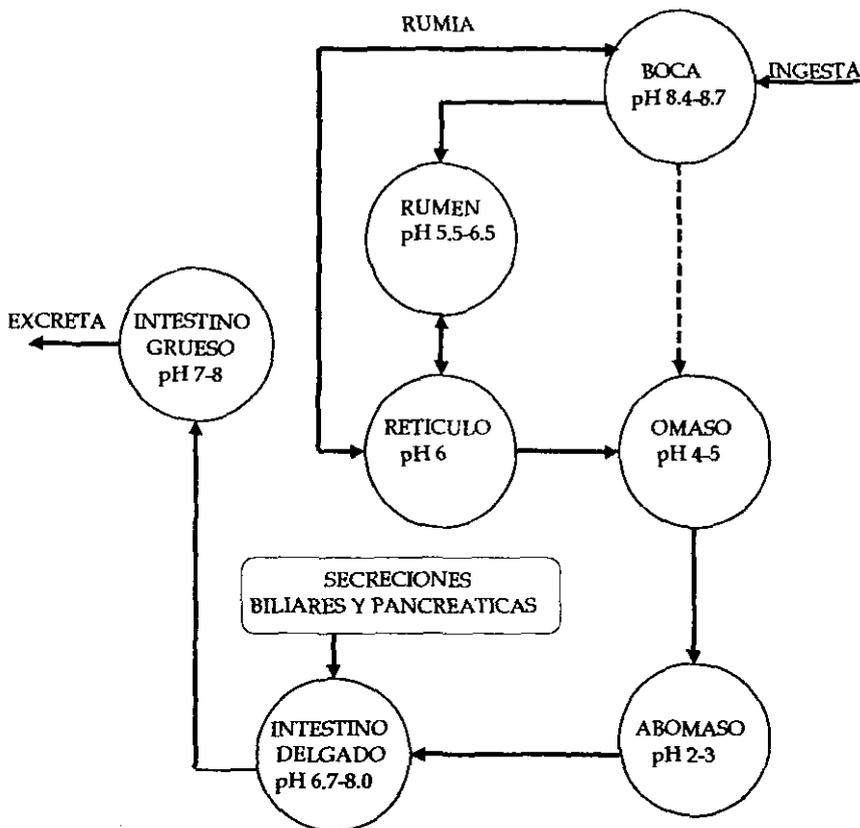


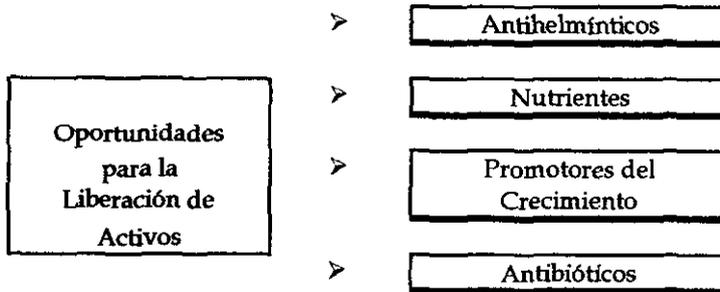
Figura 2. Diagrama del tracto gastrointestinal de los rumiantes (31)

2.2. Oportunidades para la Liberación de Activos

Una variedad de agentes han sido usados en RRD's con propósitos profilácticos o terapéuticos (Tabla 3).

Los dispositivos de retención en rumen pueden asegurar la liberación controlada de un fármaco antihelmíntico durante la temporada de pastoreo. El uso de estos dispositivos está particularmente bien ajustado para el tratamiento de enfermedades parasitarias en rumiantes.(36)

Tabla 3. Grupos de Fármacos Incluidos en RRD's



2.3. Razones para el Éxito Actual de los RRD's

Las siguientes son razones importantes en la generación e interés en los RRD's.

Reducción del estrés debido a la manipulación (manejo) de los Animales. Existen pérdidas económicas debidas a la manipulación repetida de los animales por tratamiento. Estas pérdidas son difíciles de cuantificar pero pueden ser considerables. Reduciendo el número de episodios de manipulación *el ganadero obtendrá un beneficio económico que se observará como un incremento en el peso del animal, mayor producción y una menor tasa de mortalidad total.* (22)

Optimización de programas estratégicos. Los RRD's incorporan prácticas de manejo que serían difíciles de desarrollar periódicamente en el campo. Esto es especialmente cierto con programas de tratamiento antihelmíntico, que han sido desarrollados a un nivel muy sofisticado en muchas partes del mundo. La epidemiología de la infección parasitaria involucra interacciones complejas entre el animal hospedero, el ambiente, y el parásito. Existe un beneficio epidemiológico en la reducción de la contaminación de la pastura resultante de una terapia antihelmíntica proporcionada mediante programas de tratamiento apropiados o mediante el empleo de sistemas de liberación de activos. *El beneficio de la reducción en la reinfección puede durar más que la vida individual del dispositivo o del tratamiento.* Algunos agentes antihelmínticos también son "ovicidas" en el parásito, por lo tanto confieren un bono adicional de reducción en la tasa de reinfección. (23)

2.4. Principios que Gobiernan el Diseño y la Función de los Dispositivos de Retención en Rumen (RRD's)

Los RRD's se agrupan en dos categorías básicas, aquellos que liberan activo de manera constante a lo largo de todo su tiempo de vida en el rumen, *dispositivos de liberación sostenida*, y aquellos que liberan dosis discretas de una manera pulsátil (por medio de pulsos), *dispositivos de liberación intermitente*. Las características fisiológicas y anatómicas únicas de los rumiantes necesitan características de diseño especiales para los RRD's. Los dos problemas mayores que se deben vencer o superar son la regurgitación y las condiciones extremas (pH, actividad enzimática microbiana) en el ambiente del rumen.

2.4.1. Regurgitación

Una función de los rumiantes que es de suma importancia cuando se diseñan RRD's es la "rumia". La rumia es un proceso donde el contenido del rumen que ha sido colectado, masticado, tragado y fermentado durante el pastoreo, es regurgitado y remasticado paulatinamente por el animal. En el ganado vacuno un litro o más puede ser regresado a través del esófago en cada ocasión. *Existen dos formas básicas de evitar la regurgitación de un dispositivo intra-ruminal: haciéndolo lo suficientemente denso para que permanezca en el reticulorumen, o utilizando una geometría que evite su paso de regreso a través del esófago.* (23)

Densidad. Si un dispositivo es lo suficientemente denso, permanecerá en la parte anterior del reticulorumen en el "retículo". Este órgano en los bovinos colecta objetos pesados que pudieran ser tragados inadvertidamente, como clavos, piedras, y objetos semejantes. Las paredes musculosas de este órgano son lo suficientemente duras, vigorosas y resistentes para ofrecer resistencia a pinchazos y perforaciones por objetos filosos. Tales objetos pueden causar reticulitis o enfermedad de la "ferreteria". Casos severos pueden resultar en muerte por la penetración de la pared y el pericardio adyacente. Por lo tanto es razonable evitar partes agudas en un RRD. (23)

La densidad mínima para prevenir la regurgitación varía dependiendo de la dieta si el animal pastorea libremente. Se necesita de una mayor densidad debido a que la motilidad del rumen es mayor en animales que pastan que en aquellos estabulados que reciben dietas más refinadas.

Se ha establecido que una densidad de 2.25 a 3.5 g/ml deberá mantenerse para evitar la regurgitación en animales de pastoreo. Una densidad de 1.8 g/ml probablemente es suficiente para animales estabulados. (23)

Geometría. Varias geometrías han sido utilizadas para prevenir la regurgitación o el paso de dispositivos una vez que están en el reticulorumen. Los dispositivos han sido diseñados para desplegarse, desdoblarse, extenderse o desenrollarse en el rumen (geometría variable), dando lugar a una gama abundante de formas, incluyendo "aspas" (bastidor) y hojas plegables. Para facilitar la dosificación, la geometría eventual se contiene mediante un "seguro" digerible o soluble, como las bandas (correas, cintas, abrazaderas) de celulosa o gelatina, las cuales se desintegran después de entrar en el reticulorumen. En cuanto a la retención se debe considerar lo siguiente: a) Todo lo que un rumiante puede tragar, potencialmente lo puede expeler, y b) Se sabe que las ovejas regurgitan dispositivos más fácilmente que el ganado vacuno. (23)

La regurgitación puede mantenerse en un mínimo mediante la atención cuidadosa al diseño correcto. La Figura 3 muestra diversos ejemplos de dispositivos de liberación prolongada. La configuración "cerrada" puede visualizarse en el lado izquierdo, y la configuración abierta en el lado derecho. (30)

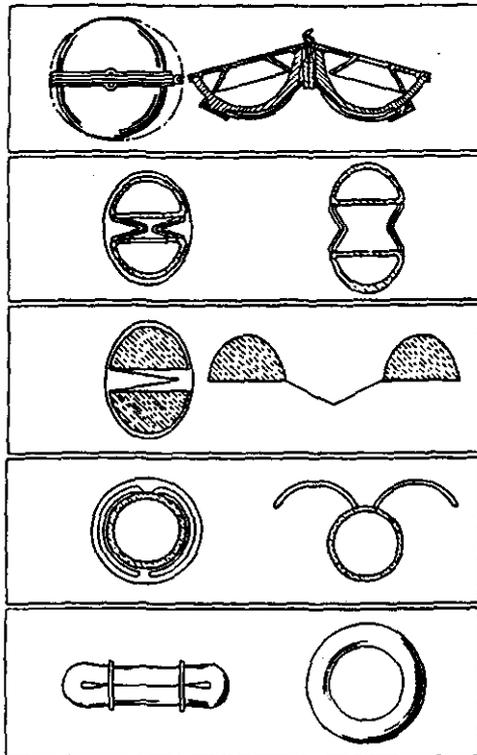


Figura 3. Dispositivos para retención en rumen basándose en geometría (30)

2.4.2. Ambiente del Rumen

Una buena comprensión del ambiente extremo dentro del rumen es necesaria antes de que se pueda diseñar RRD's durables que funcionen con resultados reproducibles. A continuación se resumen algunos de los factores a ser considerados:

pH del Rumen. El pH del rumen puede variar entre 5 y 6.3 unidades en el animal sano. Esto depende principalmente del tipo de dieta, de la especie y de cualidades hereditarias del animal. Esta es una consideración muy importante, ya que cualquier dispositivo que sea sensible a cambios en el pH no será consistente en su funcionamiento. (23)

Atmósfera del Rumen. La atmósfera dentro del rumen es anaeróbica, con condiciones fuertemente reductoras. Hidrógeno, Metano, y Bióxido de Carbono son los principales gases. Los dispositivos deben estar diseñados para soportar estas condiciones; además, estudios *in vitro* pueden no ser indicadores relevantes de a resultados *in vivo*, si un dispositivo es sensible a estas condiciones. (23)

Microflora del Rumen. La microflora simbiótica del rumen ha co-evolucionado para efectuar la predigestión de polisacáridos de difícil de gradación, principalmente celulosas, que conforman la mayor parte de la dieta del rumiante. Los microorganismos a cambio reciben un nicho ambiental confortable. Las enzimas liberadas por dichos microorganismos son capaces de "romper" casi todo dentro del rumen, de manera que materiales inertes capaces de soportar estas sustancias deben utilizarse en los dispositivos. Aún cuando diversos plásticos no durarían mucho en el rumen; polietileno, polipropileno y acero inoxidable son buenas elecciones para las superficies de los dispositivos desarrollados para permanecer dentro del rumen. Nuevamente, los modelos *in vitro* deben usarse con precaución; es posible mantener rumenes artificiales mediante técnicas de fermentación continua en el laboratorio, pero sólo con una gran experiencia y una alta inversión. Es más fácil estudiar el funcionamiento de los dispositivos en los animales "blanco" directamente, especialmente a través del uso de animales de estudio fistulados, que tienen una cánula removible a través de la cual los dispositivos pueden colocarse y removerse del interior del rumen. (23)

2.4.3. Resistencia a los Principios Activos

Mucho se ha escrito acerca de las consecuencias de la terapia antihelmíntica a largo plazo, y de cómo impacta el fenómeno del aumento de la resistencia de los parásitos al principio activo. (23)

El abuso en el uso de los agentes quimioterapéuticos ha llevado al desarrollo de resistencia en poblaciones de "helmintos", especialmente en las áreas de crianza en pastoreo del hemisferio sur. El uso frecuente o prolongado de antihelmínticos está claramente asociado con el problema; la resistencia cruzada entre grupos de compuestos también ha sido demostrada.

La liberación de niveles subterapéuticos del activo por periodos prolongados puede incrementar sustancialmente el riesgo de "presión de selección"; especialmente en la etapa final, o de declive en los niveles de liberación del activo, como es común con la mayoría de los dispositivos de liberación retardada. Este riesgo puede argumentarse también en la dosificación mediante sistemas de liberación intermitente, especialmente cuando se emplea el mismo activo en cada liberación. La elección de intervalos apropiados y la minimización del número de liberaciones debe por lo tanto considerarse juiciosamente. (23)

2.4.4. Consideraciones Regulatorias

Residuos de Activo. Los ruminantes, debido a que son criados principalmente como una fuente de alimento, presentan una consideración adicional para el diseño de los RRD's, el de activo residual en tejidos. Cuando se administran activos a animales productores de carne, un periodo de espera denominado tiempo de "retiro" es prescrito por las agencias regulatorias, antes del cual, el animal no debe ser sacrificado y la carne no debe disponerse para consumo humano. Este periodo de espera varía dependiendo del activo y de la dosis usada. Un RRD debe ser diseñado de forma tal que los residuos de activo no excedan los niveles permisibles al tiempo en que el animal será dispuesto para alimento. De otra forma, periodos de espera indeseablemente prolongados pueden asignarse al dispositivo, impactando adversamente en su uso en el mercado. Dos factores pueden contribuir a tener tiempos de espera prolongados impuestos para RRD's: interrupción incierta en el suministro de activo y la bioacumulación. (23)

Interrupción Incierta. Cualquier sistema para el cual existe una incertidumbre concerniente al tiempo en el cual el activo cesa de ser liberado al animal puede presentar un riesgo, dependiendo de la magnitud de la incertidumbre - mientras mayor sea la incertidumbre, mayor el castigo para el sistema de liberación, expresado como un incremento en el tiempo de espera necesario para asegurar que ya no se detectará en los alimentos derivados del animal tratado. (23)

Bioacumulación: los activos administrados en forma de liberación sostenida o intermitente, si los intervalos son muy pequeños, pueden acumularse en tejidos por arriba de las cantidades registradas para regímenes de dosis sencilla (única).

Esto depende del metabolismo del activo, y los estudios sobre residuos deben realizarse para determinar si esto está pasando. Nuevamente, el castigo por incremento en la acumulación resultará en un aumento en el tiempo de espera. (23)

Impacto Ambiental. Los RRD's deben diseñarse considerando los efectos adversos potenciales. Los dispositivos de liberación sostenida desafían crónicamente al ecosistema con niveles bajos de químicos biológicamente activos, que pueden afectar adversamente a otros organismos; esto puede ser grave, especialmente si el activo posee un amplio espectro de actividad y es lentamente degradado. Los dispositivos de liberación intermitente pueden mitigar este riesgo, logrando que el número de liberaciones se mantenga en el mínimo necesario para lograr el efecto deseado. (23)

Los productos intraruminales al ser eliminados en las heces pueden tener efectos indeseables para el entorno, particularmente cuando actúan sobre los microorganismos de vida libre, de importancia en la degradación de las propias heces y en la calidad orgánica de los suelos.

2.5. DISPOSITIVOS DE LIBERACIÓN SOSTENIDA

La liberación sostenida, liberación prolongada, liberación retardada, y liberación de estado constante (uniforme), son algunos de los términos propuestos para productos que liberan relativamente lento, o cantidades subterapéuticas de activo durante un periodo prolongado de tiempo. *El objetivo de todos estos productos es liberar los agentes activos tan cerca de una cinética de orden cero como sea posible, sin embargo, existen varios grados de éxito.* (23)

Liberación Sostenida o Prolongada, se elige como término general para los dispositivos discutidos en esta sección, significando la liberación de niveles bajos del medicamento durante un periodo prolongado de tiempo.

Liberación Continua se refiere a dispositivos con control interno, predominantemente, de tipo mecánico u osmótico, que se acercan más al objetivo de orden cero.

2.5.1. Dispositivos de Liberación Retardada

Dispositivos Tipo Matriz. Estos dispositivos consisten de un acarreador inactivo comprimido, o matriz, dentro de la cual se encuentra disperso el agente activo. La disolución de la matriz permite la liberación lenta (retardada) del medicamento. Estos dispositivos están sujetos a cambios en el ambiente del rumen como el pH, la abrasión, o el tipo de alimento presente. (23)

La reducción de los niveles de activo liberado conforme pasa el tiempo es una de las características de estos sistemas.

Ejemplos de este tipos son el "*Span Bolet*" (*Smithkline*), el cual libera sulfametazina durante 5 días para el control de bacteriosis en el ganado vacuno y en cabras, Figura 4a, El *bolo cromomínico* (*Virbac*), el cual emplea una matriz polimérica para liberar el antihelmíntico Levamisol durante la temporada de pastoreo para controlar la infección por helmintos, y el *bolo "rumensin"* (*Lilly*), el cual emplea una matriz de polímero comprimido(a) confinada dentro de un tubo de acero, abierto en ambos extremos y protegido mediante un "escudo" plástico, para liberar un agente regulados de la microflora ruminal (coccidiostato), el "monensin" sódico al ganado vacuno por más de 150 días, Figura 4c. El diseño del tubo puede superar el problema del tiempo, presentando un área superficial constante de la matriz a ser erosionada por el fluido ruminal, logrando una erosión uniforme. (23)

Dispositivos de Difusión. Los dispositivos de difusión controlan la liberación del activo por medio de su difusión desde una matriz estacionaria, frecuentemente a través de una membrana semipermeable. Estos dispositivos funcionan de acuerdo a la ley de Fick para difusión, y la reducción en la concentración de activo en la matriz es proporcional a la raíz cuadrada del tiempo.

Un ejemplo de un RRD con este mecanismo es el bolo de liberación sostenida de morantel (MSRB) o "*Paratect*" (*Pfizer*), el cual libera el antihelmíntico morantel para el control de parásitos durante la temporada de pastura, Figura 4b. Los RRD's listados arriba dependen de su densidad para ser retenidos rumen. (23)

Vandamme y colaboradores (1996), fabricaron RRD's tipo matriz para liberar un antihelmíntico por un periodo de 4-5 meses, utilizando la sal de levamisol. Con el objeto de preparar un RRD de liberación controlada con 60% de levamisol y 40% de una matriz polimérica, estudiaron la influencia de la adición de polietilenglicol 6000 y/o hierro en polvo en una matriz de pol(ϵ -caprolactona) sobre la liberación del fármaco antihelmíntico. Para fabricar los dispositivos, emplearon tubos de cobre y tapas de teflón y polietileno que fueron pegadas con cianoacrilato. La Figura 5 muestra los dispositivos fabricados por estos investigadores. (36)

Figura 4. Ejemplos de RDD's. (a) Dos bolos "Spanbolet" de sulfametazina, el más grande para ganado vacuno, y el otro para ovejas. La capa oscura contiene hierro, el cual incrementa la densidad del bolo. (b) Bolo "Paratect". En el extremo muestra una de las membranas semipermeables, la que permite al fármaco permear hacia el fluido ruminal. (c) Bolo "Rumensin". Una cubierta en cada extremo protege a la matriz de la abrasión directa por los contenidos ruminales. (d) Dos dispositivos "Captec", con alas en la posición extendida. El dispositivo más grande es para ganado vacuno, el otro para ovejas. Note el orificio a través del cual escapa el fármaco (flecha). (e) Dispositivo "Castex" multidosis 130. Note las cinco secciones blancas, las cuales contienen al agente antihelmíntico. El eje de magnesio es visible en la parte inferior de la foto (flecha). En el otro extremo se encuentra la capa de acero que aumenta la densidad. (e) Bolo "electrónico". Note los tres tubos adyacentes, los cuales contienen el agente antihelmíntico. El otro extremo contiene el "peso".⁽²³⁾



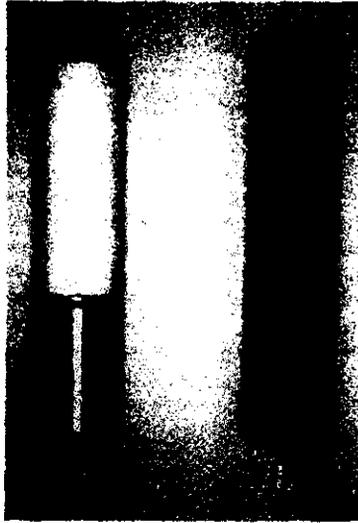


Figura 5. Dispositivos de retención en rumen con un elemento denso colocado en un extremo (A), y uno conteniendo hierro en polvo en la matriz (B).⁽³⁶⁾

2.5.2. Dispositivos de Liberación Continua

Los dispositivos de liberación continua pueden ser controlados por medios mecánicos u osmóticos. Estos se basan principalmente en un control interno, minimizando de esta forma los problemas impuestos por la variabilidad del ambiente del rumen. Actualmente existen dos tipos de dispositivos: el dispositivo "Laby" y la bomba osmótica.⁽²³⁾

Dispositivo "Laby". El dispositivo "Laby", también llamado dispositivo "Captec" (Captec), consta de una matriz de polímero conteniendo al activo dentro de una cápsula de polietileno impermeable. La formulación, en forma de tabletas discretas, es expuesta en uno de los extremos a un pequeño orificio que se pone en contacto con el ambiente del rumen. El hinchamiento de la tableta expuesta al orificio y el subsecuente rompimiento por parte del fluido ruminal libera el principio activo. La presión de las tabletas de atrás, proporcionada por un resorte, asegura el contacto de la tableta con el orificio en el extremo, previniendo que el contenido ruminal interactue con las tabletas excepto con la superficie expuesta.⁽²³⁾

Este diseño proporciona un buen control de la liberación, una cinética de orden cero aproximadamente, con la cantidad de activo liberada determinada por la composición de la matriz y el diámetro del orificio. Este dispositivo se retiene debido al desdoblamiento de dos "alas", que se despliegan después de la administración, Figura 4d.

Bomba Osmótica. El dispositivo de retención en rumen (RRD), manejado osmóticamente, es similar al de uso humano sólo que más grande. El dispositivo para ganado vacuno llamado minibomba osmótica *Alzet 2ML4 (Alza)*, conteniendo al agente antiparasitario Ivomel (Merck) ha sido desarrollado recientemente, y adquiere el estado constante en 7 a 14 días y posteriormente continúa bajo una cinética de orden cero por aproximadamente 35 días. La regurgitación se previene llevándolo a una densidad de 2.7 g/ml. (23)

Las bombas osmóticas de ALZET tienen forma de cápsula y se fabrican en varios tamaños (Figura 6). (16)

En una sección transversal, están compuestas de tres capas concéntricas (Figura 7): el reservorio para el principio activo, la "manga" (sleeve) osmótica, y la membrana semipermeable controladora de la velocidad de liberación. Un componente adicional, denominado moderador de flujo, se inserta en el cuerpo de la bomba osmótica después del llenado. Al centro de la bomba se encuentra el reservorio para el fármaco, una cavidad cilíndrica formada de un elastómero sintético, el cual está abierto al exterior vía una "puerta" única. El compuesto a ser administrado se coloca en solución o suspensión en este compartimento. La pared del reservorio para el activo es químicamente inerte para la mayoría de las combinaciones activo-vehículo, incluyendo formulaciones acuosas, ácidos y bases diluidos, y alcoholes (Tabla 4). Además es impermeable, bloqueando cualquier paso de material entre el reservorio de activo y la capa osmótica que se encuentra alrededor. (16)

Fuera de la pared del reservorio se encuentra la "manga" osmótica, una delgada (fina) envoltura (cubierta) cilíndrica conteniendo una elevada concentración de cloruro de sodio. La diferencia en presión osmótica entre este compartimento y el ambiente acuoso en el cual se coloca la bomba impulsa la liberación de la solución de prueba. Después de la implantación de la bomba, el agua circundante entra a la bomba a través de un gradiente osmótico y es tomada por la "manga" osmótica, provocando su expansión. Debido a la rigidez de la membrana exterior, el agua que está entrando genera presión hidrostática, resultando en la compresión de la pared flexible del reservorio del activo, y un flujo constante de la formulación conteniendo al activo sube por el tubo moderador de flujo y sale a través del orificio en la tapa de plástico en el extremo (punta) del dispositivo.

