



Universidad Nacional Autónoma de México

MAESTRÍA EN CIENCIAS
DE LA PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD ANIMAL

Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán

*DESARROLLO DE UNA FORMULACION DE RANITIDINA Y SIMETICONA PARA
EL TRATAMIENTO DE LA ÚLCERA GÁSTRICA EN EQUINOS.*

TESIS:

Que para optar por el grado de:
MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA:

Hugo Cuatecontzi Flores

TUTOR:

Dra. Raquel López Arellano
UIM L-5, FES Cuautitlán, UNAM

COMITÉ TUTORAL:

Dra. Patricia Ramírez Noguera
UIM L-9, FES Cuautitlán, UNAM
Dra. María Eugenia Gonsebatt Bonaparte
Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM.

Cuautitlán Izcalli, enero de 2016.



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.

Dedicatorias

A Angélica

Mi gratitud por ser la mejor hermana, pero sobretodo amiga, gracias a tus sabios consejos y amor, siempre tengo un puerto confiable al cual volver en mis mejores y peores momentos, eres una mujer diferente, ojala hubiese muchas más como tú! O mejor no porque soy envidioso!

A “Matas”

Aún no puedes leer! Pero pronto! Haz cambiado por completo nuestras vidas! Para bien, gracias a ti he aprendido que los logros grandes y pequeños son igual de importantes, tu alegría pero sobretodo inocencia me dan tranquilidad y me dan fuerza, esperanza y ganas de triunfar como tú!

A mis amigos

Aquellos que en distancia y en la cercanía, despiertan y generar recuerdos de mi pasado y mi presente! Mi personalidad fue forjada, moldeada y aprobada por ustedes a lo largo del tiempo, mi más grande deseo es verlos y compartir con ustedes su máximo éxito a lo largo de su vida y que este dure hasta el final de su tiempo, para disfrutar de su compañía.

A Sorayda

Gracias! Por soportarme y tolerarme! Que la vida te brinde éxito en tus proyectos; agradezco tu amor y compañía! Este breve lapso de mi vida que comparto contigo! deseo que consigas tus metas en la vida! Contigo he aprendido mucho y sé que aún me faltan cosas por aprender!

I Agradecimientos

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por permitirme obtener conocimientos y así enaltecer el orgullo de ser un científico mexicano, que mejore en la medida de sus posibilidades el desarrollo de mi país, procurando el bienestar de mi familia, amigos y de la sociedad.

Al CONACYT por el apoyo al ID 515562 a través de una beca de tiempo completo.

A PAPIIT apoya al proyecto IN218115 con los recursos necesarios para la realización de este trabajo científico.

A Doña Placida en donde te encuentres! y a Don Odi por donde andes! gracias por fusionar su ADN! Su educación me ha permitido llegar hasta donde estoy, son un orgullo! cada decisión de mi vida, está basada en todo lo bueno que me enseñan! sé que no siempre estarán, pero me enseñaron a pensar y aceptar las consecuencias de mis decisiones.

A Oscar y a mis sobrinos Eduardo y Saúl, por esos partidos de fútbol, y que tiene de malo que nos gusten los "corridos", siempre orgullosos de ser quienes somos!

A Petra, Martín, Danahe, Cinthya y Luz por apoyarnos a mi hermana y a mí, cuando lo necesitamos y brindarnos un lugar a donde llegar, para compartir un momento con ustedes y disfrutar de su compañía.

A la Dra. Raquel López, DAR. Juan José Díaz, por brindarme la oportunidad de formar parte del grupo LEDEFAR, y por el apoyo mostrado siempre.

A mi comité tutorial conformado por la Dra. Patricia Ramírez Noguera de la UIM L-9 de la FESC y la Dra. María Gonsebatt Bonaparte del instituto de Biomédicas, UNAM.

Al comité revisor de mi trabajo de tesis por su rápida respuesta y su paciencia para la revisión y corrección de este trabajo; para una mejor redacción y comprensión de este trabajo.

A FMC BioPolymer por la donación del alginato de sodio (Viscarin) y al DESS Rodolfo Cruz por el apoyo técnico.

A Ashland y a la QBP Alejandra Álvarez por la donación de HPMC K4M y la simeticona (Barcraft) para la realización de este trabajo científico.

A Lubrizol México por la donación del carbomero (Carbopol) para la realización de este trabajo científico.

Al Q. Oscar Nolasco y a Importadora y manufacturera BRULUART por facilitarnos simeticona en suspensión para la realización de este trabajo de investigación.