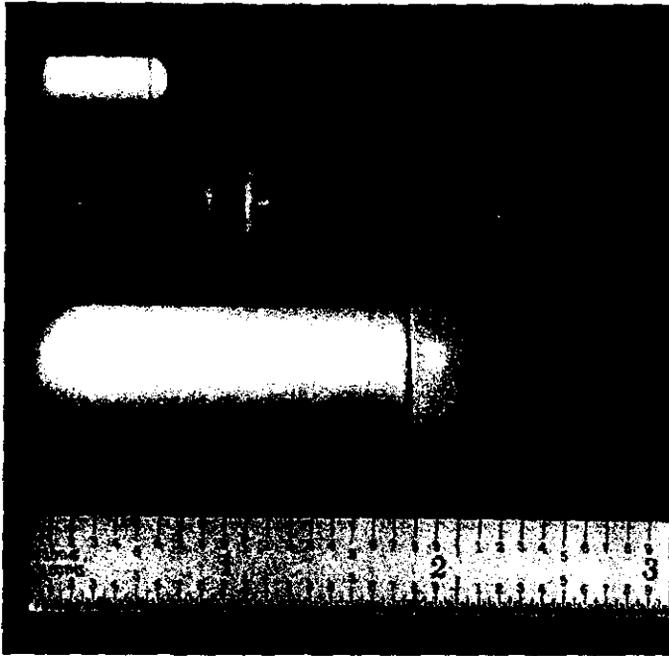


Figura 6. Los tres tamaños de las bombas osmóticas ALZET. (16)

La velocidad con que el agua entra a la "manga" osmótica determina la velocidad de liberación de la bomba osmótica y está regulada por la porosidad de la membrana semipermeable, sus dimensiones, y la diferencia de presión osmótica a través de la membrana. (16)

Como resultado, el perfil de liberación de la bomba es independiente de la formulación a ser dispensada. Agentes de varios tipos, incluyendo activos ionizados, macromoléculas, esteroides, y péptidos, pueden ser liberados bajo cinéticas de orden cero. (16)

En la manufactura se fija la velocidad con la cual el agua entra a la manga osmótica y se descarga el contenido del reservorio. Las bombas están disponibles con una variedad de velocidades de liberación entre 0.5 y 10 μl por hora y duraciones de la liberación entre 3 días y 4 semanas (Figura 8) (16)

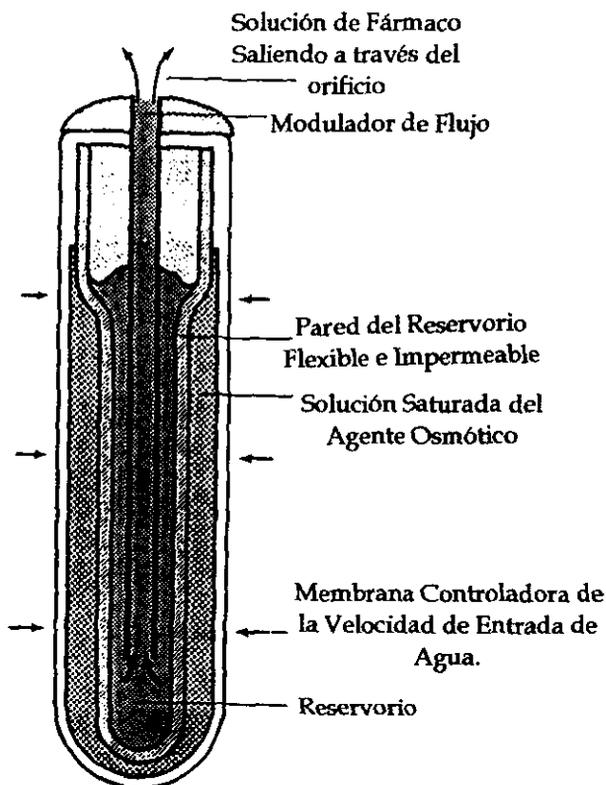


Figura 7. Sección transversal de una bomba osmótica mostrando el reservorio cilíndrico para la solución de prueba, la capa de agente osmótico, y la cubierta exterior semipermeable de la bomba. (16)

Pope y colaboradores (1985), desarrollaron un dispositivo de retención en rumen para liberar de manera controlada Ivermectina, un potente agente antiparasitario. El dispositivo liberó al activo bajo una cinética de orden cero por 35 días después de la administración oral en ganado vacuno. La Ivermectina fue administrada en forma de una solución micelar contenida en una minibomba osmótica ALZET 2ML4, la cual se colocó entre dos piezas de acero inoxidable en forma de "canasta", (18x105mm), equipadas con un radiotransmisor (Figura 9). El sistema en conjunto posee una densidad de 2.7 g/ml. Los autores mencionan que: *una densidad de 1.5-1.9 g/ml resulta en la residencia ruminal; una densidad de 2.2 g/ml resulta en una traslocación entre el rumen y el retículo; una densidad mayor a 2.4 g/ml con una masa mayor a 10 gramos la mayoría de las veces resulta en la retención reticular.*

(31)

Tabla 4. Solventes Comunes Compatibles con el Material del Reservorio de las Bombas Osmóticas ALZET (16)

- Agua destilada o cualquier solución acuosa
- NaCl isotónico u otra solución salina
- 5% de Dextrosa en agua o NaCl
- Etanol, hasta 10% en agua
- Polietilén glicol 300, puro o en agua
- 2% de Tween en agua
- DMSO al 50% en agua
- DMSO al 50% + 10% de etanol
- Propilenglicol, puro o en agua
- Glicerol
- Ácidos diluidos con pH mayor a 1.8
- Bases diluidas con pH menor a 14
- Suero de rata
- Medio de cultivo bacteriostático (1% alcohol bencílico como bacteriostático)
- Fluido cerebroespinal artificial

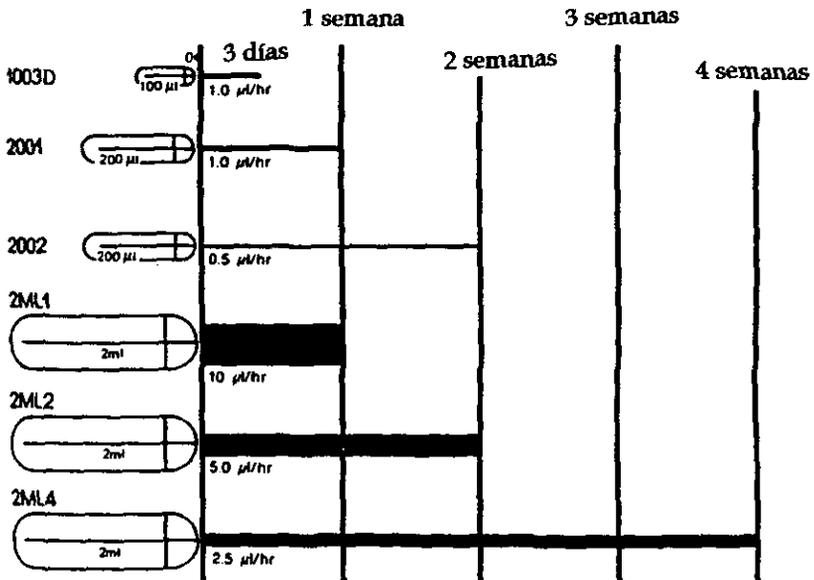


Figura 8. Comparación de las velocidades de liberación y capacidades del reservorio de las bombas osmóticas ALZET (16)

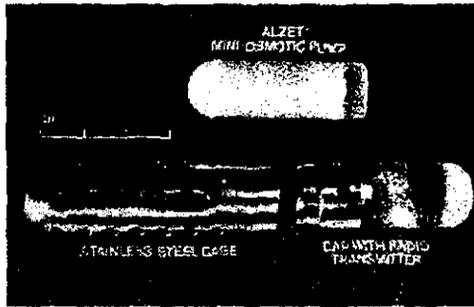


Figura 9. Fotografía del sistema de liberación usado para la administración de ivermectina al reticulorumen de ganado vacuno vía cinética de orden cero durante un periodo de 4 semanas. (31)

2.6. DISPOSITIVOS DE LIBERACIÓN INTERMITENTE

La liberación intermitente (también llamada pulsátil o por pulsos), es la liberación del activo a partir de un dispositivo de dosis discretas separadas por intervalos en los cuales no se proporciona activo al animal. (23)

“Intermitente” es el término preferido, debido a que “pulso” denota o expresa intervalos de igual espaciamiento, mientras que “intermitente” no implica una restricción temporal de este tipo. Existen aplicaciones en las cuales puede ser deseable la liberación de dosis con espaciamientos de tiempo desiguales. (23)

Preferentemente dosis terapéuticas completas son administradas a tiempos apropiados, de forma tal que el dispositivo reproduce regímenes de dosificación “manual” que históricamente han dado buenos resultados después de lograr la experiencia práctica en el campo, o han sido justificados por estudios controlados de producción animal. (23)

La terapia con agentes antihelmínticos ha sido la más empleada en el inicio de los RRD's de liberación intermitente. Dos dispositivos de este tipo se encuentran actualmente en el mercado, uno opera por erosión y el otro se controla por medios electrónicos. Ambos son retenidos en el rumen por su “peso” con una densidad de al menos 2.5 g/ml.

Dispositivo Castex. El dispositivo Castex, llamado así por la compañía que comenzó su desarrollo hace algún tiempo, fue colocado en el mercado por una asociación que involucraba a la Fundación Welcome, Cooper, y Syntex. Se vende bajo los nombres comerciales de *multidosis 130 (Syntex)* y *repidosis (Cooper)*, Figura 4e; estos dos productos son idénticos en su manufactura. Una vez que el dispositivo se encuentra en el rumen, la erosión del eje central de magnesio libera cada uno de cinco sucesivos segmentos plásticos que contienen al agente antihelmíntico oxfendazol, resultando en una dosis de 750 mg por cada pulso. La erosión es incrementada mediante una acción galvánica producida por reacción entre dos metales disimilares, hierro y magnesio, la cual procede una vez que el fluido ruminal ha comenzado a atravesar el conducto para la transferencia de electrones. (23)

El intervalo entre las dosis promedia 23 días, pero la erosión es pH dependiente, lo cual contribuye a cierta variabilidad de animal a animal. Un periodo de espera de 6 meses se recomienda en la literatura del producto, posiblemente como resultado de esta incertidumbre. (23)

El Bolo Electrónico. El *Bolo-E (Smithkline-Animal Health Products)*, es un RRD de liberación intermitente que libera las dosis terapéuticas del antihelmíntico albendazol separadas por intervalos de 31 días, Figura 4f. (23)

El funcionamiento está controlado por un circuito integrado, y la energía es proporcionada por baterías alcalinas tipo reloj. El activo, contenido en cada uno de tres tubos adyacentes, es expelido inmediatamente por la acción de un generador de gas situado en la base de cada tubo. Después de la inmersión en el fluido ruminal conductivo por un periodo de 10 minutos, tal como se detecta mediante un par de electrodos conductivos, el dispositivo se pone en funcionamiento automáticamente, elimina el funcionamiento de los sensores externos y permanece así por 31 días.

Después de este periodo, el sistema "lógico" en la tarjeta de memoria, envía energía de las baterías al primer generador de gas, el cual libera gas, predominantemente bióxido de carbono, suficiente para expulsar el medicamento y una tapa protectora de hule, el dispositivo se detiene luego, cuenta 31 días adicionales y entonces envía energía al segundo generador de gas con lo cual la segunda dosis es liberada el día 62, y esto se repite para la última liberación en el día 93. La exactitud es proporcionada por un cristal de cuarzo, de forma tal que la precisión de la liberación final es de alrededor de 15 minutos. (23)

Una cubierta impermeable de polipropileno protege al activo y los componentes electrónicos del fluido ruminal, y el dispositivo opera independientemente de cualquier carga dentro del ambiente ruminal. (23)

Los dispositivos de retención en rumen son una valiosa contribución a los campos de la medicina veterinaria y producción animal. El rumiante es particularmente adecuado para la aplicación de nuevos sistemas y la aplicación de nuevas tecnologías a los RRD's con el éxito que se manifiesta actualmente es evidente.

La liberación de activos para la salud animal por medio de RRD's continuará demostrando ser una área excitante para la innovación adicional en el futuro, llevando a nuevos avances en la producción ganadera que revolucionarán los conceptos tradicionales en los años por venir. (23)

3. MATRICES INERTES INSOLUBLES

La incorporación de un principio activo en una matriz inerte es un medio para la preparación de medicamentos de liberación sostenida. Esta técnica ha sido utilizada en la manufactura de tabletas de liberación sostenida debido a que ofrece muchas ventajas adicionales, como la de un costo comparativamente bajo, resistencia a la humedad, buena estabilidad fisicoquímica, y reducción de sabor desagradable. (23).

Podemos considerar cuatro grandes grupos para clasificar el tipo de matriz en función del material que se utiliza para su fabricación:

- Matrices Hidrófobas o Lipídicas
- Matrices Plásticas
- Matrices a base de Agentes de Recubrimiento
- Matrices Minerales

La liberación del principio activo ocurre conforme el agua penetra en la matriz y disuelve al principio activo, el activo disuelto difunde entonces hacia la solución. (19).

Dependiendo del tipo de matriz, los mecanismos involucrados en la liberación del principio activo son:

- a) Erosión de la superficie del comprimido y la disolución concomitante del principio activo, y
- b) Difusión lenta del principio activo

Los comprimidos no se desintegran, y la liberación se lleva de acuerdo a la ecuación de Higuchi.

La ecuación propuesta por Higuchi es:

$$Q = \sqrt{\frac{D\varepsilon}{\tau} (2A - \varepsilon C_s) C_s t}$$

Donde:

- Q = Cantidad de activo liberado por unidad de superficie a tiempo t
- D = Coeficiente de difusión
- Cs = Solubilidad del principio activo en el medio de disolución
- A = Concentración del principio activo al interior de la matriz en g/ml.
- ϵ = Porosidad de la matriz
- τ = Tortuosidad de la matriz

La ecuación puede reducirse a la forma:

$$Q = K t^{1/2}$$

Donde K = Constante de Higuchi

3.1. MATRICES LIPÍDICAS

Los agentes utilizados en la preparación de matrices lipídicas son:

- Ceras
- Alcoholes Grasos
- Ácidos Grasos
- Aceites Hidrogenados
- Glicéridos Sintéticos

Los factores limitantes son:

- Naturaleza y Proporción del Excipiente Lipídico
- Tamaño de Partícula del Principio Activo
- Solubilidad del Principio Activo
- Método de Obtención
- Tamaño del gránulo
- Fuerza de Compresión
- Condiciones Fisiológicas (el pH y enzimas del tracto gastrointestinal)

La fabricación de las matrices lipídicas se puede llevar a cabo mediante:

- Granulación
 - Vía Húmeda
 - Por Fusión (Termoplástica)
- Compresión
 - De una Mezcla Física (Compresión Directa)
 - De una Granulación
- Recubrimiento
- Microencapsulación
- Secado por Spray (Congelamiento)

En lo concerniente a la liberación del activo a partir de estos sistemas, Higuchi fue el primero en trabajar de forma teórica el modelo de matriz y demostrar que la cantidad de activo liberado por unidad de superficie es proporcional a la raíz cuadrada del tiempo. Su ecuación implica que la solubilidad del fármaco y la estructura de la matriz en términos de porosidad y tortuosidad pueden influenciar la velocidad de liberación. (26)

3.1.1. GRANULACIÓN POR FUSIÓN

La granulación por fusión (granulación termoplástica) es un proceso en el cual la granulación es obtenida a través de la adición de un aglutinante que funde o se reblandece a relativamente baja temperatura (55-85°C). Después de la fusión, el aglutinante actúa como un líquido aglutinante. (34)

El proceso utiliza materiales que son efectivos como fluidos granulantes cuando se encuentran fundidos. El enfriamiento de los polvos aglomerados y la resultante solidificación de los materiales fundidos completan el proceso de granulación por fusión. El proceso aglomera de manera eficiente materiales farmacéuticos que pueden utilizarse en la fabricación de formas farmacéuticas sólidas de liberación inmediata o sostenida. (33)

Algunos de los materiales normalmente utilizados para la granulación por fusión son los polietilenglicoles, diferentes ceras o ácido esteárico. (34)

La granulación por fusión es ventajosa cuando se compara al proceso tradicional de granulación por vía húmeda, debido a que la fase de adición de líquido así como la fase de secado del proceso son eliminadas. Consecuentemente, la granulación por fusión requiere menos energía.

La granulación por fusión es una alternativa al uso de solventes cuando se granulan materiales que son sensibles al agua (hidrolábiles). Seleccionando a un aglutinante que sea insoluble en agua, la granulación por fusión puede ser un medio para producir granulaciones de liberación sostenida. (18)

Se pueden preparar dispersiones sólidas disolviendo al principio activo en el aglutinante fundido. (34)

Cuando se granula por fusión en un mezclador de alto corte (velocidad o impacto), el aglutinante se puede adicionar como polvo a los materiales iniciales a temperatura ambiente seguido de calentamiento a la temperatura de fusión, o en forma fundida (como líquido) a los materiales calentados. La temperatura de la mezcla se incrementa empleando una chaqueta o empleando el calor generado por la fricción solamente. (18)

3.1.2. EXCIPIENTES LIPÍDICOS

La Tabla 5 muestra algunos de los excipientes lipídicos utilizados con más frecuencia en el método de granulación por fusión, además se incluyen el nombre comercial y el fabricante y/o proveedor del producto.

Tabla 5. Excipientes Lipídicos

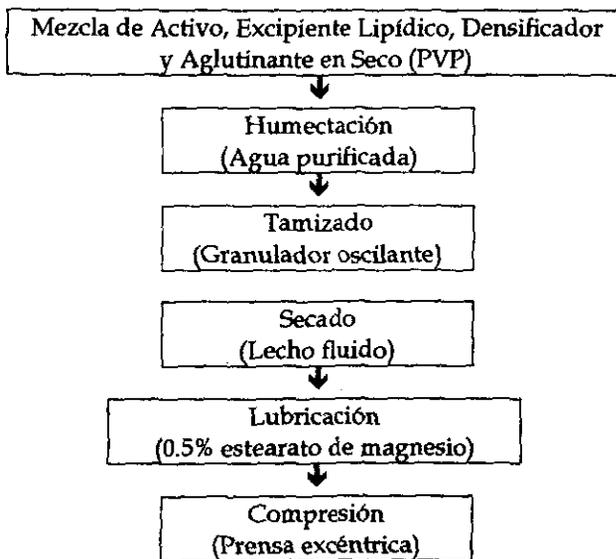
Material	Nombre Comercial	Fabricante y/o Proveedor
Cera carnauba	Cera carnauba	Mosselman, Bélgica
Estearato de sucrosa	Crodesta® F160	Croda Chemicals, UK
Alcohol estearílico	Lorol® C18	Henkel, Alemania
Gliceril-palmitoestearato	Precirol® ATO 5	Gattefosse, Francia
Gliceril-behenato	Compritol® 888	Gattefosse, Francia
Gliceril-estearato	Precirol® WL2155	Gattefosse, Francia
Aceite vegetal hidrogenado	Lubritab®	Edward Mendell, USA
Gliceril-monoestearato	Myvaplex® 600P	Eastman Chem. USA
Gliceril-monoestearato	Cutina® GMS	Henkel, Alemania
Aceite de castor hidrogenado	Cutina® HR	Henkel, Alemania
Aceite de soya hidrogenado	Sterotex® C Sterotex® HM	Karlshamms, Sweden

3.1.3. INFLUENCIA DEL PROCESO DE GRANULACIÓN

B. Evrard y L. Delattre (1996), compararon el método de granulación por fusión usando un mezclador de alta velocidad de laboratorio (Pellmix®, Niro) con una técnica de granulación por fusión manual y con un método de granulación húmeda. Los autores investigaron el impacto del proceso de granulación sobre la integridad de la tableta y sobre la velocidad de liberación de sulfametazina sódica.

(15)

➤ Granulación Húmeda (15)



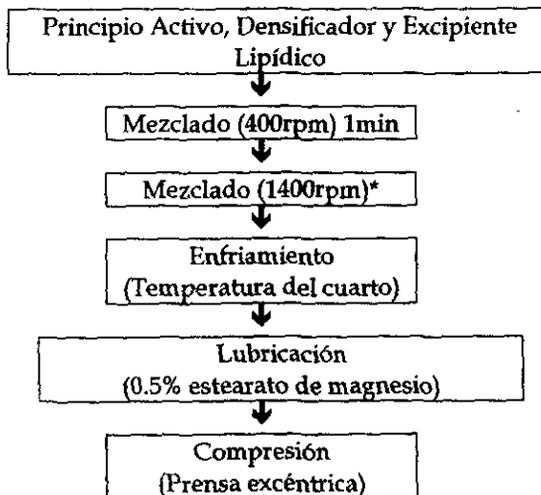
El calor producido por la fricción incrementa la temperatura de la mezcla hasta que el excipiente lipídico comienza a fundir y promueve la formación de los gránulos.

Entre los agentes lipofílicos, Evrard y Delattre, encontraron al aceite de castor hidrogenado especialmente efectivo por varias razones: su elevado punto de fusión evita la ocurrencia de pegado a los punzones durante la operación de tableteo; permite que la integridad de la tableta se mantenga aún después de la disolución completa del activo; y la velocidad de liberación de la Sulfametazina sódica puede modularse con facilidad variando la concentración del aceite de castor hidrogenado en la matriz

➤ Granulación por Fusión Manual (15)



➤ Granulación por Fusión en un Mezclador de Alta Velocidad (15)



Los perfiles de liberación de NaSMZ *in vitro* mostraron la importancia del proceso de granulación sobre la velocidad de liberación del principio activo a partir de matrices lipídicas. La técnica de granulación húmeda produjo tabletas que desintegraron rápidamente y mostraron una liberación rápida de SMZ. Debido a que el excipiente lipídico (Cutina HR) no se fundió durante el proceso de granulación, sus propiedades de aglutinación y de liberación sostenida fueron menos efectivas. Además, el agente aglutinante soluble en agua (PVP) le dio a las tabletas un carácter más hidrofílico. Ambos métodos de granulación dieron perfiles de liberación similares. Sin embargo, el método manual resultó en una liberación más rápida de la SMZ que la técnica de granulación en el mezclador de alta velocidad.

3.1.4. INFLUENCIA DEL EXCIPIENTE LIPÍDICO

Evrard y Delattre adoptaron una formulación estándar para comparar la influencia de la naturaleza del excipiente lipofílico. Evaluaron doce excipientes que se encuentran listados en la Tabla 6 junto con sus propiedades fisicoquímicas.

Tabla 6. Características Fisicoquímicas de los Excipientes Lipídicos

Nombre Comercial	I(OH)*	Punto de Fusión (°C)	Viscosidad a 86°C (mPa.s)
Cera Carnauba	45.5	83.3	35.8
Lubritab	53.7	59.8	10.3
Sterotex HM	62.7	66.5	12.7
Sterotex C	62.8	74.3	16.5
Compritol 888	102.6	72.4	15.7
Precirol ATO 5	106.4	56.0	11.1
Precirol WL 2155	123.5	69.7	13.3
Cutina HR	158.3	84.5	42.5
Lorol C18	208.9	60.3	4.7
Cutina GMS	236.0	60.0	17.7
Myvaplex 600P	311.0	70.7	23.4
Crodesta F 160	531.9	72.0	-

* Índice de Hidroxilo

Los resultados de la liberación de SMZ *in vitro* se presentan en la Tabla 7.

Tabla 7. Influencia de la naturaleza del excipiente lipídico sobre la velocidad liberación de SMZ a partir de tabletas

Excipiente Lipídico	% Liberado después de 1 hr	% Liberado después de 4 hr	% Liberado después de 8 hr	% liberado después de 12 hr	% Liberado después de 24 hr
Cera Carnauba	12.1	34.4	50.0	60.4	77.4
Lubritab	12.4	34.2	51.2	64.0	99.3
Sterotex HM	11.2	36.2	55.3	69.3	100.0
Sterotex C	14.9	24.0	63.0	76.3	99.2
Compritol 888	12.8	37.3	55.2	67.6	85.7
Precirol ATO 5	11.4	27.9	41.2	51.3	71.5
Precirol WL 2155	11.5	32.9	49.8	62.1	81.9
Cutina HR	12.9	35.4	53.3	65.3	81.9
Lorol C18	17.0	43.0	62.8	70.0	92.1
Cutina GMS	10.4	33.6	50.8	64.5	84.5
Myvaplex 600P	12.6	44.5	68.0	82.3	99.5
Crodesta F 160	15.1	50.5	71.7	82.6	95.5

Los autores notaron que algunos excipientes con bajo punto de fusión como Precirol® ATO 5 y Lubritab® dieron problemas de pegado a los punzones durante la operación de tableteado. Este fenómeno pudo deberse a que el calor de compresión causa la fusión del material en la superficie de la tableta en contacto con los punzones.

Los investigadores examinaron la integridad de la tableta durante la prueba de disolución. La mayoría de ellas permanecieron intactas, aún después de completar la disolución del principio activo, con excepción de las tabletas elaboradas con Crodesta® F160 y Myvaplex® 600P, las cuales se desintegraron durante la prueba.

Este comportamiento se relacionó con el carácter más hidrofílico de los excipientes reflejado por sus altos números de hidroxilo.

3.1.5. INFLUENCIA DE LA CANTIDAD DE EXCIPIENTE LIPÍDICO

Evrard y Delattre emplearon una formulación básica para estudiar la influencia de la cantidad de excipientes lipídicos. Las concentraciones de excipiente lipídico fueron de 10%, 12%, 15% y 20% y compararon cuatro de los excipientes con diferentes propiedades.

Los resultados mostraron que a mayor cantidad de excipiente lipídico, mayor es el tamaño del gránulo. Se requirió una concentración mínima del 12% para obtener un proceso de granulación confiable

Las velocidades de liberación mostraron que la influencia de la cantidad de excipiente depende de la naturaleza del agente lipídico. El efecto resultó mínimo para Lorol® C 18, mientras que se observó una influencia significativa para Compritol® 888 en concentración mayor al 15%. Para Precirol® Ato 5 y Cutina® HR, la variación de la cantidad de agente lipídico permitió una fácil modulación de la velocidad de disolución.

3.1.6. INFLUENCIA DE LA FUERZA DE COMPRESIÓN

Evrard y Delattre evaluaron la influencia de la fuerza de compresión sobre las características de las tabletas obtenidas a 1080, 2160, 2700, o 3240 kg/cm². Los perfiles de liberación no mostraron influencia de la fuerza de compresión sobre la velocidad de liberación del activo entre 2160 y 3240 kg/cm². Por abajo de 2160 kg/cm² la liberación del activo fue un poco más rápida.

3.1.7. EFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DE PRINCIPIO ACTIVO

Un método para obtener productos de liberación sostenida es el de embeber o dispersar al compuesto medicinal sólido (fármaco) en una matriz insoluble. Las matrices insolubles se pueden preparar mediante la compresión de:

- a) Una mezcla congelada del fármaco y del material graso o polimérico que ha sido fundida, enfriada y molida, o
- b) Una mezcla física del compuesto medicinal y el material graso o polimérico.

Todd P. Foster y Eugene L. Parrott, (1990), estudiaron el efecto de la concentración de clorhidrato de efedrina en matrices de aceite de castor hidrogenado. Los perfiles de liberación a 25°C en términos de cantidad liberada por unidad de área contra la raíz cuadrada del tiempo para 5, 10, 20, 30, 40 y 50% de clorhidrato de efedrina mostraron una liberación lineal después que se alcanza el estado de equilibrio. Una relación similar se observó para los perfiles de liberación de clorhidrato de procaina a partir de matrices de aceite de castor hidrogenado comprimidas a 35 Mpa. (19)

Frecuentemente, tabletas que contienen diferentes cantidades o concentraciones de un principio activo se ponen en el mercado con el objeto de proporcionar una variedad en los regimenes de dosificación.

Esta puede expresarse en términos de gramos del principio activo por mililitro de la matriz, valor de A en la ecuación de Higuchi, que es proporcional a la concentración.

3.1.8. EFECTO DE LA POROSIDAD

Las porosidades se calculan conociendo el volumen de la matriz, la densidad del fármaco, y el porcentaje en peso de cada componente. (19)

La porosidad del fármaco es la fracción de volumen disperso en la matriz. La porosidad total se incrementa conforme la cantidad del fármaco en la matriz aumenta. Si la cantidad del fármaco se duplica, el volumen ocupado por el fármaco se incrementa al doble (con el clorhidrato de efedrina, un incremento en la concentración del 5 al 10% incrementó la porosidad de 3.7 a 7.5%).

La porosidad debida al aire se refiere al aire atrapado al interior de la matriz durante la compresión y es independiente de la cantidad del fármaco dispersado en la matriz. La porosidad total es la suma de las porosidades del fármaco y del aire. La Difusión ocurre en este espacio. Consecuentemente, los modelos que describen la liberación a partir de matrices heterogéneas inertes deben incluir este parámetro. (19)

3.1.9. LA TORTUOSIDAD

La tortuosidad en la ecuación de Higuchi es un término que expresa la desviación de una trayectoria difusional recta dentro de una matriz para la cual $\tau = 1$. Si la trayectoria fuera triplicada (debido a giros, vueltas o rodeos), entonces $\tau = 3$. Parece no existir un método experimental satisfactorio para medir directamente la tortuosidad. Convencionalmente, todos los términos en la ecuación de Higuchi son determinados, y entonces la tortuosidad se calcula usando la ecuación.

La tortuosidad disminuye conforme el valor de A se incrementa. Con valores elevados de A y bajas tortuosidades, la liberación probablemente no se lleve a cabo solamente por difusión controlada. Debido a que tortuosidades menores de la unidad son físicamente imposibles, parece que el mecanismo de Higuchi no describe apropiadamente la liberación. Tortuosidades menores que la unidad sugieren que el mecanismo de liberación primario es la disolución y no la difusión. A concentraciones elevadas (valores grandes de A), una mayor cantidad del compuesto medicinal está expuesto y se disuelve en el medio de disolución debido a que la porosidad total se incrementa conforme la concentración aumenta. Conforme la concentración del principio activo disminuye y la tortuosidad aumenta, predomina la difusión. (19)

3.1.10. EFECTO DE LA ESTRUCTURA INTERNA

Se sabe que las tabletas poseen usualmente una estructura interna y una distribución de densidades asimétrica, debido a la deformación plástica y/o la fractura de los componentes. Usualmente, las partículas de principio activo, cuando son comprimidas verticalmente, pueden sufrir una elongación en el plano horizontal mediante deformación plástica, y en otro caso, los cristales del principio activo fracturados, pueden reacomodarse a lo largo en dirección horizontal. (25)

En estos casos, la velocidad de liberación del principio activo será diferente entre las superficies comprimidas (superior e inferior), y la superficie lateral, porque la estructura interna asimétrica proporcionará una tortuosidad diferente en ambas direcciones de la matriz, aunque la fracción de volumen ocupada por el fármaco sea la misma. Figura 10. (25).

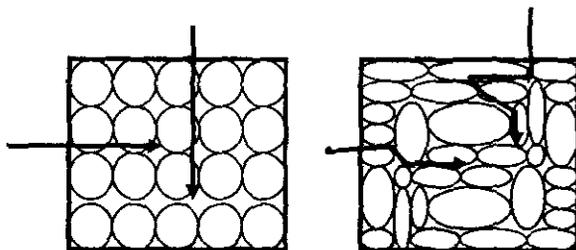


Figura 10. Estructura interna de una matriz lipídica mostrando
Una trayectoria recta de penetración del medio (izquierda), y
La desviación de la línea recta (tortuosidad).

Ryuzo Ishino y Colaboradores (1990), examinaron la influencia de la estructura interna de una matriz lipídica sobre la liberación de activo *in vitro*, los autores compararon la velocidad de liberación de diversas tabletas consistentes de varias proporciones de activo y aceite de castor hidrogenado. Además evaluaron la velocidad de penetración de agua desde las superficies comprimidas y las superficies laterales de las tabletas. Encontraron que la velocidad de penetración desde las superficies laterales resultó ser mucho mayor que la velocidad desde las superficies comprimidas en todos los casos. Los resultados sugieren que la tortuosidad de los canales de agua creados en la disolución de una tableta es generalmente menor (más pequeña) en la dirección horizontal que en la dirección vertical. De acuerdo a los autores esto puede ser causado por las partículas de activo que están siendo elongadas (alargadas) en la dirección horizontal por la compresión. (25)

3.1.11. INFLUENCIA DE LA SOLUBILIDAD DEL PRINCIPIO ACTIVO

En cuanto al mecanismo de liberación del activo a partir de un sistema tipo matriz, Higuchi fue el primero en trabajar sobre un modelo y mostrar que la cantidad de fármaco liberado por unidad de área, es proporcional a la raíz cuadrada del tiempo.

Su ecuación implica que la solubilidad del fármaco y la estructura de la matriz en términos de porosidad y tortuosidad pueden influenciar la velocidad de disolución.

Se ha reportado que la velocidad de liberación de un fármaco a partir de una matriz depende de varios factores, como la cantidad y el tipo del material formador de la matriz y los aditivos, tamaño de cristal y método de preparación. Se considera que estos factores afectan la estructura de la matriz en términos de porosidad o tortuosidad o la humectabilidad, contra el medio de disolución que penetra en la matriz. (26)

Ryuzo Ishino y Hisakazu Sunada (1993), evaluaron individualmente el efecto de la solubilidad del fármaco y de la estructura de la matriz sobre la velocidad de liberación. La Tabla 8 muestra las propiedades de las materias primas que utilizaron en el estudio. (26)

Tabla 8. Solubilidad en agua de los activos usados en el estudio

Activo	Nicotinamida (NIA)	Cafeína (CAF)	Aspirina (ASP)
Solubilidad en Agua (g/cm ³) a 37°C	0.973	0.037	0.008

Para examinar la influencia de la estructura de la matriz sobre la velocidad de liberación del activo, los autores prepararon tabletas consistentes de un activo y aceite de castor hidrogenado en varias proporciones y llevaron a cabo el estudio de disolución. La velocidad de liberación del activo disminuyó con el incremento en el contenido de aceite de castor hidrogenado (HCO).

Los resultados de la investigación de Ryuzo y Hisakazu mostraron que la velocidad de liberación a partir de las matrices, es proporcional a la solubilidad del fármaco e inversamente proporcional a la tortuosidad. (26)

3.2 FORMACIÓN DE MATRICES LIPÍDICAS DE LIBERACIÓN SOSTENIDA DENTRO DE CÁPSULAS DE GELATINA BLANDA EN UN LECHO FLUIDO

Bodmeier y colaboradores (1990), prepararon matrices lipídicas de liberación sostenida dentro de cápsulas de gelatina dura durante un proceso de fluidización en una corriente de aire caliente. (5)

Los investigadores llenaron las cápsulas con mezclas en polvo de un activo (clorhidrato de metoprolol o teofilina), y una cera (Precirol ATO-5 o Gelucire 50/13), y las suspendieron en un lecho fluidizado para inducir la fusión de la cera. Con el enfriamiento, las matrices lipídicas con el activo embebido se formaron en los extremos de las cápsulas.

El uso de mezclas de ceras con diferentes valores de HLB (Balance Hidrófilo-Lipófilo), permitió a los autores un buen control de la liberación. La liberación de activo a partir de las matrices resultó independiente del pH del medio de disolución.

Además, Bodmeier y sus colaboradores emplearon la calorimetría diferencial de barrido para estudiar el estado físico de los activos en las matrices. El clorhidrato de propanolol fue insoluble y resultó completamente dispersado en la matriz mientras que la teofilina se disolvió parcialmente en la cera.

El método de preparación consistió en mezclar al activo y la cera y llenar cápsulas de gelatina dura (# 0), con 400mg de la mezcla. Enseguida las cápsulas fueron selladas con una solución de gelatina (10% w/w). Las cápsulas fueron entonces cargadas en un lecho fluidizado (una unidad Wurster con un plato para la distribución uniforme de aire Glatt). Las condiciones de fluidización fueron las siguientes : temperatura de entrada = 80-85°C, temperatura de salida = 60-65°C, y tiempo = 15 minutos.

Durante la fluidización, las cápsulas giraron, y las fuerzas centrífugas causaron que la mezcla fundida fluyera hacia los extremos de las cápsulas. La mezcla solidificó después de terminar el calentamiento de la corriente de aire y se obtuvieron dos matrices lipídicas sólidas con el activo disperso en los extremos de las cápsulas (Figura 11).

Una película delgada se formó entre los dos "tapones" de cera en el interior de la cápsula. De acuerdo con los autores este procesó resultó altamente reproducible y posible de escalar. (5)

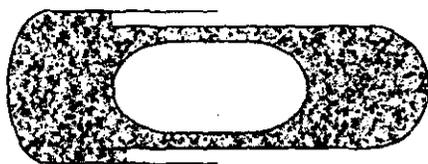


Figura 11. Esquema de la distribución de la matriz lipídica-fármaco dentro de cápsulas de gelatina dura después de la fluidización.

Bodmeier y sus colaboradores concluyeron que la fluidización de cápsulas de gelatina dura, conteniendo mezclas de polvos activo-cera, en una corriente de aire caliente, resultó ser un método exitoso para la preparación de matrices lipídicas de liberación sostenida. El uso de mezclas de ceras con diferentes propiedades anfifílicas permitió el control sobre el patrón de liberación del fármaco.

3.3. PREPARACIÓN DE MICROESFERAS

Giannola, De Caro y Rizzo (1995), lograron el atrapamiento físico en microesferas de cera de abeja de un agente antiepiléptico, el ácido valpróico, con el objeto de minimizar efectos tóxicos indeseables a través del control de su liberación. (20)

En la preparación de las microesferas los autores fundieron primero a la cera blanca de abeja empleando un baño de agua, adicionando después el ácido valpróico y agitando hasta lograr una mezcla homogénea; esta mezcla se vierte en agua acidificada con HCl a pH=4.5 y calentada previamente a una temperatura mayor al punto de fusión de la cera (80°C). A la mezcla se adiciona entonces un surfactante. A la mezcla total se le agita mecánicamente a una velocidad predeterminada. La masa fundida forma entonces las partículas esféricas debido a su dispersión en el medio acuoso. Después de 3 minutos de agitación y mantener la temperatura a 80°C, se adiciona hielo, hasta que se alcanza la temperatura ambiente. Las partículas esféricas resultantes se recuperan por flotación, se colectan por filtración y se lavan extensivamente con agua para remover los residuos de activo y surfactante. Un secado en corriente de aire a temperatura ambiente por 48 horas permite la obtención de microesferas sólidas de flujo libre. La recuperación es de aproximadamente el 92% del material inicial.

Los autores señalan que debido a sus propiedades físicas y su comportamiento en el tracto gastrointestinal, la cera de abeja es adecuada para preparar microesferas gastrorresistentes. El método utilizado por los investigadores involucró la solidificación inducida por congelamiento de la fase oleosa de un sistema de dos fases.

Este método parece ser ventajoso para el atrapamiento de fármacos insolubles en agua. De acuerdo con Giannola, De Caro y Rizzo, la liberación del activo resultó suficiente para su uso oral. Resultados como este demuestran el potencial de las ceras para la producción de sistemas de liberación para muchos fármacos lipofílicos o insolubles en agua.

En un segundo trabajo, Giannola, De Caro y Severino (1995), prepararon microesferas con cera carnauba cargadas con ácido valpróico. (21)

En este caso, el activo fue incorporado en la forma de líquido en el material fundido. Primeramente, la cera carnauba se fundió en un baño precalentado a 110°C. Una vez fundida, se adicionó el ácido valpróico y se agitó para obtener una mezcla homogénea. A la mezcla se adicionó entonces una solución con pH=4.5 (para minimizar la solubilidad del activo), previamente combinada con glicerina (para incrementar el punto de ebullición) y calentada a una temperatura mayor a la del punto de fusión de la cera carnauba (104°C).

A la mezcla se adicionó entonces surfactante. La mezcla total se agitó mecánicamente a una velocidad predeterminada. La masa fundida en dispersión formó partículas esféricas. La temperatura se mantuvo a 104°C por 3 minutos y después se adicionó agua helada hasta que se alcanzó la temperatura del cuarto. La cera carnauba solidificó cubriendo al activo. Las partículas esféricas sólidas resultantes se recuperaron por flotación, se colectaron por filtración y se lavaron extensivamente con agua para remover cualquier residuo de activo y surfactante. El secado con aire a la temperatura del cuarto por 48 horas, produjo microesferas sólidas de flujo libre.

La liberación del ácido valpróico a partir de las microesferas *in vitro* se llevó a cabo en condiciones similares a las del tracto gastrointestinal. Los investigadores siguieron la disolución mediante la determinación periódica de la cantidad liberada en el fluido simulado. En el jugo gástrico, el principio activo liberado no fue detectable, indicando de esta manera que la cera carnauba es un material adecuado para producir sistemas gastrorresistentes.

Los resultados demostraron que el activo fue liberado de una forma bifásica, con una fase inicial de liberación rápida, seguida de una etapa de liberación lenta. La ecuación de primer orden describió de forma apropiada la liberación en la primera etapa, mientras que el modelo de difusión controlada (raíz cuadrada del tiempo), lo hizo para la segunda.

Los autores concluyen que las ceras representan una clase de materiales biocompatibles que son capaces de formar sistemas de liberación multiparticulados y liberar activos lipofílicos en el tracto gastrointestinal.

3.4. SISTEMAS DE NÚCLEO EN COPA (CORE-IN-CUP)

La Mayoría de las tabletas tipo matriz liberan el principio activo de acuerdo al modelo de la raíz cuadrada del tiempo (Higuchi). Una forma de modificar la liberación a partir de sistemas matriciales es la de alterar la geometría de la matriz.

(11)

Danckwerts (1994), ha reportado un método que describe la producción de un núcleo tipo matriz, con forma de disco, para la liberación controlada de activos, el cual se recubre por compresión en uno de sus lados así como en toda su circunferencia para formar una copa alrededor del núcleo. Estas tabletas de núcleo en copa liberan el activo a través de una superficie erosionable o a través de una área difusional constante. Estas tabletas tienen la capacidad de liberar activos solubles e insolubles bajo una cinética de orden cero a partir de un núcleo activo.

(10)

Se ha encontrado que es posible producir una tableta del tipo núcleo en copa que pueda liberar una cantidad constante de activo durante un periodo de tiempo predeterminado a través de la manipulación de:

1. El grado de HPMC utilizado o de cualquier otro polímero hidrofílico o una mezcla de polímeros que se erosiona constantemente con el tiempo
2. La cantidad de HPMC o del polímero usado
3. El área superficial expuesta por el núcleo (matriz polimérica)

Desgraciadamente, conforme el espesor del núcleo se incrementa a 6 mm o más, algunas de las copas comienzan a partirse (agrietarse o romperse), en el medio acuoso de disolución. Esto se debe a que la eficiencia del aglutinante en la porción de copa de la tableta no es suficiente para contener (sujetar o vencer) el hinchamiento del polímero (HPMC) cuando entra en contacto con el agua. Conforme la viscosidad y la concentración de polímero usado se incrementa, el hinchamiento del polímero aumenta, especialmente en la dirección vertical. (8, 37)

Danckwerts, van der Watt, y Moodley (1996) evaluaron la efectividad de polímeros no hinchables en la producción de tabletas de núcleo en copa. La ventaja de tales polímeros es que no romperán la copa, y liberarán al principio activo a través de una superficie erosionable o una área difusional constante.

Los autores decidieron evaluar la velocidad de liberación de un activo soluble (cafeína) y uno insoluble (ibuprofen) a partir de tabletas de núcleo en copa elaboradas con polietilenglicol 600 (PEG 6000), goma acacia, tragacanto, e hidroxietilcelulosa (HEC). (11)

Los núcleos con forma de disco planos de 7 mm de diámetro y 5 mm de espesor se obtuvieron por compresión en una máquina monopunzónica Manesty F3. Con una dureza aproximada de 50 N/m². Los núcleos fueron entonces comprimidos junto con la copa de cera carnauba (10% w/w) en etilcelulosa con un espesor de 4 mm. La Figura 12 describe gráficamente una tableta de núcleo en copa.

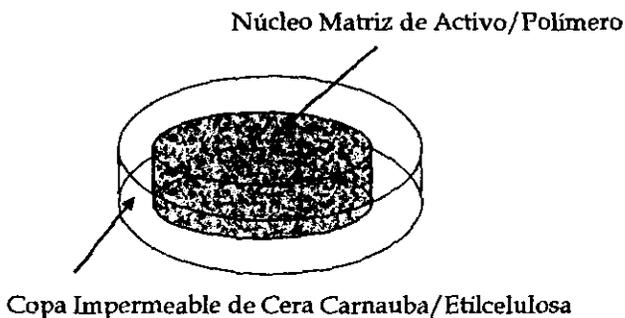


Figura 12. Diagrama esquemático de una tableta de núcleo en copa

Los autores establecieron que la acacia fue el excipiente más adecuado para la liberación de cafeína, y que el PEG 6000 resultó el más adecuado para la liberación de Ibuprofen. La liberación de cafeína puede controlarse ajustando la concentración de acacia y la fuerza de compresión para producir el t_{max} requerido (8-12 horas). Debido a que la fuerza de compresión no produce un cambio significativo en el t_{max} para Ibuprofen, la concentración de PEG 6000 puede ajustarse para producir el t_{max} requerido. (11)

Danckwerts, van der Watt, y Moodley (1996), demostraron que es posible producir tabletas de núcleo en copa que pueden liberar activos solubles en agua (cafeína) e insolubles (Ibuprofen) con una cinética de orden cero, dependiendo del tipo de polímero erosionable utilizado. Para fármacos insolubles, es mejor utilizar un polímero soluble en agua como el PEG 6000; y para un fármaco soluble, es mejor utilizar un polímero erosionable como la acacia. Ni el PEG 6000 ni la acacia hinchan en grado notable en el medio de disolución acuoso y, por lo tanto, no existe el rompimiento de la porción de copa de las tabletas (lo cual pudiera llevar al "dumping" o descarga de la dosis), como es el caso de los polímeros que hinchan en fluidos acuosos. (11)

4. COCCIDIOSIS

Conocida también como esteritis o diarrea sanguinolenta, es una enfermedad infecciosa parasitaria debida a la presencia y acción de protozoarios del género *Eimeria*. Se caracteriza por la existencia de diarrea, eventualmente con sangre, en cabritos y disminución en la eficiencia productiva del hato. (9, 32)

Los parásitos del género *Eimeria* son intracelulares, localizados en las células epiteliales del intestino del hospedador. En la cabra, las coccidias llevan a cabo una reproducción asexual (esquizogonia) y una asexual (gametogonia). Fuera del animal, osea en el suelo, las eimerias se reproducen asexualmente (sporogonia). La ingestión de un ooquiste esporulado puede dar lugar a la eliminación de alrededor de un millón de ooquistes (Figura 13).