Al MVZ Felipe de Jesús Cortes, MVZ Lizeth Contreras y a la MVZ Cecilia Segura por permitirnos experimentar con los equinos de la FESC, al MVZ León Ramírez López por apoyarnos con su endoscopio para evaluar los equinos.

Resumen

En la actualidad el mercado farmacéutico veterinario se encuentra en un proceso de transformación hacia el desarrollo de medicamentos genéricos, para lo cual se requiere el desarrollo de formas farmacéuticas y métodos analíticos validados para garantizar químicamente la estabilidad, eficacia y seguridad de los tratamientos disponibles en el mercado mexicano. Por este motivo el objetivo de este trabajo fue desarrollar una nueva opción terapéutica para el tratamiento de la úlcera gástrica en equinos, se propuso el desarrollo de una pasta flotante de Ranitidina y Simeticona, con una dosis de 6.6 mg/kg de Ranitidina y 0.5 mg/kg de Simeticona, que sería administrada a los equinos existentes del Hospital de Equinos de la FESC, UNAM. Para esto se realizó el estudio de estabilidad física entre los activos y los excipientes utilizados para el desarrollo de la formulación, y se realizó un diseño de experimentos 3^2 para evaluar la cantidad de polímero (Carbomero, HPMC K4M, HPMC K100M y Alginato de sodio) necesario para mantener la disolución "In situ" por un periodo prolongado de tiempo; y la cantidad de Bicarbonato de sodio para mantener la pasta flotando en el interior del estómago de los equinos. Al término de la optimización de las formulaciones se validó el método analítico, basados en los criterios internacionales de la VICH y la normatividad mexicana, para realizar la valoración, la uniformidad de contenido y la disolución en aparato 1 USP (canastillas) en diferentes medios (agua y HCl 0.1N) mediante espectrofotometría UV-Vis a 313 nm ; además de evaluar el tiempo de flotación (estática y dinámica), el poder antiespumante (solución detergente) y la seguridad de la formulación demostrando que no se presentaban efectos secundarios después de la administración matutina de la pasta flotante por un periodo de 15 días, como tratamiento profiláctico.

Palabras clave: Ranitidina, Simeticona, pasta, formulación, úlcera gástrica.

Abstract

Today the pharmaceutical market veterinarian is in process of transformation towards the development of generic, for which the development of pharmaceutical forms and validated analytical methods for chemically ensure stability, effectiveness and safety of treatments available in the required national market. Therefore the aim of this work was to develop a new therapeutic option for the treatment of gastric ulcers in horses, the development of a floating paste of Ranitidine and simethicone, with a dose of 6.6 mg / kg Ranitidine and 0.5 mg/ kg of simethicone, which would be administered to animal in the FESC Equine Hospital, UNAM. For this study physical stability between the active and the excipients used for the formulation development was performed, and a design of 3^2 experiments was performed to evaluate the amount of polymer (Carbomer, HPMC K4M, HPMC K100M and sodium alginate) necessary to maintain the "in situ" solution for an extended period of time; and the amount of sodium bicarbonate to keep the pasta floating inside the stomach of horses. After the optimization of the formulations the analytical method, based on international criteria VICH was validated for the assay, content uniformity and dissolution in USP Apparatus 1 (baskets) in different media (0.1N HCl and water) by UV-Vis spectrophotometry at 313 nm; besides evaluating the flotation time (static and dynamic), the anti-foaming power (detergent solution) and safety of the

formulation showing no side effects after the morning administration of the floating paste is presented for a period of 15 days, as prophylactic treatment.

Keywords: Ranitidine, Simethicone, paste, formulation, gastric ulcer.

Índice

I.	INTRODUCCIÓN	1
II.	JUSTIFICACION E HIPÓTESIS	2
A.	Justificación.....	2
B.	Hipótesis.....	2
III.	OBJETIVOS	3
A.	General	3
B.	Particulares.....	3
IV.	MARCO TEÓRICO	4
A.	Anatomía.	4
1.1	El tracto gastrointestinal de los equinos.	4
1.2	La boca y el esófago.....	4
1.3	La faringe y el esófago.	6
1.4	El estómago del caballo.....	6
1.5	La microbiología del tracto GI del equino.	8
1.6	Requisitos de energía del caballo.	9
1.7	El forraje grueso para la alimentación de equinos.....	10
B.	Cólico.	10
1.1	La secreción de ácido gástrico.....	11
1.2	Las úlceras gástricas.....	11
1.3	Prevalencia de las úlceras.....	12
1.4	Las etiologías del síndrome de úlcera gástrica equina en animales adultos.	13
1.5	El sexo, edad y temperamento.....	15
1.6	Alimentación intermitente Vs. alimentación continua.	16
1.7	Confinamiento en los establos.....	16
1.8	Las dietas modificadas.	16
1.9	Los agentes antiinflamatorios no esteroideos (AINE's).....	16
1.10	Helicobacter spp y otras bacterias.	17