Además de la ingestión de ooquistes maduros o esporulados, para la presentación de una coccidiosis en una explotación caprina son necesarios algunos otros factores:

Los determinantes, como son la humedad, mala higiene, acumulación de excremento y contaminación fecal de alimentos, agua y la edad de los animales. La humedad es uno de los factores más importantes para el desarrollo de ooquistes esporulados o maduros y para su supervivencia. Se ha visto que en humedad relativa menor al 25% es casi imposible la presentación de ooquistes infectantes.

La contaminación fecal de agua y alimento favorece la presencia de coccidiosis en el hato. Un solo animal puede eliminar hasta varios miles de ooquistes, sin que manifieste signos de enfermedad; sin embargo, contamina el medio donde se encuentran los cabritos. (9, 32)

La enfermedad en forma clínica se presenta solo en los animales jóvenes, aparentemente esta gran susceptibilidad tiene una base inmunológica, y a medida que el cabrito crece y se vuelve adulto es más resistente. (9, 32)

Los asociados, que junto a los anteriores proporcionan las condiciones favorables para la coccidiosis, entre éstos están: el hacinamiento, falta de ventilación, pisos poco permeables que permitan la acumulación de líquidos y aquellas situaciones que produzcan tensión en los animales. Muchos de estos factores se observan en los modelos de producción caprina intensiva y de pastoreo con encierro nocturno en México.

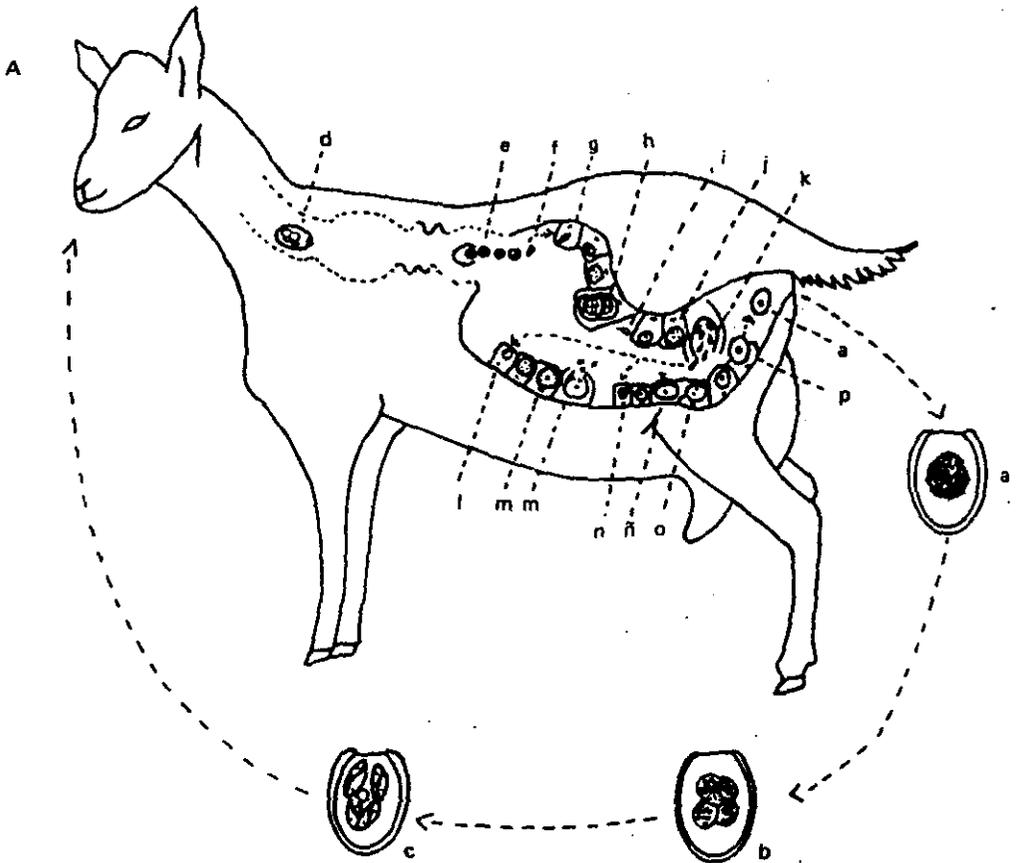


Figura 13. Ciclo Biológico de *Eimeria* sp. (9)

A. Cabra. Hospedador definitivo. a. Eliminación de ooquistes inmaduros en heces. b. Formación de esporoblastos. c. Ooquiste maduro o esporulado, infectante. d. Ingestión de ooquiste maduro. e. Liberación de esporocistos. f. Salida de esporozoitos. g. Trofozoito en célula epitelial del intestino. h. Después de una fisión múltiple, formación de esquizonte de primera generación. i. Liberación de merozoitos de primera generación. j. Formación de esquizonte de segunda generación. k. Merozoitos de segunda generación. l. Formación de microgametocitos. m. Liberación de microgametos. n. Formación de macrogametos. ñ. El microgameto fecunda el macrogameto. o. Cigoto. p. Salida del ooquiste de la célula epitelial del intestino

4.1. CUADRO CLÍNICO

La enfermedad, sólo se presenta en forma clínica en los cabritos, cuando ingieren gran cantidad de ooquistes esporulados en poco tiempo. Si el número de ooquistes es bajo o de especies poco virulentas, no se presentan signos clínicos. Después de los seis meses de edad y en los animales adultos, la coccidiosis es extremadamente rara. El primer signo, generalmente entre las cuatro o cinco semanas de edad, es la eliminación de heces pastosas, que posteriormente se vuelven fluidas, de tonalidad verde o café y pueden ir acompañadas de sangre. Los animales afectados se deprimen, muestran dolor abdominal y mucosas pálidas; su apetito disminuye y pierden peso y si no son tratados puede sobrevenir la muerte de los cinco a los seis días, que en ocasiones puede ser mayor al 15%. El animal puede quedar subdesarrollado por el daño al intestino, quedando incapacitado para absorber eficientemente los nutrientes. (9, 32)

4.2. DIAGNÓSTICO

Debe realizarse basándose en la historia clínica, el examen coproparasitoscópico y las lesiones intestinales a la necropsia. El número de ooquistes de *Eimeria* detectados no indica necesariamente la severidad de la coccidiosis, ya que en casos sobreagudos los ooquistes son eliminados después de la aparición de los signos clínicos. (9, 32)

4.3. TRATAMIENTO

Se recomienda el uso de sulfas: sulfaguanidina (2 gramos al día durante seis días), sulfamerazina, sulfametazina y sulfaguanidina (140 mg/kg. de peso vivo durante siete días). Nitrofuranos: nitrofurazona (7-10 mg/kg. de peso vivo durante siete días, o 0.0165% en el alimento). Amprolium (50-62.5 mg/kg. de peso vivo). (9, 32)

5. OBJETIVOS

Fabricar un bolo de retención en rumen para administrarse a cabras, que libere sulfametazina sódica durante un periodo prolongado de tiempo adecuado para el tratamiento de coccidiosis, que impida infecciones masivas pero permita una parasitosis ligera capaz de inducir una adecuada respuesta inmune.

Evaluar la funcionalidad de una matriz lipídica que contenga a la sulfametazina sódica y a un excipiente de densidad elevada, con el objeto de obtener niveles terapéuticos en tracto digestivo y plasma durante el tiempo adecuado para el tratamiento de la enfermedad

Estudiar la factibilidad del uso de dos métodos alternativos, compresión directa y granulación por fusión, para la formación de la matriz. Evaluar la influencia de la concentración de excipiente lipídico sobre la liberación in vitro de sulfametazina sódica, y el efecto de la cantidad de hierro reducido sobre la densidad del bolo. Examinar la integridad de la matriz lipídica (bolo), antes, durante, y después de la prueba de disolución.

Evaluar el funcionamiento de los bolos "in vivo", administrándolos a cabras. Determinar el tiempo de retención en rumen, su integridad y su efecto sobre el conteo de ooquistes de coccidia y sobre la ganancia de peso de los animales.

6. PLAN EXPERIMENTAL

El trabajo experimental se dividió en cinco etapas. La primera etapa incluyó una serie de experimentos preliminares que nos permitieron determinar si era posible el uso de la compresión directa como método de preparación del bolo utilizando las materias primas tal y como se reciben del proveedor. La segunda etapa involucró la preparación de la mezcla, en el caso de la compresión directa, o de una granulación, en el caso del método de granulación por fusión, adecuadas para la compresión y su evaluación en cuanto a densidades y propiedades reológicas. La tercera etapa correspondió a la fabricación de los bolos y la evaluación de las características farmacotécnicas de los mismos. La cuarta etapa correspondió a la prueba de disolución (liberación) in vitro de los bolos y la evaluación su integridad durante la prueba.

La quinta etapa fue una prueba de los bolos "in vivo" empleando dos formulaciones, F1 y F2, que incluyó su administración a cabras, su seguimiento a través de niveles plasmáticos de sulfametazina, conteo de ooquistes, placas radiográficas, y el aumento de peso de los animales.

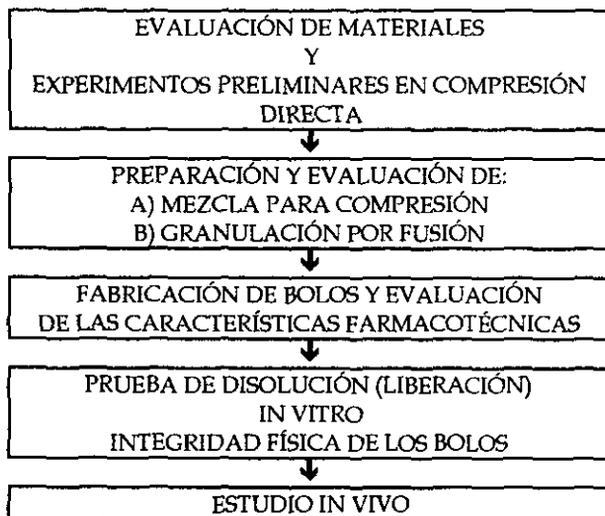


Figura 14. Las cinco etapas del plan experimental

7. MÉTODOS

7.1. PRIMERA ETAPA

7.1.1. Evaluación del Excipientes

Morfología y Textura de las partículas. La morfología de las partículas es un parámetro importante para las características de flujo y aglutinamiento de los excipientes, especialmente cuando se trata de compresión directa. Los estudios de Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) se llevaron a cabo en un microscopio electrónico de barrido JEOL JSM-25S II (Laboratorio de Microscopía Electrónica, FES-Cuautitlán UNAM), con la colaboración del técnico Rodolfo Robles Gómez. En el caso de la Sulfametazina sódica los estudios se realizaron en un microscopio óptico.

Compresión Directa. Se realizó una mezcla física de los materiales (100g), de acuerdo a la formulación tipo en la Tabla 9. Además esta mezcla se llevó a comprimir usando punzones redondos, planos de 16 mm de diámetro y usando una prensa de laboratorio (Carver press), se aplicó una fuerza de 2 toneladas durante 10 segundos.

7.2. SEGUNDA ETAPA

Tabla 9. Formulación Tipo

Ingrediente	Contenido (% w/w)
Sulfametazina Sódica	39.5
Hierro Reducido	40.0
Aceite de Castor Hidrogenado (Cutina HR)	20.0
Estearato de Magnesio	0.50

7.2.1. MÉTODO I. COMPRESIÓN DIRECTA

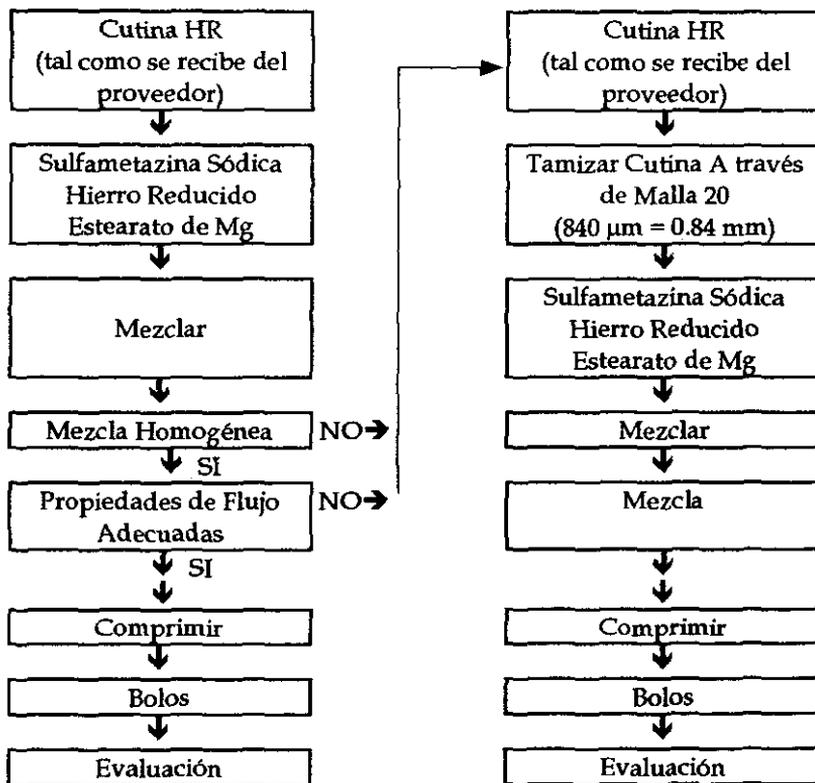


Figura 15. Diagrama de Flujo para Compresión Directa

7.2.2. MÉTODO II. GRANULACIÓN POR FUSIÓN

Tabla 10. Formulaciones para Granulación

Ingrediente	F1	F2
Sulfametazina Sódica	39.5%	28.5%
Aceite de Castor Hidrogenado (Cutina HR)	20.0%	25.0%
Hierro Reducido	40.0%	46.0%
Estearato de Magnesio	0.5%	0.5%
Total	100%	100%

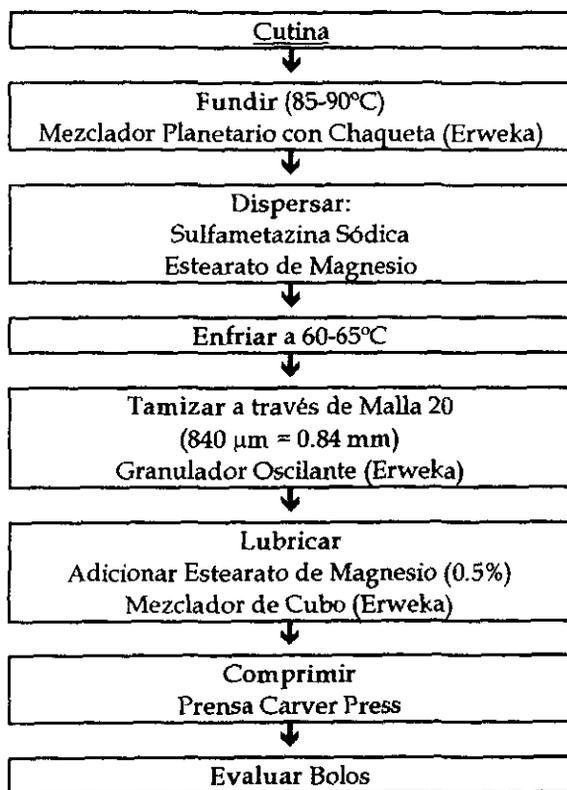


Figura 16. Diagrama de Flujo para Granulación por Fusión

PROCEDIMIENTO

1. Dependiendo de la formulación, se pesaron cuidadosamente los materiales
2. Se colocó la cutina en el recipiente del mezclador planetario
3. Se inició el calentamiento y agitación ligera (10 r.p.m.), para promover la fusión de la cutina, verificando que la temperatura alcanzara los 85°C y se mantuviera en el rango de 85-90°C.
4. Se detuvo el mezclador y se adicionó el hierro reducido. enseguida continuó el mezclado por 5 minutos.
5. Nuevamente se detuvo el mezclador y se adicionó el 50% de la sulfametazina sódica. Se inició nuevamente el mezclado, y después de 5 minutos, se adicionó el 50% restante de principio activo.
6. Se aumentó la velocidad del mezclador a 20 r.p.m. y se continuó con el mezclado por 20 minutos más.
7. Una vez lograda la homogeneización se disminuyó la temperatura a 60-65°C.
8. Se procedió a tamizar la masa en un granulador oscilante equipado con una malla 20, y se recibió el producto en una charola de acero.
9. Se dejó enfriar a temperatura ambiente
10. Una vez frío, el granulado se tamizó nuevamente para calibrar el tamaño de los gránulos.
11. Antes de la compresión, se lubricó el granulado mezclándolo con estearato de magnesio en un mezclador de cubo a 25 r.p.m. durante 10 minutos.

EVALUACIONES A LA GRANULACIÓN

Velocidad de flujo intrínseca. Las propiedades de flujo de las granulaciones se determinaron midiendo el tiempo (en segundos), necesario para que 100g de granulación pasaran a través de un embudo con diámetro de 1 cm en la salida. Para cada granulación la prueba se realizó por triplicado.

Ángulo de reposo dinámico. En esta prueba se recibió el material del experimento anterior, sobre una superficie lisa (charola de acero), colocada a 10 cm de la salida del embudo. Una pila del material se formó sobre la charola de acero y con la ayuda de un transportador se midió el ángulo en tres puntos diferentes y la prueba se realizó por triplicado.

Ángulo de reposo estático. El ángulo de reposo se define como el ángulo entre la horizontal y la pendiente de una pila del material. En esta prueba se colocaron 100g del material dentro de un cilindro de acero hueco, cerrado en su parte inferior con un tapón de hule. El cilindro se retiró cuidadosamente en posición vertical y la pila del material se formó sobre el tapón de hule. El ángulo de reposo se midió en tres puntos diferentes de la pila y la prueba se realizó por triplicado.

Cinética de Consolidación

Un volumenómetro (tasómetro Vankel) equipado con una probeta graduada se utilizó para seguir la evolución de la densidad aparente de las granulaciones con respecto a un cierto número de asentamientos (tasamientos) controlados. Se emplearon 60 gramos (M), de la granulación correspondiente; para cada número de asentamientos se llevaron a cabo tres determinaciones, se estudió la cinética promedio y se anotaron los siguientes volúmenes particulares: Volumen inicial (V_0), y después de 5, 10, 20, 30, 40, 50, 100, 200, 300, 400, 500, y 1000 asentamientos. Estos valores permiten el cálculo de:

$$\text{Densidad aparente } (\rho_a) = M/V_0$$

$$\text{Densidad compactada } (\rho_c) = M/V_{1000}$$

$$\text{Índice de compresibilidad de Carr} = [(\rho_c - \rho_a)/\rho_c] (100)$$

$$\text{Índice de Hausner} = \rho_{\max}/\rho_{\min} = \rho_c/\rho_a$$

7.3. TERCERA ETAPA

7.3.1. PRIMERA COMPRESIÓN

La obtención de los bolos se llevó a cabo mediante la compresión de 5g de granulado Formulación 1 y 6.93g de granulado Formulación 2, respectivamente. En cualquier caso, la cantidad de principio activo por bolo sería la misma. Se utilizó una prensa de laboratorio "Carver Press" (Laboratorio de Tecnología Farmacéutica, FES-Cuautitlán UNAM). El llenado de la matriz se realizó de forma manual. Se utilizaron punzón y matriz oblongos (39 mm de largo y 16.4 mm de ancho), para dar la forma deseada al bolo, un tiempo de compresión de 10 segundos y una fuerza de compresión de 3 toneladas.

7.3.2. SEGUNDA COMPRESIÓN

La obtención de los bolos se llevó a cabo mediante la compresión de 10g de granulado F1 y 13.94g de granulado F2, respectivamente. En cualquier caso, la cantidad de principio activo por bolo sería la misma. Se utilizó una prensa de laboratorio "Carver Press" (Laboratorio de Tecnología Farmacéutica, FES-Cuautitlán UNAM). El llenado de la matriz se realizó de forma manual. Se utilizaron punzón y matriz oblongos (39 mm de largo y 16.4 mm de ancho) para dar la forma deseada al bolo, un tiempo de compresión de 10 segundos y una fuerza de compresión de 3 toneladas.

Las evaluaciones realizadas a los bolos así obtenidos fueron: masa, longitud, ancho y espesor, dureza y densidad.

Dureza. La dureza de los bolos se evaluó como resistencia a la ruptura. La determinación se realizó empleando un durómetro VanKel VK200 (Laboratorio de las Especializaciones en Farmacia Industrial, FES-Zaragoza UNAM). Las unidades en kilopounds (kp). La prueba se realizó a 10 bolos de cada formulación.

Longitud, anchura y espesor. Se midieron los tres parámetros a 10 bolos de cada formulación utilizando para ello un micrómetro digital Mitutoyo Modelo IDS-1012EB (Laboratorio de las Especializaciones en Farmacia Industrial, FES-Zaragoza UNAM).

Densidad. La densidad de los bolos se calculó determinando la masa del bolo en una balanza analítica digital OHAUS Modelo GA110 (Laboratorio de las Especializaciones en Farmacia Industrial, FES-Zaragoza UNAM), y posteriormente determinando su volumen por desplazamiento de agua dentro de una probeta graduada.

$$\rho = M/V$$

Donde:

ρ = Densidad del bolo (g/cm³),

M = Masa del bolo (g), y

V = Volumen del bolo (cm³)

7.4. PRUEBA DE LIBERACIÓN "IN VITRO"

El método que a continuación se describe fue desarrollado en la FES-Cuautitlán por la Q.F.B. Margot Gómez Mirón, el Q.F.B. José Antonio Garduño Rosas, y la Dra. Raquel López Arellano.⁽²²⁾

De acuerdo a las características de la sulfametazina sódica, se realizó una curva de calibración (por duplicado), usando el método colorimétrico de Bratton-Marshall, de forma tal que se obtuvo una curva de calibración apropiada.

La Figura 17 describe el procedimiento para la obtención del compuesto colorido y en la Figura 18 se muestra el procedimiento para realizar la curva de calibración.

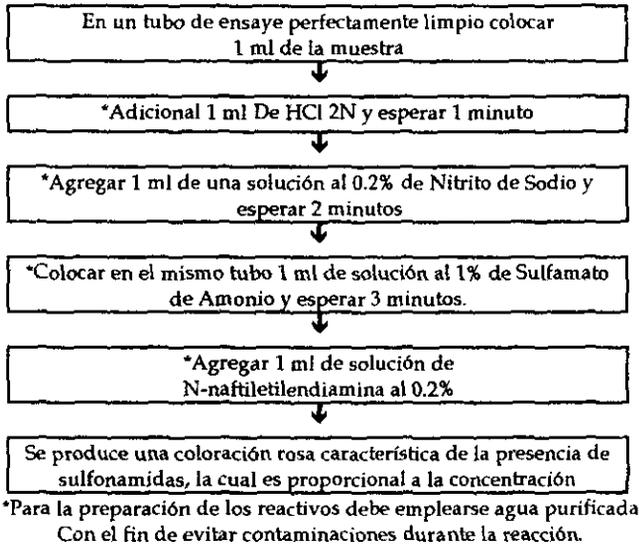


Figura 17. Procedimiento para la Formación del Compuesto Colorido Característico de Sulfonamidas y Cuantificable por Espectrofotometría Visible.

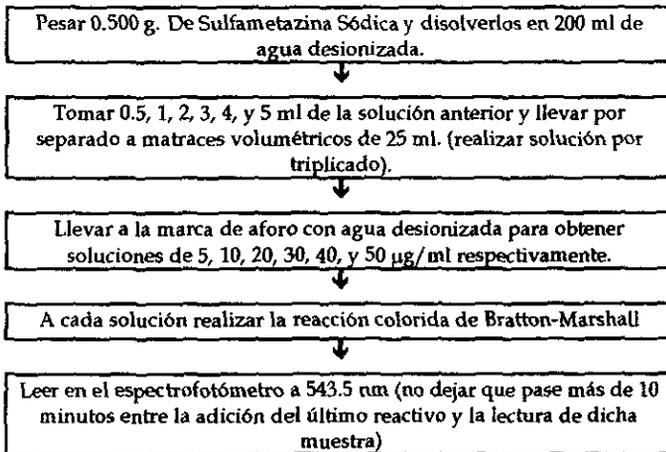


Figura 18. Preparación de la Curva de Calibración Empleando el Método Colorimétrico.

Se realizó el proceso de disolución (por duplicado), empleando los bolos F1 y F2 y se determinaron las concentraciones de sulfametazina sódica liberada a diferentes tiempos, empleando el método colorimétrico de Bratton-Marshall y la curva de calibración antes descrita.

La Figura 19 señala el procedimiento general de obtención de las muestras para la determinación de la concentración de Sulfametazina sódica liberada durante la disolución.

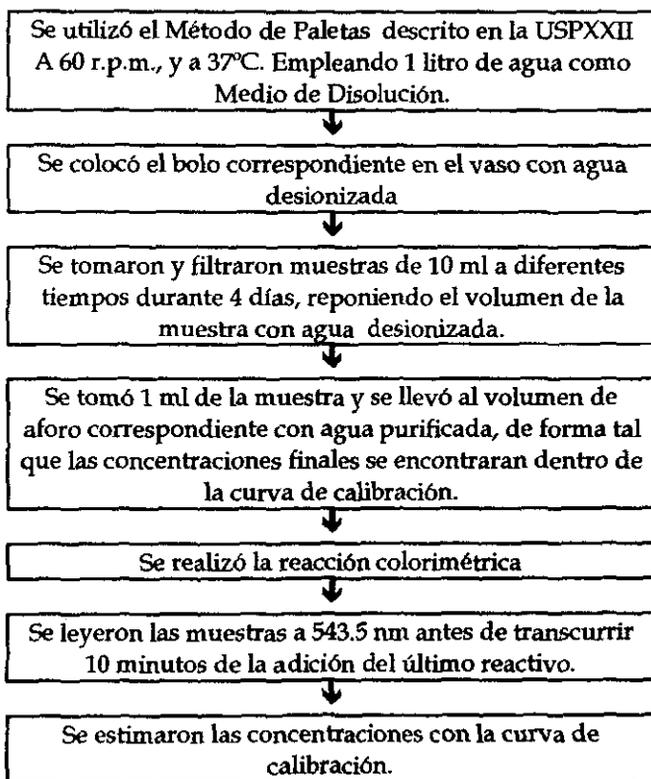


Figura 19. Procedimiento para determinación de concentraciones de Sulfametazina Sódica en la Prueba de Disolución.

7.4.1. INTEGRIDAD DE LOS BOLOS

Las características fisiológicas del tracto digestivo de los rumiantes proporcionan una gran oportunidad para la tecnología aplicada a liberación prolongada, especialmente con la capacidad de retención del retículo. Una forma farmacéutica retenida en este órgano debe ser capaz de liberar su ingrediente activo por un periodo prolongado de tiempo. Sin embargo, la regurgitación de este tipo de dispositivos en los rumiantes es un problema bien conocido. Para evitar este problema, la forma farmacéutica debe cumplir con requerimientos especiales en términos de densidad, forma, tamaño e integridad.

El problema de la integridad debe solucionarse produciendo un dispositivo de alta densidad con una lenta erosión a partir del cual el principio activo difunda progresivamente. Es sabido que un dispositivo que incorpora al ingrediente activo en una matriz de material inerte, actúa como un sistema de liberación sostenida efectivo.

Después de la liberación del activo y/o de los ingredientes solubles en agua, la matriz se torna porosa sin desintegrarse.

Microscopia Electrónica de Barrido (SEM). El estudio incluyó una serie de fotomicrografías de la matriz lipídica (bolo), de ambas formulaciones (F1 y F2), antes, durante y después de la prueba de liberación in vitro. Esto permitió obtener información valiosa sobre los procesos de erosión de la matriz y la formación de poros, a través de los cuales se facilita la liberación del principio activo desde la matriz al medio de disolución.

Se planteó el estudio de un bolo intacto (antes de la prueba), y el de bolos con 24, 48, y 72 horas en el medio de disolución bajo las condiciones de prueba. (ver prueba de liberación in vitro). Una vez transcurrido el tiempo correspondiente, se procedió a desechar el medio de disolución y se transfirió el bolo a una charola de aluminio, la cual se llevó al interior de un horno de lecho estático en donde se llevó a cabo el secado a 35°C durante 4 horas. Posteriormente se procedió al montaje, tratamiento y observación de las muestras al microscopio.

Los estudios de microscopia electrónica de barrido (SEM) se llevaron a cabo en un microscopio electrónico de barrido JEOL JSM-25S II (Laboratorio de Microscopia Electrónica, FES-Cuautitlán UNAM). Con la asesoría del técnico Rodolfo Robles Gómez.

Además, se tomaron fotografías a bolos partidos por la mitad para observar la zona de penetración del medio al interior de la matriz.

7.5. PRUEBA DE LIBERACIÓN IN VIVO

7.5.1. ADMINISTRACIÓN DE LOS BOLOS

Se emplearon 10 cabras raza alpina con un promedio de peso inicial de 14.600 kg, mantenidas en jaulas metabólicas controlando de esta manera su alimentación, reduciendo la posibilidad de reinfección (ver Figura 20). Además se monitoreó el peso de cada animal durante el experimento. El trabajo se realizó en las instalaciones de Medicina Veterinaria en el Campo Cuatro de la FES-Cuautitlán, con la colaboración del Dr. Jorge Tórtora Pérez, el M.V.Z. Oscar Chávez y la M.V.Z. Angélica Garza.

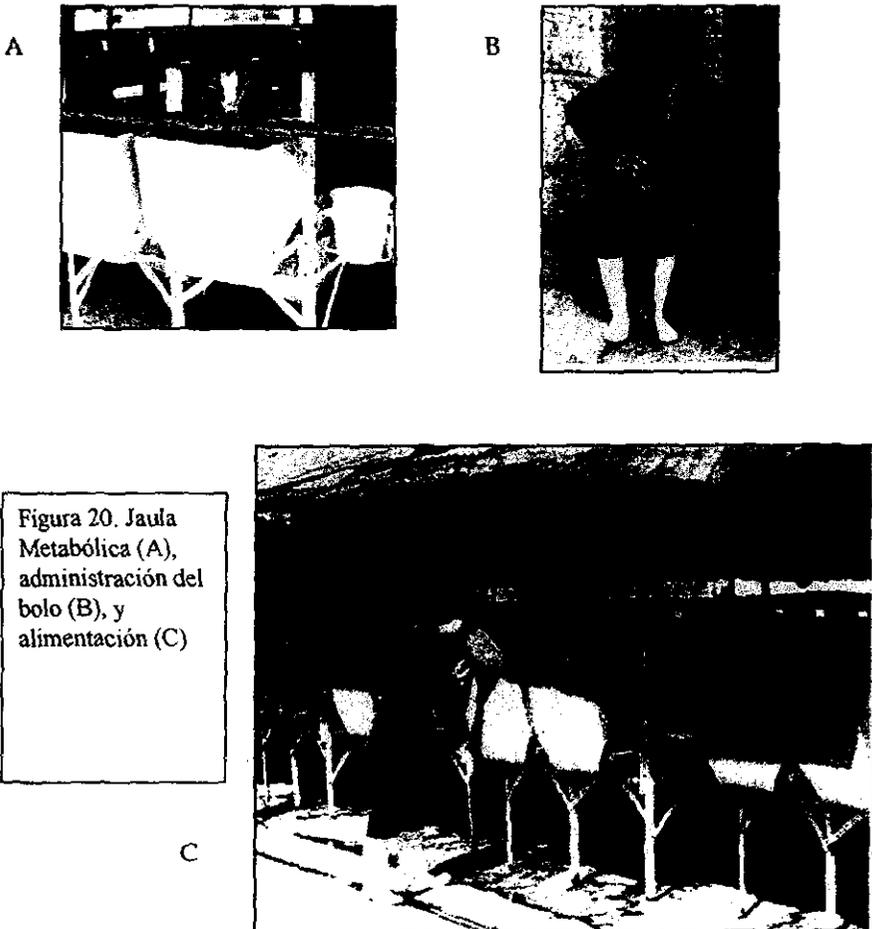


Figura 20. Jaula Metabólica (A), administración del bolo (B), y alimentación (C)

Las cabras se distribuyeron de la siguiente manera, respecto al bolo que habrían de recibir:

Tabla 11. Distribución de Cabras para Estudio

Cabra	Fórmula
201	F1
214	F1
228	F1
48	F1
219	F1
21	F2
36	F2
203	F2
208	F2
220	F2

Se administró un bolo a cada uno de los diez animales por vía oral, colocándolo manualmente en la zona retrolingual.

7.5.2. PERFILES PLASMÁTICOS

Se realizó una toma de muestra sanguínea justo antes de la administración y a las 1, 2, 4, 8, 12, 24, 36, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 192, 216, 240, 264, 288, 324, 360, 408, 456, 603, 627 y 651 horas después de la administración. De esta muestra se obtuvo plasma y éste se analizó para determinar concentración de sulfametazina sódica empleando el método desarrollado por la Q.F.B. Ana Belem Trujeque García, la Dra. Raquel López Arellano, y el Q.F.B. José Antonio Garduño Rosas en FES-Cuautitlán. (35)

7.5.3. CUENTAS DE OOQUISTES

Se realizó un conteo de ooquistes en las heces fecales de las cabras antes de la administración, y pasadas 264, 480, y 696 horas de la administración del bolo, utilizando la técnica de MacMaster.

7.5.4. ESTUDIOS DE RAYOS-X

La localización de los bolos al interior de las cabras y su evolución en el tiempo se estudiaron a través de placas radiográficas de los animales. El estudio se llevó a cabo en la clínica de pequeñas especies de la FES-Cuautitlán. Debido a la naturaleza densa del bolo fue posible su observación en tales placas.

Para disminuir al máximo los efectos de la radiación en los animales, los estudios se llevaron a cabo en dos animales cada día (uno de cada grupo), y pasados diez días de la administración, sólo los animales tratados con F2 se llevaron a estudio hasta completar 3 semanas.

7.5.5. BOLOS DE RUMEN

Aproximadamente a los 20 días de la administración, dos de las cabras expulsaron (regurgitaron) el bolo o lo que quedaba de él. Se decidió entonces realizar un estudio de microscopía óptica y electrónica de barrido. Primeramente se secaron los bolos en un horno a 35°C, ya que no puede entrar una muestra húmeda al microscopio electrónico de barrido. Se tomaron algunas fotografías normales a color antes de fragmentar los bolos y dar tratamiento a algunos pedazos pequeños para su estudio en el microscopio electrónico. Se tomaron algunas micrografías para estudiar la integridad de estos bolos después de haber soportado el ambiente del rumen.

8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1. PRIMERA ETAPA

8.1.1. EXCIPIENTES

La figura 21 muestra a una partícula de cutina vista al microscopio electrónico de barrido. Estas partículas tienen forma de "hojuela" o pequeñas placas de aspecto ceroso y color blanco. El tamaño es irregular y podemos encontrar placas de uno y hasta 10 mm de longitud y unas décimas de milímetro de espesor. El material en conjunto se muestra poco denso, lo cual representaría un problema para el mezclado y el flujo.

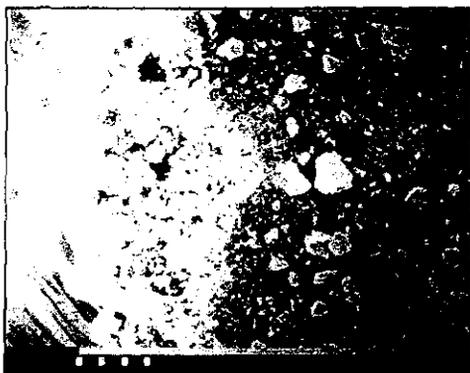


Figura 21. Micrografía de una partícula de cutina
La barra Corresponde a 1000 μm (1 mm)



Figura 22. Fotografía de cristales de sulfametazina sódica en microscopio óptico
La barra corresponde aproximadamente a 10 μm .

La figura 22 muestra cristales del principio activo, sulfametazina sódica, vistos al microscopio óptico. Se puede apreciar un habito acicular, es decir, con forma de agujas. Los cristales son finos y su tamaño es de 30 a 50 micrómetros. Cabe mencionar que los cristales con forma de aguja son unos de los que presentan mayores problemas para fluir apropiadamente.

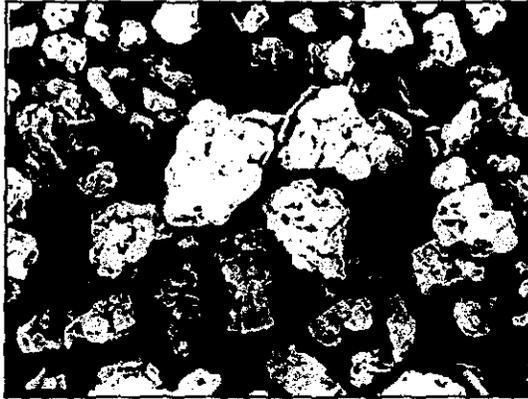


Figura 23(a). Micrografías partículas de hierro reducido.
La barra corresponde a 100 μm



Figura 23(b). Micrografía partícula de hierro reducido (aumento)
La barra corresponde a 10 μm

La figura 23(a) y 23(b), muestran partículas de hierro reducido tal y como se observan al microscopio electrónico de barrido.

La forma de las partículas es irregular y tienen un tamaño en el rango de Malla 325. Los polvos muestran un color gris oscuro de apariencia metálica y muy finos al tacto. Este es el material con tamaño de partícula más pequeño y con la mayor densidad, de aquí su función como densificador en la formulación.

Así pues, se manejaron materiales muy diferentes en tamaño, forma y densidad. Esto de entrada ya plantea un problema para lograr una mezcla homogénea y con buenas características de flujo. Además, aunque fuera posible conseguir tal mezcla, los problemas de segregación debidos a las diferencias en densidad estarían presentes cuando esta mezcla física fluyera de la tolva hacia el distribuidor y de allí al interior de las matrices.

8.2. SEGUNDA ETAPA

8.2.1. COMPRESIÓN DIRECTA

Se pensó primeramente en la compresión directa como un medio para la fabricación de los bolos que resultaría barato por el ahorro en tiempo, equipo y consumo de energía. De esta forma se comenzó por realizar una mezcla física de los excipientes, incluyendo a la cutina tal y como se obtuvo del proveedor. Esta mezcla resultó totalmente heterogénea como se había previsto por las características de los materiales (ver figura 24). A pesar de ello, se llevó a cabo la compresión.

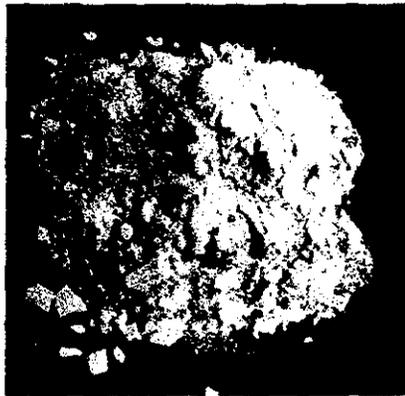


Figura 24. Mezcla física para compresión directa

Los "bolos" cilíndricos resultantes mostraron una gran diferencia en su espesor a pesar de contar con la misma masa. Otra característica fue la de distribución heterogénea de los componentes, ya que algunos se observaron de color más blanco, debido al contenido de cutina, y algunos otros más grises debido a la presencia del hierro reducido (ver figura 25 A y B).

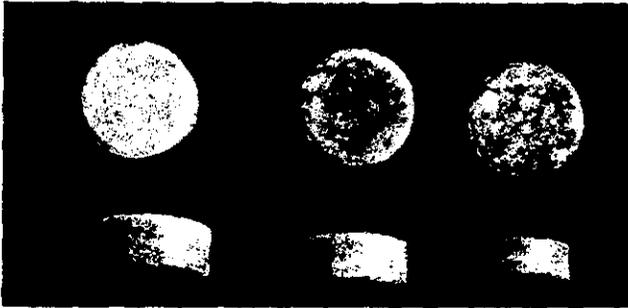


Figura 25(A). Bolos obtenidos por compresión directa de la mezcla



Figura 25(B). Bolos obtenidos por compresión directa de la mezcla

Para mejorar la homogeneidad de la mezcla y por lo tanto de los bolos, se procedió a moler la cutina. Con la cutina molida se elaboró una segunda mezcla física (figura 26), y con ella un segundo grupo de bolos cilíndricos (Figura 27).



Figura 26. Mezcla física con cutina molida

Lo que se observó fue una mezcla más homogénea pero también con una cantidad mayor de aire incluido, es decir, se observaba menos densa. Los cilindros obtenidos mostraban tales características, una mayor uniformidad pero menor consistencia.



Figura 27. Bolos obtenidos por compresión directa de mezcla física con cutina molida

Los bolos cilíndricos así obtenidos parecían tener una mejor distribución de los componentes. Entonces se decidió realizar una prueba de disolución (liberación) sencilla, con el objeto de comprobar el comportamiento de estos sistemas y verificar su consistencia e integridad.

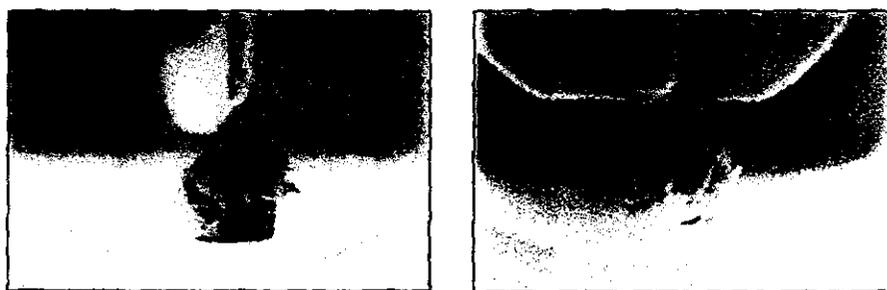


Figura 28. Bolos cilíndricos a las 4 horas de disolución en agua a 37°C y 60 r.p.m.

La figura 28 muestra los bolos en el interior del vaso al momento de la disolución. Se puede observar a la cutina fuera del bolo formando una estructura en forma de remolino debida a la agitación, o simplemente, pegada al fondo del vaso.

Cabe mencionar que la disolución se completó en las primeras 4 horas, y una vez terminada la prueba se recuperaron cuidadosamente los bolos y se secaron. La figura 29 los muestra con claridad.

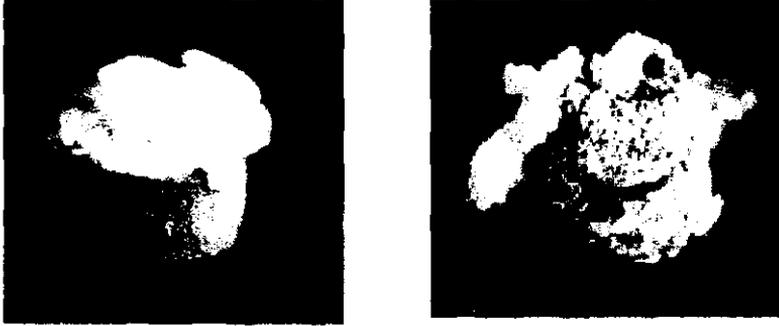


Figura 29. Bolos cilíndricos secos después de 4 horas de disolución en agua a 37°C y 60 r.p.m.

Los resultados anteriores indicaron que la compresión directa no era el método adecuado para fabricar un sistema tipo matriz, ya que si bien la cutina se distribuía de manera uniforme, no formaba un sistema que embebiera al principio activo y los demás componentes. De esta forma los productos resultantes resultaron frágiles y no aptos para el ambiente del rumen y para controlar la liberación en la medida requerida. La compresión directa quedó así atrás y se optó por la granulación por fusión.

8.2.2. GRANULACIÓN POR FUSIÓN

Características de las Granulaciones

La Tabla 12 resume las propiedades de flujo y las densidades de las dos granulaciones.

Propiedad	F1	F2
Ángulo de Reposo Estático (°)	42.8	42.2
Ángulo de Reposo Dinámico (°)	38.9	39.0
Velocidad de Flujo Intrínseca (g/s)	13.0	13.2
Densidad Aparente (g/cm ³)	0.8740	0.8695
Densidad Compactada (g/cm ³)	0.9279	0.9326
Índice de Compresibilidad (%)	5.7681	6.7660
Índice de Hausner	1.061	1.072

Considerando que ángulos de reposo entre 28 y 42° constituyen un buen rango de trabajo para materiales farmacéuticos, se puede decir que ambas granulaciones poseen propiedades de flujo apropiadas. Respecto a la velocidad de flujo intrínseca, generalmente se desea que un material fluya a razón de 10 g/s, así que ambas granulaciones mostraron una velocidad de flujo excelente, debida probablemente a su tamaño y a su densidad. Las densidades aparente y consolidada de F1 y F2 son altas y con valores muy semejantes. Esto indica que pueden formar un arreglo compacto y facilitar la compresión.

De acuerdo a la interpretación del índice de Carr para el flujo y la velocidad de "empaquetamiento" o rearrreglo de las partículas, ambas granulaciones están en el rango de 5-15 y su calificación es de excelente. Hay que recordar que conforme estos materiales fluyan hacia el interior de las matrices, se arreglarán en una estructura que corresponde a la densidad aparente. Lo primero que ocurrirá es que la granulación se rearrreglará (se reacomoda y se ordena), y lo que tendremos será un arreglo que corresponde ya a la densidad compactada. A esta etapa la denominamos etapa de "rearrreglo" o "reempaque". La velocidad con que esto ocurre es muy importante para la formación del bolo. Si la velocidad con que un material se rearrregla es muy lenta, entonces la compresión puede dar lugar a fracturas y deformación plástica en algunas zonas, antes de que el rearrreglo comience en otras. En consecuencia, la compresión producirá bolos con menor densidad local en un área en particular de los mismos. Además, si el rearrreglo no es lo suficientemente rápido, se forman "huecos" que eventualmente llevarán a la formación inadecuada de bolos con una gran cantidad de aire atrapado.

La forma en que se rearreglan las granulaciones se puede observar en las Figuras 30 y 31.