C.	Los signos clínicos de Síndrome de la Úlcera Gástrica Equina.	17
1.1	Diagnóstico.....	18
1.2	Sistemas Internacionales de clasificación de lesiones ulcerosas.	18
1.3	Examen endoscópico del estómago.....	20
1.4	Examen histopatológico y la puntuación.....	20
D.	Tratamiento farmacológico en EGUS.	21
1.1	Tratamientos veterinarios para la úlcera gástrica en equinos.	21
1.2	El manejo del dolor.	21
1.3	Terapia de antiácido específico.	21
1.3.1	Omeprazol.	22
1.4	Los antagonistas de los receptores H ₂	22
1.4.1	Ranitidina.	23
1.5	Duración del tratamiento farmacológico.	23
E.	En el mercado veterinario.	24
1.1	La producción de alimentos y los animales de compañía.	25
1.2	Particularidades asociados con el sector veterinario.	26
1.3	Las formulaciones orales.....	27
F.	Características de los fármacos	30
1.1	Forma Farmacéutica.....	32
1.2	CO ₂ contenido	34
1.3	Evaluación de la solución pH.....	34
G.	Diseño experimental.....	34
1.1	Cantidad de Polímero	34
1.2	Cantidad de Bicarbonato	37
V.	DESARROLLO EXPERIMENTAL.	38
A.	Cuadro metodológico	38
B.	Materiales y métodos	40
1.1	Material de laboratorio	40
1.2	Equipo e instrumentos.....	41
C.	Reactivos y sustancias.....	42
1.1	Ranitidina	42
1.2	Simeticona.....	42

1.3	Carboméro.....	42
1.4	Hidroxiopropilmetilcelulosa K100M y K4M.....	43
1.5	Alginato de sodio.	43
1.6	Bicarbonato de sodio.....	44
1.7	Propilenglicol.....	45
D.	Condiciones generales de análisis.....	45
1.1	Identificación de los principios activos.....	45
1.2	Identificación de los excipientes de la formulación.....	45
1.3	Estabilidad de los principios activos.....	46
1.4	Compatibilidad del fármaco vs. Excipientes.....	47
1.5	Diseño de experimentos.....	48
1.6	Evaluación de la flotabilidad In vitro HCl 0.1 M.....	49
1.7	Evaluación del poder antiespumante.....	49
1.8	Valoración de los principios activos.....	50
1.9	Uniformidad de contenido en la forma farmacéutica.....	50
1.10	Perfiles de disolución de la pasta.....	50
1.10.1	En HCl 0.1 M.....	51
1.10.2	En agua desionizada.....	51
1.11	Evaluación de la efectividad terapéutica de la pasta flotante.....	51
1.11.1	Endoscopias del estómago.....	51
1.12	Respuesta.....	52
1.12.1	Fórmula para calcular la valoración y la uniformidad de Clorhidrato de Ranitidina:	52
VI.	RESULTADOS.....	53
A.	Identificación de la Ranitidina.....	53
B.	Identificación de la Simeticona.....	53
C.	Identificación de los excipientes de la formulación.....	54
D.	Estabilidad de los principios activos.....	55
1.1	Estabilidad del clorhidrato de Ranitidina.....	55
E.	Compatibilidad del fármaco vs. Excipientes.....	56
F.	Selección de los lotes de la pasta flotante de Ranitidina y Simeticona.....	57
G.	Llenado de la pasta.....	58
H.	Evaluación de la flotabilidad.....	58