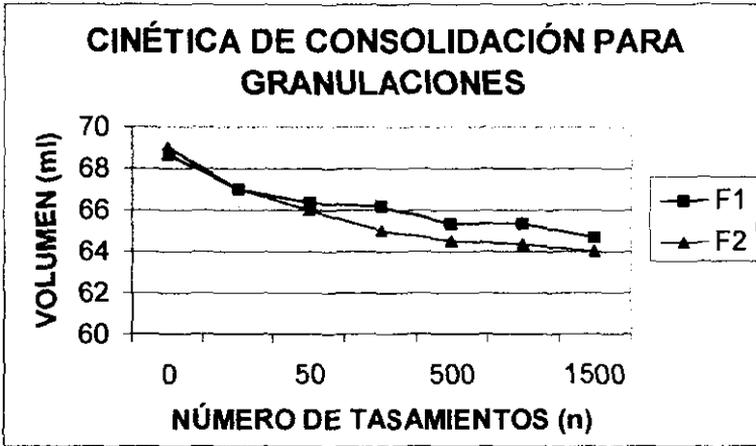


Figura 30. Cinética de consolidación para las granulaciones

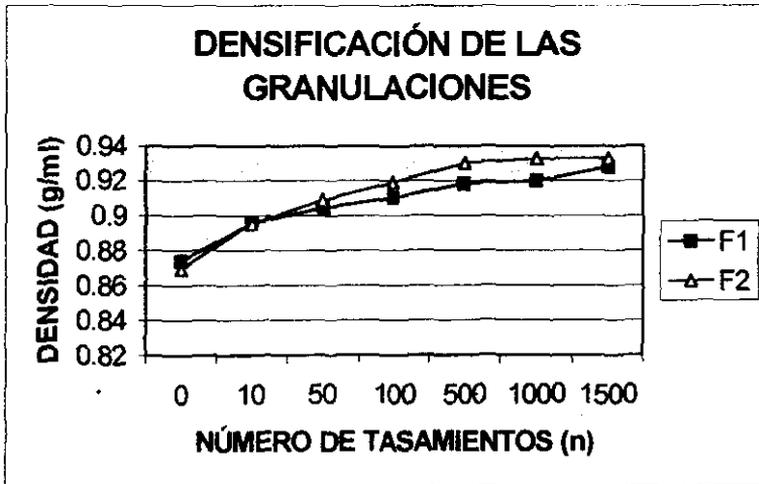


Figura 31. Evolución de la densidad aparente de las granulaciones en función del número de asentamientos

De acuerdo con los gráficos anteriores, el reacomodo de las granulaciones ocurre de forma gradual. Sin embargo, la diferencia entre el volumen inicial y el volumen final de cualquiera de ellas resultó menor o igual a 5 ml, mientras que para materiales farmacéuticos es deseable que sea menor a 20 ml. Esto quiere decir que la porosidad interparticular en las granulaciones es baja, los datos indican que es menor al 7%.

El otro índice de consolidación, el de Hausner indica que conforme los valores se acercan al valor de uno, la fluidez del material pasa de regular (1.25), a buena (1.18-1.19), muy buena (1.14), y excelente (1.1-1.09). Los resultados una vez más nos demuestran las excelentes propiedades de flujo de las granulaciones.

8.3. TERCERA ETAPA

8.3.1. PRIMERA COMPRESIÓN

Los resultados de la primera compresión se muestran a continuación:

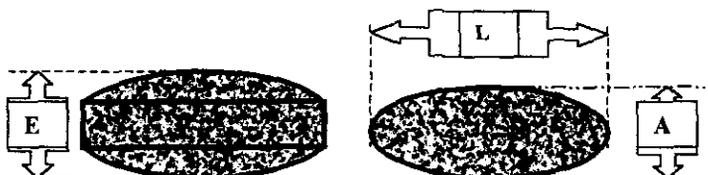


Figura 32. Dimensiones de los bolos

Tabla 13. Resultados para bolos F1 y F2 en la primera compresión

Bolo	Masa (g)	Largo (mm)	Ancho (mm)	Espesor (mm)	*Dureza (kp)	Densidad (g/ml)
F1	5.016	39.05	16.45	6.67	15.71	1.8176
F2	6.9324	39.00	16.41	8.39	20.91	1.9288

* Nota: la dureza se determinó midiendo la resistencia a la ruptura de los bolos por su Ancho (A), ya que las determinaciones a lo largo (L) en todos los casos resultaron mayores a 35 kp (Capacidad del Equipo).

Los bolos resultaron casi de 4 cm de longitud, con una densidad cercana a los 2 gramos por centímetro cúbico, y en ambos casos mayor a 1.8. La resistencia a la ruptura se midió a lo largo y ancho de los bolos, sin embargo, las lecturas en la dirección del ancho del bolo resultaron mayores a los 35 kp, que es la mayor dureza que puede registrar el equipo. Las durezas observadas para ambas formulaciones indican que poseen buena compactabilidad y que los bolos tienen gran consistencia.

8.3.2. SEGUNDA COMPRESIÓN

Una vez comprobado que a partir de las granulaciones se podían fabricar bolos consistentes de manera uniforme, procedimos a fabricar los bolos que serían utilizados para las pruebas in vivo y por supuesto para las pruebas de liberación in vitro.

Al igual que con los bolos de la primera compresión, los de la segunda también serían diferentes en masa total pero no en el contenido de sulfametazina sódica. De esta forma, se realizaron los cálculos para que cada bolo proporcionara una dosis de 265 mg/kg de peso, considerando a un animal de 15 kg. Así los bolos de la formulación uno tendrían una masa de 10 gramos aproximadamente, y los bolos de la formulación dos una masa de 13.96 gramos aproximadamente. Es decir, tendrían el doble de la masa de los bolos de la primera compresión. Los resultados se muestran en la Tabla 14.

Tabla 14. Resultados para bolos F1 y F2 en la segunda compresión

Bolo	Masa (g)	Largo (mm)	Ancho (mm)	Espesor (mm)	Dureza (kp)	Densidad (g/ml)
F1	10.0930	39.03	16.42	11.64	>35	1.8416
F2	13.9465	39.02	16.41	15.09	>35	1.9312

Estos bolos además de contar con el doble de masa que los anteriores, resultaron con casi el doble de espesor, F1 sobrepasó los 11 milímetros de espesor, mientras que F2 llegó a medir 15 milímetros. Las durezas no se pudieron determinar, pues en ambos casos sobrepasaron la capacidad de 35 kp del equipo.

8.4. LIBERACIÓN IN VITRO

La prueba de liberación se llevó a cabo empleando dos bolos de cada formulación. Esta prueba sirvió para estimar la capacidad de la matriz lipídica como sistema para prolongar la liberación. La liberación de sulfametazina sódica desde los bolos se prolongó por 3 días, y considerando que los bolos se encontraban sumergidos en un medio líquido y con agitación, esto era un indicio de que su desempeño in vivo podría ser realmente más prolongado. La figura 33 muestra la concentración de sulfametazina en el medio de disolución en función del tiempo, y la Figura 34 el porcentaje liberado en función del tiempo.

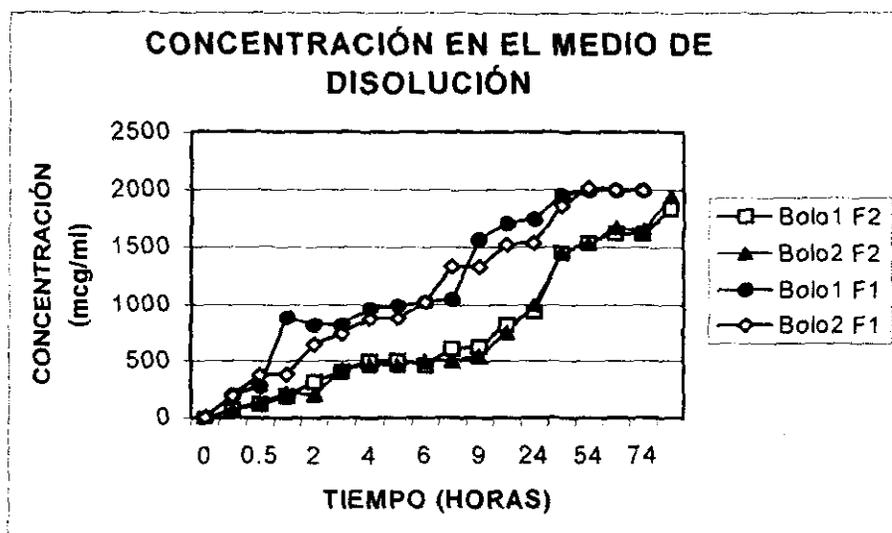


Figura 33. Concentración de sulfametazina sódica contra tiempo

Ambas figuras son dos formas diferentes de ver la evolución de la liberación de sulfametazina, una en concentración y la otra en porcentaje. En cualquier caso, los perfiles para los bolos F1 están por encima de los perfiles para los bolos F2. Esto quiere decir que F1 libera más rápido al principio activo y que F2 prolonga más la liberación. La liberación del 50% de sulfa se logra en el caso de F1 entre las 5 y las 6 horas, mientras que para F2 se alcanza hasta las 24 horas. El 80% F1 lo logra entre las 12 y las 24 horas, F2 alcanza el mismo porcentaje de liberación de las 54 a las 58 horas.

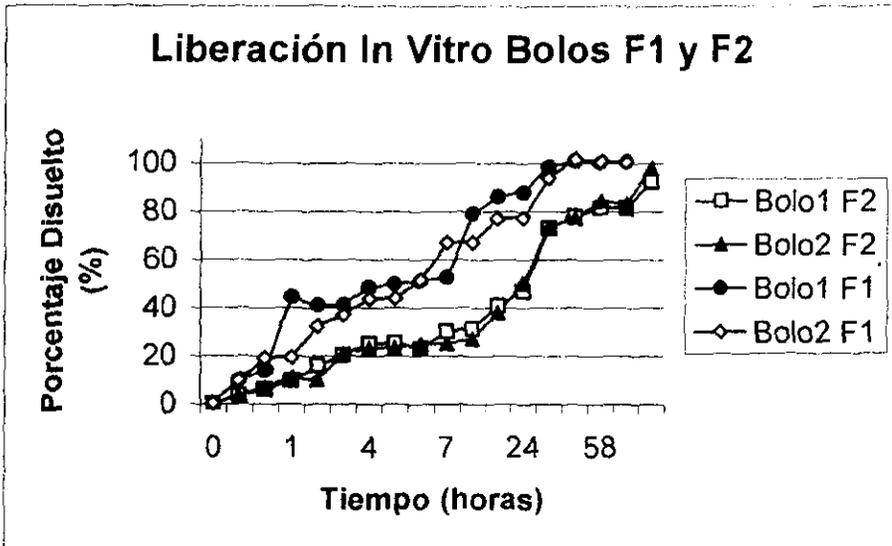


Figura 34. % Liberado de sulfametazina sódica contra tiempo

La Tabla 15 muestra los resultados para el análisis de regresión lineal aplicado a los datos de cada uno de los cuatro bolos.

Bolo (Formulación)	Ordenada al Origen ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	Pendiente ($\mu\text{g}/\text{ml}/\text{h}$)	Coefficiente de Regresión r
Bolo 1 (F1)	808.945	26.6318	0.80917
Bolo2 (F1)	638.1970	29.4478	0.8263
Bolo 1 (F2)	305.8671	20.9618	0.9615
Bolo 2 (F2)	275.9036	22.07832	0.97079

La pendiente es un indicativo de la velocidad de liberación. Se puede observar que los bolos elaborados con la formulación 1 liberan entre 4 y 9 microgramos más de sulfametazina por mililitro por cada hora que los bolos F2. Esto pudiera parecer poco, pero si se considera que el medio de disolución lo constituyen 1000 ml, y que la liberación alcanzó aproximadamente 72 horas, entonces las diferencias ya son considerables.

8.4.1. INTEGRIDAD DE LOS BOLOS

Se tomaron una serie de fotografías en el microscopio electrónico de barrido de la superficie de los bolos en el transcurso de la prueba de liberación in vitro a las 24, 48, y 72 horas. Además, los bolos se partieron por la mitad y fue posible observar dos zonas bien definidas al interior, en este caso tomamos fotografías normales y unas fotos en microscopio óptico para evidenciar este fenómeno.

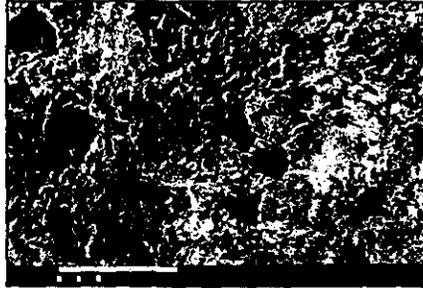


Figura 35 (A). Superficie F1 24 horas. La barra corresponde a 100 μm

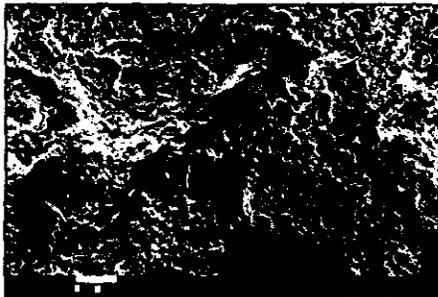


Figura 35 (B). Superficie F1 48 horas. La barra corresponde a 10 μm

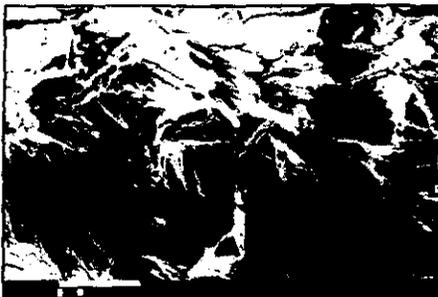


Figura 35 C. Cristales y/o impresiones de cristales de sulfametazina en la cutina F1 después de 48 horas. La barra corresponde a 10 μm

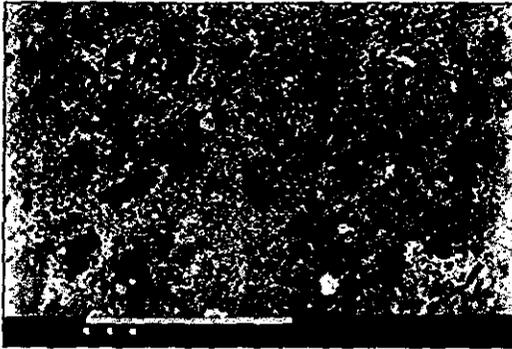


Figura 36 (A). Superficie F2 24 horas. La barra corresponde a 100 μ m

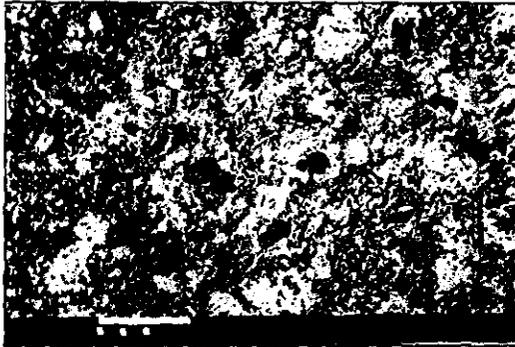


Figura 36 (B). Superficie F2 48 horas. La barra corresponde a 100 μ m



Figura 36 C. Superficie F2 72 horas. La barra corresponde a 100 μ m

Las fotografías demuestran que los bolos F1 se tornan porosos con más rapidez que los bolos F2, pero además, que estos poros son más grandes. En la Figura 35 es posible observar cristales de sulfametazina remanentes (recordar que el hábito de los cristales de este activo tienen forma de aguja), y/o sus impresiones en la cutina. Esto es, "huellas" impresas por los cristales en la cutina al momento de formarse la matriz, pero que han quedado huecas al disolverse el activo.



Figura 37 (A). Bolo F1 Intacto arriba y Bolo F1 24 horas abajo.



Figura 37 (B). Interior de Bolo F1 a las 24 horas

Podemos observar claramente la erosión en la superficie (37 A), y dos zonas perfectamente definidas al interior del bolo. Podemos pensar que el núcleo de color más intenso es la zona del bolo que permanece intacta, probablemente porque el medio no ha penetrado y no ha disuelto al activo, y en consecuencia se muestra como una zona de mayor densidad.



Figura 38 (A). Bolo F2 24 horas, superficie e interior

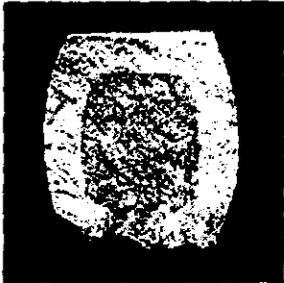
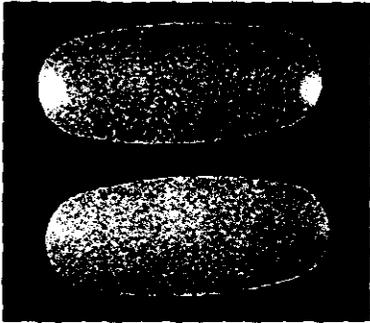


Figura 38 (B). Bolo F2 48 horas, superficie e interior

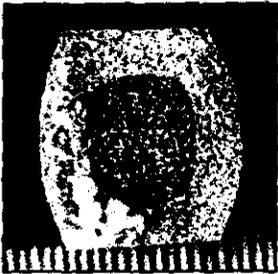


Figura 38 (C). Bolo F2 72 horas, superficie e interior

En las figuras 37 y 38 se puede comparar la integridad de los bolos F1 con los F2. La zona de color intenso al centro del bolo F1 (37 B), a las 24 horas es más pequeña que la misma zona en el Bolo F2 a la misma hora (38 A), y aún cuando el bolo F2 ya tiene 72 horas (38 C).

La apariencia externa del bolo F1 a las 24 horas en la Figura 37 (A), no aparece en los bolos de la formulación 2 sino hasta las 72 horas. Además, se puede observar que el mayor cambio en la apariencia externa de los bolos F2 es el cambio en la intensidad del gris metálico a un gris claro sin brillo.

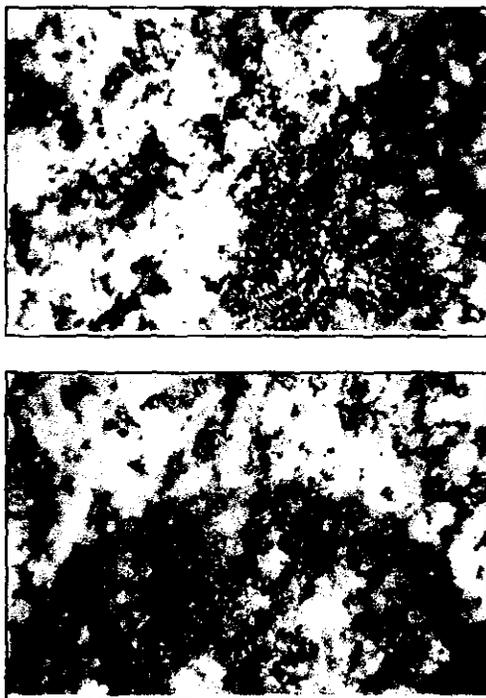


Figura 39. Interior de un bolo mostrando las dos zonas bien definidas

En la figura 39 se puede observar con mayor detalle una zona más blanca (externa), que aparece más porosa y que pudiera ser una matriz "fantasma", una vez que el fármaco disuelto por el medio ha difundido hacia el exterior dejándola vacía. En la figura inferior se puede notar la curvatura de la zona interna del bolo, que aparece como una zona en donde el fármaco permanece aún disperso en la cutina.

8.5. LIBERACIÓN IN VIVO

8.5.1. PERFILES PLASMÁTICOS DE SULFAMETAZINA

La Figura 40 muestra los perfiles plasmáticos promedio para ambas formulaciones.

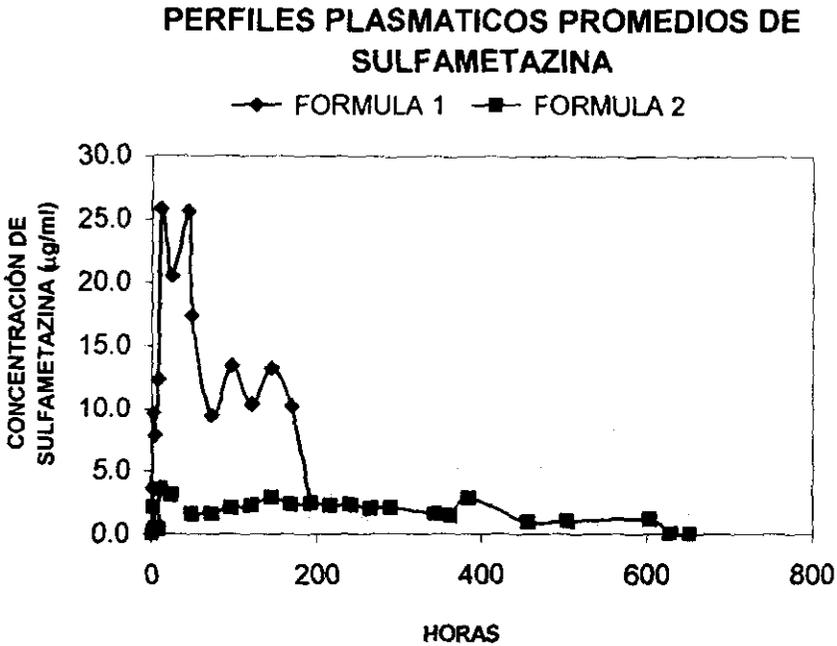


Figura 40. Perfiles plasmáticos promedio de sulfametazina

El gráfico muestra que las concentraciones plasmáticas de la formulación uno resultaron más altas (entre 10 y 25 microgramos por mililitro), pero que la sulfametazina desapareció del plasma aproximadamente a las 200 horas, es decir, a los 8 días. Por otra parte, las concentraciones plasmáticas para la formulación dos, menores de 5 microgramos por mililitro, se mantuvieron por un periodo de 600 horas, esto es la sulfametazina se mantuvo por 25 días en circulación.

Los datos en plasma sugieren que el fármaco también estaba presente en el tracto digestivo desde donde se absorbió. Además es importante considerar que se utilizó una sulfa de baja absorción.

Adicionalmente, se puede pensar que en estos periodos de tiempo en que el activo está en circulación ejerciendo su acción farmacológica, los animales están de alguna manera siendo protegidos contra la enfermedad. Consecuentemente, los efectos sobre conteo de ooquistes, consumo de alimento y ganancia de peso de los animales deben ser evidentes. Además hay que recordar que los efectos pueden durar más que la presencia del fármaco en circulación.

8.5.2. CONTEOS DE OOQUISTES

La Figura 41 muestra los conteos de ooquistes promedio para ambas formulaciones en función del tiempo.

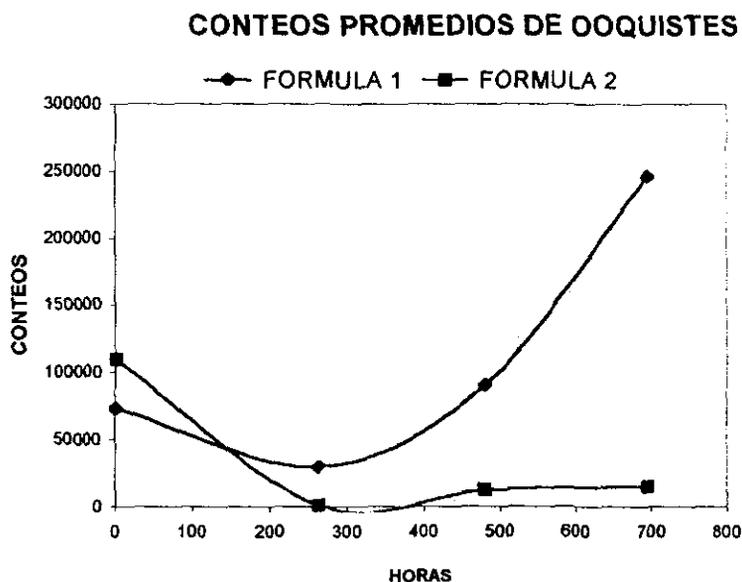


Figura 41. Conteos promedio de ooquistes

Tal como se observa, el efecto de los bolos sobre el conteo de ooquistes es contundente. En el caso de la formulación uno, las cuentas pasaron de 73,160 iniciales a 29,990 el punto más bajo de esa curva a las 264 horas, es decir a los 11 días. A partir de ese momento las cuentas de ooquistes comienzan a elevarse y se disparan por arriba de su valor inicial después de las 480 horas (20 días). Estos resultados concuerdan con los niveles plasmáticos de sulfametazina para tal formulación, figura 40, en donde la sulfa desapareció de circulación a los 8 días y por lo tanto se puede considerar que su efecto de protección duró once días y que después comenzó a ceder.

En el caso de la formulación dos, las cuentas pasaron de 109,400 iniciales a 1,100 a las 264 horas (11 días), y se mantuvieron bajas hasta las 696 horas (29 días). Estos hallazgos también concuerdan con los niveles plasmáticos de activo para esta formulación (ver figura 40), ya que la sulfametazina se mantuvo en circulación por 25 días. En este caso, el periodo de protección para los animales sería de aproximadamente un mes, tiempo más que suficiente para que el animal expuesto a la infección establezca una buena respuesta inmune.

8.5.3. CONSUMO DE ALIMENTO Y GANANCIA DE PESO DE LOS ANIMALES

La Figura 42 muestra el consumo promedio de alimento por las cabras en función del tiempo y del bolo recibido (F1 o F2).

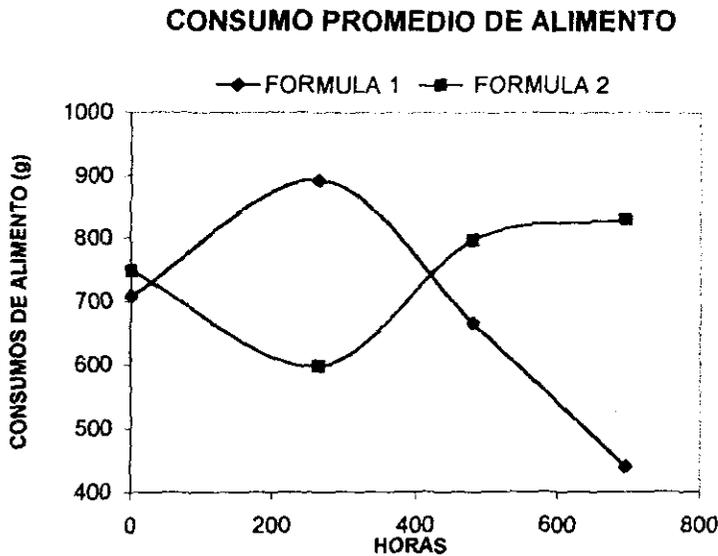


Figura 42. Consumo promedio de alimento

Las cabras tratadas con la formulación uno mostraron un aumento inmediato en el consumo de alimento y un máximo a las 264 horas (11 días). Hay que recordar que las coccidias son parásitos intestinales y que conforme el animal se va recuperando, aumenta no solo el consumo de alimento sino su capacidad para aprovecharlo. A partir del día 11 (figura 41), las coccidias se incrementan y el consumo de alimento en este grupo disminuye notablemente.

En el caso de los animales tratados con la formulación dos, existe una disminución inicial en el consumo de alimento. Este efecto puede atribuirse a varias causas, una de ellas que a pesar que el efecto sobre la cuenta de coccidias fue inmediato, el efecto sobre el consumo de alimento se retardó. Los resultados que se observan en el gráfico son los promedios del consumo de cinco animales y si alguna de las cabras bajó de manera significativa su consumo, el grupo en conjunto se vió afectado. Otra es que la manipulación del animal, por ejemplo para tomar las muestras de sangre en repetidas ocasiones y el estrés que pueda proporcionar el ambiente (frío o calor excesivos, lluvia, ruido) pudieran haber afectado el comportamiento de algunas de las cabras. A pesar de ello un aumento significativo en el consumo de alimento se pudo observar después del día 11 y hasta el día 29 en donde el consumo de alimento resultó mayor al inicial y casi de 390 g más que el consumo de alimento del grupo uno. El consumo del grupo dos entre el día 11 y el 29 subió en 231 g.

GANANCIA PROMEDIO DE PESO DE LAS CABRAS

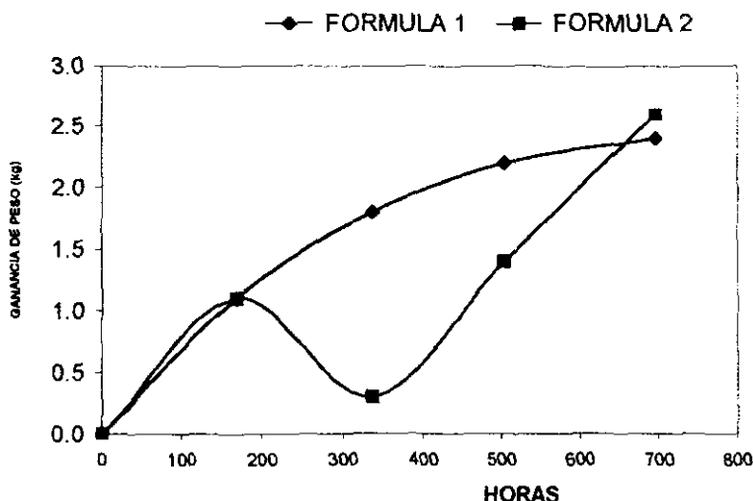


Figura 43. Ganancia Promedio de Peso de las Cabras

La Figura 43 demuestra que el efecto de la administración de los bolos, ya sea F1 o F2, tiene un efecto positivo sobre la ganancia en peso de los animales. Si bien existe un periodo en el cual baja el promedio del grupo dos, a partir de la segunda semana, el grupo se recupera y termina por arriba del grupo 1.

8.5.4. ESTUDIOS DE RAYOS-X



Figura 44 (A). Radiografía de cabra sin bolo

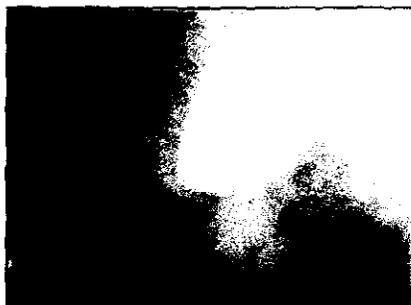
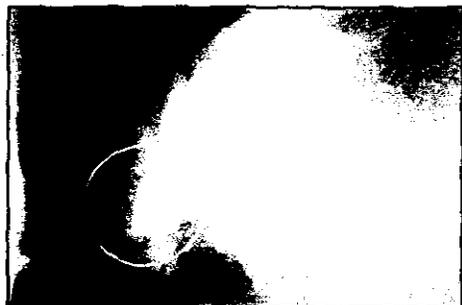


Figura 44 (B). Radiografía de cabra mostrando bolo entero



Figura 44 C. Radiografía de cabra mostrando bolo fragmentado

La figura 44 A muestra en primera instancia la radiografía de una cabra a la que todavía no se administraba el bolo. Se pueden observar los huesos y algunos compartimentos internos. Tal y como se muestra la imagen, la cabeza del animal estaría al lado izquierdo. En la Figura 44 B aparece la radiografía de una cabra mostrando en su interior un bolo localizado en rumen y retenido allí gracias a su densidad. En la Figura 44 C es posible observar a un bolo fragmentado en retículo. Esta situación posiblemente se deba a la pérdida de consistencia producida por la liberación del fármaco que va dejando una matriz cada vez más porosa, que puede finalmente fragmentarse por la masticación de la rumia.

Los bolos fabricados con la formulación F1, ya no pudieron ser visibles en las radiografías después de transcurridos 10 días de la administración, aunque se considera que alguno de ellos pudo permanecer al interior de la cabra por 14 días. Por otra parte, los bolos fabricados con la formulación F2, se observaron en las radiografías por 3 semanas (21 días). Esta diferencia en el tiempo de retención en reticulorumen indica que la densidad del bolo es un factor determinante para su permanencia en este compartimento.

8.5.5. BOLOS DEL RUMEN

Dos de los animales tratados con bolos de la formulación F2, regurgitaron los bolos respectivos después de 20 días de haber permanecido en su interior. Los bolos recuperados se secaron y fotografiaron. Finalmente se fracturaron y se observaron algunos fragmentos al microscopio electrónico de barrido. Los resultados se muestran en la figura 45.

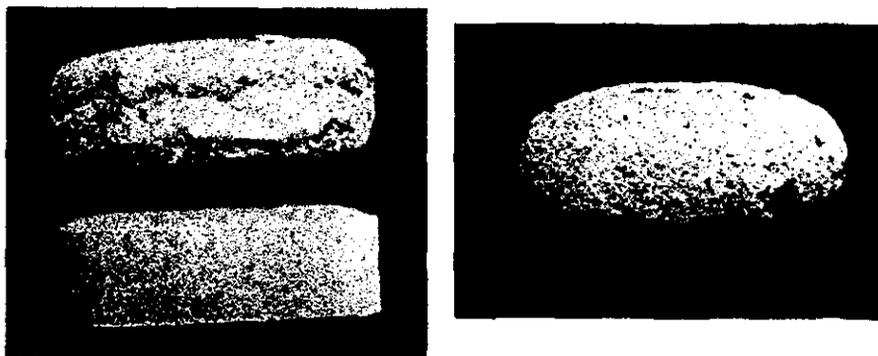


Figura 45. Bolo1 F2 regurgitado. comparación con un bolo intacto

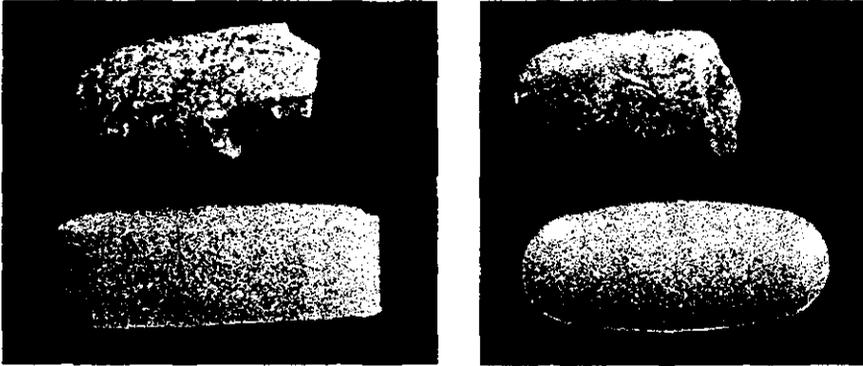


Figura 46. Bolo2 regurgitado. comparación con un bolo intacto

Las figuras 45 y 46 muestran la apariencia de los dos bolos que permanecieron 20 días en el rumen de las cabras. La diferencia es muy notoria, presentan una coloración rojiza, se pueden observar restos de alimento (semillas o restos de forraje), sobre la superficie. Los bolos también se observan con fracturas, y en el segundo caso hasta le hace falta una porción. En este último caso da la impresión de que el bolo fue mordido por el animal. Ya no es posible observar el color gris metálico inicial y los bolos se observan con pequeñas "motas" rojas sobre el material blanco (cutina).

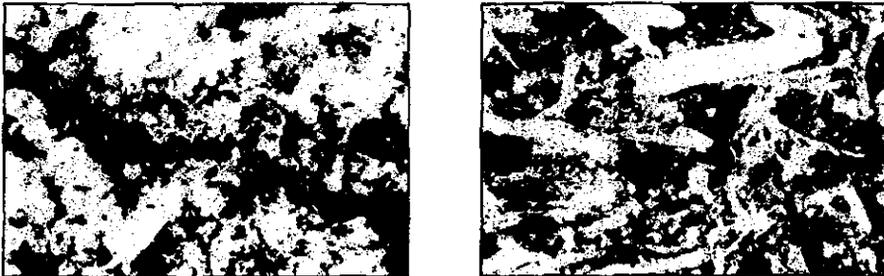


Figura 47. Superficie de bolos regurgitados

En la figura 47 se observan imágenes de la superficie de los bolos. Se puede ver una de las grietas (izquierda), y distinguir resto de alimento pegado a la superficie. Las partículas de color rojo que se observan corresponden sin duda al hierro que ha sido oxidado.

Enseguida se presentan una serie de imágenes, correspondientes a las observaciones realizadas en el microscopio electrónico de barrido.

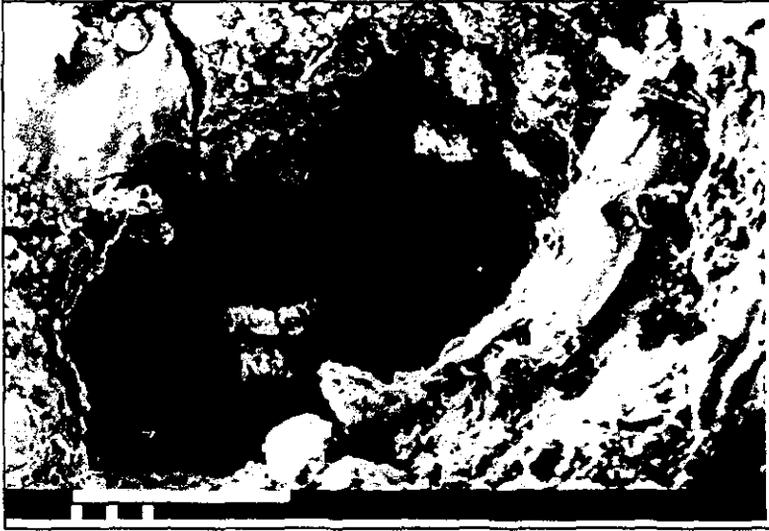


Figura 48. Micrografía de un poro en la matriz, la barra corresponde a 100 μm



Figura 49. Micrografía de la superficie de un bolo sobre una partícula de hierro
La barra corresponde a 100 μm

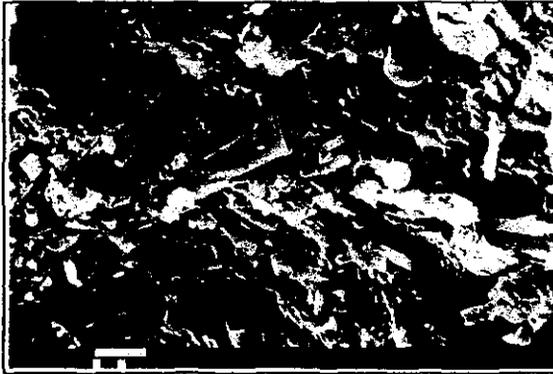


Figura 50. Micrografía de estructura con cristales de sulfuro, la barra corresponde a 10 μm

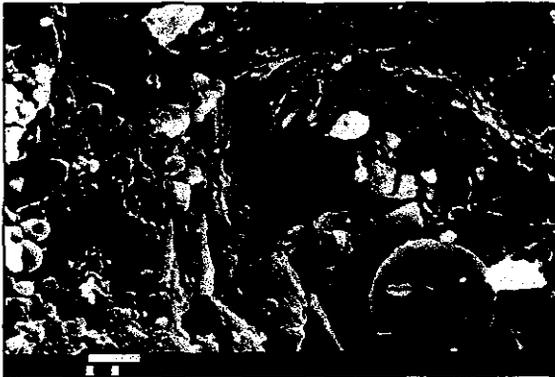


Figura 51. Micrografía de estructura con impresiones de sulfuro, la barra corresponde a 10 μm

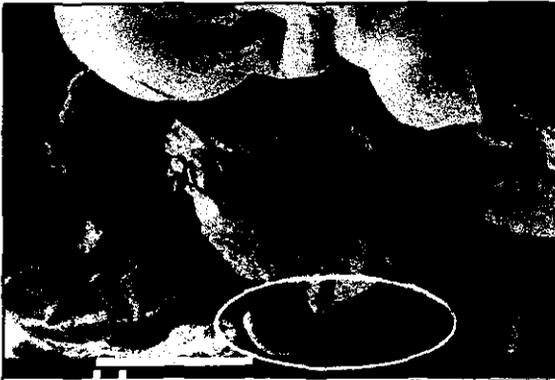


Figura 52. Micrografía de estructuras esféricas, la barra corresponde a 10 μm

Primeramente, la figura 48 muestra claramente un poro de 200 a 300 micrómetros de diámetro, y una estructura que parece ser de alimento (fibra vegetal), localizada a la derecha del mismo.

Enseguida, la figura 49 muestra la superficie de un bolo regurgitado, precisamente sobre una partícula de hierro oxidado. El ambiente que se observa semeja a un arrecife de coral con múltiples manifestaciones de vida. Se pueden distinguir estructuras tipo "esponja" (cilindros) y algunas esféricas. Encerradas en el círculo blanco dos estructuras que recuerdan a formas microbianas y en especial a los "vibrios".

En la figura 50 aparecen cristales de sulfametazina que aún no han sido liberados y una parte de ellos permanece anclada en la matriz. Por el contrario, la figura 51 muestra lo que parecen ser "huellas" o impresiones dejadas en la cutina por cristales de sulfametazina que se disolvieron y abandonaron el sistema. En ambas fotografías es posible observar con claridad estructuras esféricas muy pequeñas. Si se observa con cuidado la figura 51, se nota que la esfera en la parte inferior derecha mide aproximadamente 25 micrómetros.

En la última figura, la 52, es posible ver el interior de lo que parece ser una de esas esferas. Si observamos la barra, se nota que la esfera tiene un diámetro de aproximadamente 10-15 micrómetros. A pesar de ello, muestra en su interior una estructura tipo red todavía más pequeña. Probablemente la presencia de estas "esferas" pueda ser el recubrimiento de una estructura de hierro oxidado, con materia orgánica generada por los microorganismos del medio ruminal. Por demás evidente es la presencia de una bacteria tipo "vibrio" en la parte inferior de esta misma fotografía

El efecto de los bolos no solo se ha demostrado como adecuado sobre la parasitosis, sino que además es posible que la sulfa esté actuando positivamente sobre la microflora ruminal mejorando adicionalmente la eficiencia productiva de los animales.

9. CONCLUSIONES

- La granulación por fusión es el método adecuado para la fabricación de los bolos intraruminales.
- Una mayor cantidad de cutina en la formulación facilita la elaboración de la granulación y prolonga la liberación.
- Las granulaciones resultantes muestran excelentes propiedades de flujo y densidad.
- La compresión de las granulaciones resulta en bolos compactos y con una elevada resistencia a la ruptura.
- La liberación de sulfametazina sódica a partir de las matrices lipídicas, puede modularse cambiando la concentración de cutina.
- La erosión de la superficie, la disolución y la difusión del principio activo son los mecanismos principales involucrados en la liberación.
- La administración de los bolos no presentó dificultades y se realizó fácilmente en forma manual.
- Las concentraciones plasmáticas de los bolos F1 se mantuvieron entre 2.4 y 25.6 microgramos por mililitro durante poco más de 8 días. Su presencia en rumen fue de 10 días. El efecto producido sobre el conteo de ooquistes se observó durante 11 días, al igual que para el mejor consumo de alimento. El efecto sobre la ganancia de peso de las cabras se prolongó más allá de este periodo.
- Las concentraciones plasmáticas de los bolos F2 permanecieron entre 0.23 y 3.6 microgramos por mililitro durante 25 días. Su presencia en rumen fue detectada por 21 días. Su efecto sobre el conteo de ooquistes fue más evidente durante los primeros 11 días, pero se mantuvo por casi 30 días. El efecto sobre consumo de alimento presentó altibajos y al final la ganancia promedio resultó mayor a la del grupo uno.
- Una cantidad mayor de hierro reducido en la formulación, produce bolos que se mantienen en rumen por periodos más prolongados.

➤ El periodo de protección con una sola administración contra coccidias es de 10 y hasta 14 días para el bolo F1, y de 20 hasta 30 días para el bolo F2. Por lo que se recomienda el uso del Bolo F2 para el tratamiento de la coccidiosis en cabras.

Se sugiere:

☞ Aumentar la densidad del bolo hasta 2.5 gramos por centímetro cúbico empleando concentraciones más altas del hierro reducido. Esto podría traer como consecuencia la administración de dos bolos en lugar de uno, pero se aseguraría la retención de los bolos en rumen por periodos más prolongados.

☞ Evaluar el funcionamiento de otros agentes densificadores, con el objeto de reducir el costo de la formulación.

☞ Utilizar varias concentraciones de cutina y evaluar de manera más eficiente el efecto sobre la liberación de sulfametazina in vitro.

☞ Llevar a cabo pruebas de disolución que permitan lograr una correlación in vitro-in vivo.

☞ Evaluar el funcionamiento de los bolos para liberar otro tipo de activos como: antihelmínticos, nutrientes, y otros antibióticos.

☞ Generar una línea de investigación sobre oxidación microbiana en rumen. Evaluar el efecto de los bolos sobre la microflora ruminal.

☞ Tratar de fabricar los bolos con una forma más parecida a las cápsulas o a las capletas para facilitar su administración, aunque esto podría traer algunos problemas tecnológicos.

BIBLIOGRAFIA

1. Achanta A.S., Adusumilli P.S., James K.W. & Rhodes C.T., "Development of Hot Melt Coating Methods", *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 23(5), 441-449 (1997).
2. Bain J.C., Tan S.B., Ganderton D.& Solomon M.C., "Comparison of the In Vitro Release Characteristics of a Wax Matrix and a Hydrogel Sustained Release Diclofenac Sodium Tablet", *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 17(2), 215-232 (1991).
3. Bansal P., Patil J.& Plakogiannis F.M., "Release of a Low Dose Water Soluble Medicinal Agent from Inert Wax Matrix Tablets", *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 19(16), 2103-2108 (1993).
4. Blodinger Jack, "Formulation of Drug Dosage Forms for Animals", en *Formulation of Veterinary Dosage Forms*, Editado por Jack Blodinger., Capitulo 3, páginas: 135-173. Marcel Dekker, New York, 1983
5. Bodmeier Roland, Paeratakul Ornlaksana, Chen Huagang & Zhang Weiming, "Formation of Sustained Release Wax Matrices within Hard Gelatin Capsules in a Fluidized Bed", *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 16(9), 1505-1519 (1990).
6. Buckton G., Efentakis M., Al-Hmoud H. & Rajan Z., "The influence of Surfactants on Drug Release from Acrylic Matrices", *International Journal of Pharmaceutics*, 74, 169-174 (1991).
7. Buckton Graham & Efentakis Manuel, "The Use of Thermodynamic Activation Parameters and Compensation Analysis to Model Drug Release from Hydrophobic Matrices", *International Journal of Pharmaceutics*, 62, 157-163 (1990).
8. Colombo P., Conte U. & Gazzaniga A., "Drug Release Modulation by Physical Restrictions of Matrix Swelling", *International Journal of Pharmaceutics*, 63, 43-48 (1990).
9. Cuellar Ordáz Alfredo, Hernández Valle Citlali y Oviedo Fernández Guillermo, "Sanidad", en *Producción de Caprinos*, A.G.T. Editor., Páginas 563-565. México 1986.
10. Danckwerts M.P., "Development of a Zero-Order Release Oral Compressed Tablet with Potential for Commercial Tableting Production", *International Journal of Pharmaceutics*, 112, 37-45 (1994).

11. Danckwerts M.P., van del Watt J.G. & Moodley I., "The Effect of Processing Variables on the Release of Ibuprofen and Caffeine from Controlled-Release Nonswellable Core-in-Cup Compressed Tablets", *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 22(7), 681-687 (1996).
12. Efentakis M., Al-Hmoud H., Buckton G. & Rajan Z., "The Influence of Drug Release from a Hydrophobic Matrix", *International Journal of Pharmaceutics*, 70, 153-158 (1991).
13. Efentakis Manuel & Buckton Graham, "Modelling Drug Release from Hydrophobic Matrices by Use of Thermodynamic Activation Parameters", *International Journal of Pharmaceutics*, 60, 229-234 (1990).
14. Evrard B., Delahaut P., Hubert P., Crommen J. & Delattre L., "Biopharmaceutical Aspects of the Development of a Sulfamethazine Oral Sustained Release Bolus for Lambs", *Journal of Controlled Release*, 35, 107-115 (1995).
15. Evrard B. & Delattre L., "In Vitro Evaluation of Lipid Matrices for the Development of a Sustained-Release Sulfamethazine Bolus for Lambs", *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 22(2), 111-118 (1996).
16. Fara John W. & Ray Nigel, "Osmotic Pumps" en *Drug Delivery Devices*. Editado por Praveen Tyle, Marcel Dekker, Nueva York, páginas: 137-175.
17. Fernández-Hervás M.J., Vela M.T., González-Rodríguez M.L. & Rabasco A.M., "Using the percolation Theory to Explain the Release Behavior from Inert matrix Systems", *Drug Development and industrial Pharmacy*, 22(3), 201-210 (1996).
18. Flanders P., Dyer G.A. & Jordan D., "The Control of Drug Release from Conventional Melt Granulation Matrices", *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 13(6), 1001-1022 (1987).
19. Foster Todd P. & Parrot Eugene L., "Release of Highly Water-Soluble Medicinal Compounds from Inert, Heterogeneous Matrixes. I: Physical Mixture", *Journal of Pharmaceutical Sciences*, Vol. 79, No. 9, , 806-810. Septiembre de 1990.
20. Giannola L.I., De Caro V. & Rizzo M.C., "Preparation of White Beeswax Microspheres Loaded with Valproic Acid and Kinetic Study of Drug Release", *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 21(7), 793-807 (1995).

21. Giannola L.I. De Caro V. & Severino A., "Carnauba Wax Microspheres Loaded with Valproic Acid: Preparation and Evaluation of Drug Release", *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 21(13), 1563-1572 (1995).
22. Gómez Mirón Margot, "Desarrollo de un Método Espectrofotométrico Confiable para Cuantificar la Cantidad de Sulfametazina Sódica Liberada en el Proceso de Disolución de Bolos de Liberación Controlada", *Tesis , Químico Farmacéutico Biologo, FES-Cuautitlán, UNAM, 1998.*
23. Gyurik Robert J., "Rumen Retention Devices" en *Drug Delivery Devices*, Editado por Praveen Tyle, Marcel Dekker, New York ,Capitulo 4, páginas: 549-561.
24. Huang Hua-Pin, Mehta Surendra C., Radebaugh Galen W. & Fawzi Mahdi B., "Mechanism of Drug Release from Acrylic Polymer-Wax Matrix Tablet", *Journal of Pharmaceutical Sciences*, Vol. 83, No. 6, , 795-797, Junio de 1994.
25. Ishino Ryuso, Yoshino Hiroyuki, Hirakawa Yoshiyuki & Noda Kazuo, "Influence of Internal Structure on Kinetics of Drug Release from Wax Matrix Tablets", *Chem. Pharm. Bull.* 38(12), 3440-3445 (1990).
26. Ishino Ryuzo & Sunada Hisakazu, "Influence of Drug Solubility and Matrix Structure on Release Rate of Drugs from Wax Matrix Tablets", *Chem. Pharm. Bull.* 41(1), 196-200 (1993).
27. Ishino Ryuzo & Sunada Hisakazu, "Studies on Application of Wax Matrix System for Controlled Drug Release", *Chem. Pharm. Bull.* 41(3), 586-589 (1993).
28. Kato Yasutomi, Sunada Hisakazu, Yonezawa Yorinobu & Ishino Ryuzo, "Sustained Release Mechanisms of Wax Matrix System for Controlled Release", *Chem. Pharm. Bull.* 42(8), 1646-1650 (1994).
29. Otsuka Makoto & Matsuda Yoshihisa, "Controlled Drug Release of Highly Water-Soluble Pentoxifylline from Time-Limit Disintegration-Type Wax Matrix Tablets" *Pharmaceutical Research*, Vol. 11, No. 3, 351-354 1994.
30. Pope David G., "Specialized Dose Dispensing Equipment", en *Formulation of Veterinary Dosage Forms*, Editado por Jack Blodinger, Marcel Dekker, New York, páginas: 71-133. (1983).
31. Pope D.G., Wilkinson P.K., Egerton J.R. & Conroy J., "Oral Controlled-Release Delivery of Ivermectin in Cattle Via an Osmotic Pump", *Journal of Pharmaceutical Sciences*, Vol. 74, No. 10, Octubre de 1985.

32. Quiroz Romero Hector, *Parasitología y Enfermedades Parasitarias en Animales Domésticos*, Editorial Limusa, México, páginas 130-135
33. Royce Alan, Suryawanshi Jiwaji, Shah Udayan & Vishnupad Krishna, "Alternative Granulation Technique: Melt Granulation", *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 22 (9&10), 917-924 (1996).
34. Schaefer T., Holm P. & Kristensen H.G., "Melt Granulation in a Laboratory Scale High Shear Mixer", *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 16(8), 1249-1277 (1990).
35. Trujeque García Ana Belem, "Desarrollo y Validación de un Método Analítico para la Cuantificación de Sulfametazina en Plasma de Cabra por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (CLAR)", *Tesis, Químico Farmacéutico Biólogo, FES-Cuautitlán, UNAM, 1998*.
36. Vandamme Th.F. & Ngombo Mukendi J.F., "Controlled Release of Levamisole from Poly-(ε-caprolactone) Matrices II. Effects of Water Soluble Polymer and Iron Powder Incorporated Into Matrices", *International Journal of Pharmaceutics*, 132, 153-163 (1996).
37. Wan Lucy S.C., Heng Paul W.S. & Wong L.F., "Relationship Between Swelling and Drug Release in a Hydrophilic Matrix", *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 19(10), 1201-1210 (1993).
38. Wells Mickey L. & Parrott Eugene L., "Effect of Surfactants on Release of a Highly Water Soluble Medicinal Compound from an Inert, Heterogeneous Matrix", *Journal of Pharmaceutical Sciences*, Vol. 81, No. 5, 453-457, Mayo de 1992.
39. Wilkinson Paul, Büyükyaylaci Sarap & Zingerman Joel, "*Special delivery Devices for Animals*", en *Drug Delivery Devices*, Editado por Praveen Tyle, Marcel Dekker, New York, Capítulo 4, páginas 563-600.

ANEXO 1.

ÁNGULO DE REPOSO DINÁMICO F1

1	2	3	4	5	6	7	8	9
43°	40°	39°	36°	44°	35°	35°	36°	43°

$$X = 39.0 \quad \sigma = 3.464 \quad C.V. = 8.88\%$$

ÁNGULO DE REPOSO DINÁMICO F2

1	2	3	4	5	6	7	8	9
37°	37°	37°	39°	40°	46°	33°	37°	43°

$$X = 38.8 \quad \sigma = 3.4292 \quad C.V. = 8.83\%$$

ANEXO 2.

ÁNGULO DE REPOSO ESTÁTICO F1

1	2	3	4	5	6	7	8	9
40°	45°	40°	45°	43°	46°	44°	43°	40°

$$X = 42.88 \quad \sigma = 2.233 \quad C.V. = 5.207\%$$

ÁNGULO DE REPOSO ESTÁTICO F2

1	2	3	4	5	6	7	8	9
43°	45°	42°	42°	40°	41°	42°	41°	44°

$$X = 42.22 \quad \sigma = 1.4740 \quad C.V. = 3.49\%$$

ANEXO 3

VELOCIDAD DE FLUJO INTRÍNSECA F1

1	2	3
12.9032 g/s	13.1061 g/s	13.0039 g/s

$$X = 13.004 \quad \sigma = 0.0828 \quad C.V. = 0.6369\%$$

VELOCIDAD DE FLUJO INTRÍNSECA F2

1	2	4
12.9701 g/s	13.4952 g/s	13.0548 g/s

$$X = 13.1733 \quad \sigma = 0.23018 \quad C.V. = 1.7473 \times 10^{-4} \%$$

ANEXO 4

CINÉTICA DE CONSOLIDACIÓN F1

Asentamientos	Volumen (ml)		
0	67	70	69
10	65	68	68
50	65	67	67
100	64.5	67	67
500	64	66	66
1000	63.5	65.5	66
1500	63.5	65	65.5

DENSIDAD APARENTE F1

1	2	3
0.8955 g/ml	0.8571 g/ml	0.8695 g/ml

$$X = 0.8740 \quad \sigma = 0.01598 \quad C.V. = 1.8293\%$$

DENSIDAD COMPACTADA F1

1	2	3
0.9448 g/ml	0.9230 g/ml	0.9160 g/ml

$$X = 0.9279 \quad \sigma = 0.1228 \quad C.V. = 1.3234\%$$

ÍNDICE DE COMPRESIBILIDAD F1

1	2	3
5.2180 %	7.1397 %	5.0764 %

$$X = 5.8114 \quad \sigma = 0.9410 \quad C.V. = 16.19\%$$

ÍNDICE DE HAUSNER F1

1	2	3
1.0810	1.0768	1.0534

$$X = 1.0704 \quad \sigma = 0.01212 \quad C.V. = 1.1325\%$$

ANEXO 5

CINÉTICA DE CONSOLIDACIÓN F2

Asentamientos	Volumen (ml)		
0	69	69	69
10	67	67	67
50	66	66	66
100	66	65.5	65.5
500	65	64.5	64.5
1000	65	64	64

DENSIDAD APARENTE F2

1	2	3
0.8695 g/ml	0.8695 g/ml	0.8695 g/ml

$$X = 0.8695$$

DENSIDAD COMPACTADA F2

1	2	3
0.9230 g/ml	0.9375 g/ml	0.9375 g/ml

$$X = 0.9326 \quad \sigma = 6.799 \times 10^{-3} \quad C.V. = 0.7289\%$$

ÍNDICE DE COMPRESIBILIDAD F2

1	2	3
5.7963%	7.2533%	7.2533%

$$X = 6.7676 \quad \sigma = 0.6868 \quad C.V. = 10.1489\%$$

ÍNDICE DE HAUSNER F2

1	2	3
1.0615	1.0782	1.0782

$$X = 1.0726 \quad \sigma = 7.861 \times 10^{-3} \quad C.V. = 0.7328\%$$

ANEXO 6

PRIMERA COMPRESIÓN F1

Bolo	Masa (g)	Largo (mm)	Ancho (mm)	Espesor (mm)
1	5.0000	39.10	16.50	6.72
2	5.0121	39.05	16.50	6.59
3	5.0100	39.05	16.49	6.71
4	5.0077	39.04	16.43	6.65
5	4.9993	39.06	16.47	6.60
6	5.0082	39.05	16.44	6.67
7	5.0123	39.07	16.51	6.69
8	5.0135	39.04	16.46	6.69
9	5.0154	39.05	16.47	6.65
10	5.0123	39.06	16.44	6.68
11	5.0156	39.06	16.43	6.68
12	5.0075	39.06	16.43	6.68
13	5.0099	39.03	16.48	6.69
14	5.0103	39.07	16.48	6.69
15	5.0018	39.05	16.45	6.72
16	5.0095	39.05	16.44	6.61
17	5.0065	39.08	16.46	6.64
18	5.0156	39.04	16.50	6.63
19	5.0115	39.03	16.45	6.68
20	5.0048	39.04	16.43	6.68
21	5.0053	39.04	16.47	6.65
22	5.0136	39.06	16.46	6.69
23	5.0087	39.04	16.47	6.65
24	5.0099	39.06	16.48	6.72
25	5.0098	39.10	16.48	6.71
26	5.0144	39.05	16.47	6.65
27	5.0110	39.05	16.50	6.62
28	5.0715	39.07	16.49	6.74
29	5.0053	39.07	16.51	6.70
30	5.0129	39.06	16.49	6.69
31	5.0112	39.07	16.43	6.65
32	5.0108	39.06	16.44	6.70
33	5.0149	39.04	16.45	6.71
34	5.0106	39.11	16.44	6.66
35	5.0010	39.07	16.47	6.69
36	5.0053	39.10	16.46	6.74
37	5.0523	39.06	16.49	6.74
38	5.0092	39.06	16.45	6.60
39	5.0083	39.05	16.43	6.60
40	5.0134	39.07	16.43	6.69
41	5.0078	39.05	16.44	6.68
42	5.0089	39.06	16.44	6.69
43	5.0032	39.06	16.47	6.62
44	5.0116	39.05	16.46	6.61

MASA DE LOS BOLOS F1

$$X = 5.01169 \quad \sigma = 0.01186 \quad C.V. = 0.2366\%$$

LARGO DE LOS BOLOS F1

$$X = 39.0588 \quad \sigma = 0.01786 \quad C.V. = 0.0457\%$$

ANCHO DE LOS BOLOS F1

$$X = 16.4518 \quad \sigma = 0.0729 \quad C.V. = 0.4431\%$$

ESPESOR DE LOS BOLOS F1

$$X = 6.6715 \quad \sigma = 0.0402 \quad C.V. = 0.6029\%$$

DUREZA DE LOS BOLOS F1

Bolo	Dureza (kp)
1	16.5
2	17.2
3	15.8
4	16.8
5	13.6
6	14.3
7	16.1
8	16.2
9	14.4
10	16.2

$$X = 15.71 \quad \sigma = 1.13265 \quad C.V. = 7.2097\%$$

DENSIDAD DE LOS BOLOS F1

1	2	3	4
1.8352 g/ml	1.8219 g/ml	1.7759 g/ml	1.83755 g/ml

$$X = 1.8176 \quad \sigma = 0.0248 \quad C.V. = 1.3649\%$$

ANEXO 7

PRIMERA COMPRESIÓN BOLOS F2

Bolo	Masa (g)	Largo (mm)	Ancho (mm)	Espesor (mm)
1	6.9324	38.99	16.41	8.33
2	6.9294	39.00	16.42	8.40
3	6.9327	38.98	16.40	8.41
4	6.9323	39.00	16.40	8.39
5	6.9279	39.00	16.42	8.40
6	6.9325	39.00	16.41	8.35
7	6.9302	39.02	16.40	8.37
8	6.9331	39.00	16.41	8.43
9	6.9299	39.02	16.39	8.37
10	6.9306	38.99	16.40	8.38
11	6.9337	39.00	16.39	8.40
12	6.9310	39.00	16.40	8.39
13	6.9274	38.99	16.40	8.34
14	6.9315	39.01	16.41	8.42
15	6.9282	39.00	16.42	8.40
16	6.9315	39.00	16.42	8.39
17	6.9265	39.01	16.42	8.42
18	6.9328	39.01	16.43	8.41
19	6.9350	39.00	16.42	8.42
20	6.9304	39.00	16.42	8.41
21	6.9330	39.01	16.39	8.38
22	6.9296	39.01	16.41	8.42
23	6.9274	39.02	16.42	8.40
24	6.9318	39.00	16.42	8.38
25	6.9258	39.00	16.42	8.41
26	6.9314	39.02	16.42	8.40
27	6.9298	39.00	16.42	8.36
28	6.9342	39.02	16.41	8.43
29	6.9352	39.01	16.42	8.43
30	6.9330	39.00	16.42	8.37
31	6.9368	39.00	16.41	8.40
32	6.9290	39.03	16.42	8.40
33	6.9346	39.02	16.42	8.43
34	6.9337	39.00	16.42	8.40
35	6.9207	39.01	16.42	8.40
36	6.9336	39.00	16.41	8.38
37	6.9311	39.00	16.42	8.40
38	6.9311	39.01	16.42	8.41
39	6.9335	39.00	16.42	8.43
40	6.9270	39.02	16.41	8.40
41	6.9302	39.03	16.42	8.40
42	6.9329	39.01	16.41	8.44
43	6.9347	39.01	16.41	8.40
44	6.9306	39.01	16.42	8.40

MASA DE LOS BOLOS F2

$$X = 6.9311 \quad \sigma = 2.9629 \quad C.V. = 0.0427\%$$

LARGO DE LOS BOLOS F2

$$X = 39.0059 \quad \sigma = 0.0105 \quad C.V. = 0.02695\%$$

ANCHO DE LOS BOLOS F2

$$X = 16.4129 \quad \sigma = 9.6718 \times 10^{-3} \quad C.V. = 0.05892\%$$

ESPESOR DE LOS BOLOS F2

$$X = 8.3977 \quad \sigma = 0.0239 \quad C.V. = 0.2848\%$$

DUREZA DE LOS BOLOS F2

Bolo	Dureza (kp)
1	20.7
2	21.2
3	20.2
4	20.8
5	18.1
6	24.1
7	22.3
8	20.5
9	20.6
10	20.6

$$X = 20.91 \quad \sigma = 1.4494 \quad C.V. = 6.9318\%$$

DENSIDAD DE LOS BOLOS F2

1	2	3
1.91136 g/ml	1.9124 g/ml	1.9627 g/ml

$$X = 1.9288 \quad \sigma = 0.0239 \quad C.V. = 1.2431\%$$

ANEXO 8

SEGUNDA COMPRESIÓN BOLOS F1

Bolo	Masa (g)	Largo (mm)	Ancho (mm)	Espesor (mm)
1	10.1036	39.05	16.42	11.67
2	10.0889	39.02	16.43	11.63
3	10.0876	39.04	16.42	11.56
4	10.0944	39.04	16.43	11.70
5	10.0956	39.04	16.41	11.72
6	10.1037	39.03	16.42	11.73
7	10.0890	39.04	16.42	11.71
8	10.0911	39.06	16.42	11.74
9	10.0850	39.04	16.43	11.49
10	10.0993	39.04	16.42	11.59
11	10.0944	39.04	16.43	11.65
12	10.0937	39.03	16.41	11.61
13	10.0920	39.04	16.41	11.60
14	10.0872	39.05	16.41	11.63
15	10.0903	39.03	16.42	11.65

MASA DE LOS BOLOS F1 (2ª COMPRESIÓN)

$$X = 10.0930 \quad \sigma = 5.472 \times 10^{-3} \quad C.V. = 0.0542\%$$

LARGO DE LOS BOLOS F1 (2ª COMPRESIÓN)

$$X = 39.039 \quad \sigma = 9.285 \times 10^{-3} \quad C.V. = 0.0237\%$$

ANCHO DE LOS BOLOS (2ª COMPRESIÓN)

$$X = 16.42 \quad \sigma = 7.3029 \times 10^{-3} \quad C.V. = 0.0444\%$$

ESPESOR DE LOS BOLOS (2ª COMPRESIÓN)

$$X = 11.6453 \quad \sigma = 0.0672 \quad C.V. = 0.5772\%$$

DENSIDAD DE LOS BOLOS F1 (2ª COMPRESIÓN)

1	2	3
1.85073 g/ml	1.85543 g/ml	1.8188 g/ml

$$X = 1.8416 \quad \sigma = 0.0162 \quad C.V. = 0.8829\%$$

ANEXO 9

SEGUNDA COMPRESIÓN BOLOS F2

Bolo	Masa (g)	Largo (mm)	Ancho (mm)	Espesor (mm)
1	13.9382	39.03	16.41	15.18
2	13.9392	39.00	16.41	15.06
3	13.9484	39.02	16.41	15.12
4	13.9427	39.02	16.41	14.98
5	13.9457	39.00	16.40	15.05
6	13.9632	39.00	16.40	15.14
7	13.9449	39.00	16.41	15.05
8	13.9420	39.01	16.40	15.20
9	13.9591	39.00	16.40	15.04
10	13.9539	39.00	16.39	15.08
11	13.9478	39.01	16.41	15.15
12	13.9434	39.01	16.41	15.07
13	13.9490	39.01	16.41	15.02
14	13.9436	39.00	16.40	15.08
15	13.9374	39.00	16.41	15.13

MASA DE LOS BOLOS F2 (2ª COMPRESIÓN)

$$X = 13.9465 \quad \sigma = 7.1405 \times 10^{-3} \quad C.V. = 0.0511\%$$

LARGO DE LOS BOLOS F2 (2ª COMPRESIÓN)

$$X = 39.0073 \quad \sigma = 9.285 \times 10^{-3} \quad C.V. = 0.02380\%$$

ANCHO DE LOS BOLOS F2 (2ª COMPRESIÓN)

$$X = 16.4053 \quad \sigma = 6.1825 \times 10^{-3} \quad C.V. = 0.03768\%$$

ESPESOR DE LOS BOLOS F2 (2ª COMPRESIÓN)

$$X = 15.0822 \quad \sigma = 0.06132 \quad C.V. = 0.4066\%$$

DENSIDAD DE LOS BOLOS F2 (2ª COMPRESIÓN)

1	2	3
1.92028 g/ml	1.87029 g/ml	1.97508 g/ml

ANEXO 10

DISOLUCIÓN DE BOLOS F1

Tiempo (hr)	Bolo 1		Bolo 2	
	Concentración (mcg/ml)	% Disuelto	Concentración (mcg/ml)	% Disuelto
0.25	197.773	9.961	7.8961	0.3976
0.5	278.4407	14.0245	197.0865	9.9259
1	881.2174	44.3853	378.6746	19.0714
2	813.7654	40.9878	386.2778	19.4543
3	818.7428	41.2385	644.4145	32.4550
4	965.3177	48.6213	735.3803	37.0363
5	990.7708	49.9033	872.0005	43.9170
6	1018.232	51.2865	874.7466	44.0553
7	1045.35	52.6523	1023.037	51.5238
8	1573.294	79.2439	1335.41	67.2560
9	1712.317	86.2463	1335.067	67.2387
12	1748.704	88.0790	1529.699	77.0411
24	1958.783	98.6603	1539.654	77.5424
48	2003.064	100.8907	1866.787	94.0180
54	1995.856	100.5276	2022.287	101.8496
58	1998.259	100.6486	2003.408	100.8987

DISOLUCIÓN DE BOLOS F2

Tiempo (hr)	Bolo 1		Bolo 2	
	Concentración (mcg/ml)	% Disuelto	Concentración (mcg/ml)	% Disuelto
0	0.5124	0.0258	0.1932	0.0097
0.25	71.2792	3.5902	71.6224	3.6186
0.5	122.0826	6.1491	135.6417	6.8531
1	190.5644	9.5985	217.6825	10.9982
2	317.9164	16.0130	206.406	10.4284
3	400.8154	20.1886	414.2028	20.9272
4	499.6762	25.1681	463.8048	23.4336
5	504.6536	25.4188	465.1779	23.5027
6	461.11	23.2255	492.6906	24.8927
7	602.8792	30.3663	498.5261	25.1876
8	621.4157	31.2999	537.3153	27.1474
9	812.6153	40.9304	750.484	37.9175
12	928.2962	46.7571	995.5766	50.3006
24	1453.494	73.2107	1453.837	73.4539
48	1547.206	77.93094	1535.535	77.5816
54	1623.754	81.7865	1672.498	84.5016
58	1618.949	81.5445	1648.813	83.3049
74	1835.893	92.4717	1945.052	98.2721

ANEXO 11

PERFILES PLASMÁTICOS

Tiempo (hr)	F1	F2
	Concentración (mcg/ml)	
0	0	0
1	3.63	0.23
2	9.65	2.14
4	7.79	0.47
8	12.34	0.29
11	25.80	3.58
24	20.51	3.05
44	25.59	
48	17.39	1.56
72	9.45	1.62
96	13.42	2.05
120	10.41	2.25
144	13.23	2.90
168	10.27	2.35
192	2.39	2.47
216		2.26
240		2.28
264		2.02
288		2.05
342		1.63
360		1.42
384		2.84
456		0.96
504		1.04
603		1.14
627		0.00

ANEXO 12

CONTEO DE OOQUISTES

Horas	F1	F2
0	73160	109400
264	29990	1100
480	90470	12450
696	246480	15190

ANEXO 13

CONSUMO PROMEDIO DE ALIMENTO

Horas	F1	F2
	Consumo de alimento (g)	
0	707.8	747.6
264	893.8	598.4
480	665.8	796.6
696	439.6	829.4

ANEXO 14

GANANCIA EN PESO DE LAS CABRAS

Horas	F1	F2
	Ganancia en peso (kg)	
0	0	0
168	1.1	1.1
336	1.8	0.3
504	2.2	1.4
696	2.4	2.6