I.	Evaluación del poder antiespumante.....	59
J.	Validación del método analítico para la cuantificación de Ranitidina	60
1.1	Especificidad	60
1.2	Adecuabilidad del sistema.....	60
1.3	Precisión del sistema	61
1.4	Linealidad del sistema.....	62
1.5	Precisión del método (precisión intermedia).....	63
1.6	Exactitud del método.....	63
1.7	Linealidad del método.....	64
1.8	Reproducibilidad y repetibilidad del método	66
K.	Valoración y uniformidad de contenido en la forma farmacéutica	67
L.	Perfiles de disolución de la pasta de los lotes	68
M.	Evaluación de la efectividad terapéutica de la pasta flotante	69
1.1	Endoscopias del estómago “Chueco”.....	69
1.2	Endoscopias del estómago “Comanche”	70
1.3	Endoscopias del estómago “Heidi”	71
1.4	Endoscopias del estómago un equino con úlcera.	72
N.	Manejo del Sujeto de experimentación	73
O.	Administración de la pasta flotante.....	74
P.	Obtención de muestra estomacal.....	75
VII.	DISCUSION	76
A.	Identificación de la Ranitidina	77
B.	Identificación de la Simeticona	78
C.	Estabilidad de los principios activos	79
1.1	Estabilidad del clorhidrato de Ranitidina en condiciones de estrés.....	80
D.	Compatibilidad del fármaco vs. Excipientes.....	81
E.	Diseño de experimentos	84
F.	Selección de dispositivo de administración.....	84
G.	Selección de los lotes de la pasta flotante de Ranitidina y Simeticona	85
H.	Llenado del dispensador oral de la pasta.....	86
I.	Evaluación de la flotabilidad.....	87
J.	Estabilidad en el empaque primario	90

K.	Validación del método analítico para la cuantificación de Ranitidina	91
1.1	Especificidad	93
1.2	Adecuabilidad del sistema.....	93
1.3	Precisión del sistema	94
1.4	Linealidad del sistema.....	94
1.5	Precisión del método (precisión intermedia).....	96
1.6	Exactitud del método.....	97
1.7	Linealidad del método.....	99
1.8	Reproducibilidad y repetibilidad del método	103
L.	Valoración y uniformidad de contenido en la forma farmacéutica	104
M.	Perfiles de disolución de la pasta de los lotes	105
N.	Evaluación de la efectividad terapéutica de la pasta flotante de Ranitidina y Simeticona..	106
1.1	Endoscopias del estómago de los equinos del Hospital de la FESC.	107
1.2	Manejo del Sujeto de experimentación	108
1.3	Administración de la pasta flotante	108
1.4	Obtención de muestra estomacal	109
VIII.	CONCLUSIONES	110
A.	General	110
B.	Particulares.....	110
IX.	Anexos	111
A.	Procedimientos	111
1.1	Procedimiento para la identificación de la Ranitidina.....	111
1.2	Procedimiento para la identificación de la Simeticona	112
1.3	Procedimiento para la identificación de los excipientes.....	112
1.4	Procedimiento para prueba de estabilidad del clorhidrato de Ranitidina en condiciones de estrés.....	113
1.5	Procedimiento para prueba de incompatibilidades entre los activos y los excipientes propuestos para el desarrollo de la forma farmacéutica.	113
1.6	Determinación de las estabilidades visuales de las formulaciones flotantes y densas, humectadas con propilenglicol y agua purificada.	114
1.7	Determinación del contenido químico de Ranitidina en las formulaciones flotantes seleccionadas.....	114

1.8	Procedimiento para el llenado mecánico del sistema dosificador de la pasta flotante de Ranitidina y Simeticona.	115
1.9	Procedimiento para la evaluación de la flotabilidad y el boyeo de la pasta de Ranitidina y Simeticona.....	116
1.10	Procedimiento para la evaluación de la capacidad antiespumante de la pasta de Ranitidina y Simeticona	117
1.11	Determinación de la valoración de Ranitidina por espectrofotometría UV- Vis en los lotes piloto de la pasta flotante de Ranitidina y Simeticona.....	117
1.12	Determinación de la uniformidad de contenido en los lotes piloto de la pasta flotante de Ranitidina y Simeticona.	118
1.13	Evaluación de la prueba de disolución en ácido clorhídrico de los lotes piloto de la pasta flotante de Ranitidina y Simeticona.	119
1.14	Evaluación de la prueba de disolución en agua desionizada de los lotes piloto de la pasta flotante de Ranitidina y Simeticona.	120
1.15	Procedimiento para la realización de la endoscopia en equinos del Hospital de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán.	121
1.16	Manejo del Sujeto de experimentación	122
1.17	Obtención de muestra estomacal e imágenes de las úlceras.....	122
1.18	Administración de la pasta flotante de Ranitidina y Simeticona.....	123
B.	Formulaciones de las pasta de Ranitidina y Simeticona	124
C.	Disolución	126
1.19	Resultados de las absorbancias de los perfiles de disolución para los lotes 007F, 010F y 013F en agua y HCl 0.1N.....	126
1.20	Resultados de los porcentajes acumulados y su Gráfico correspondiente de los perfiles de disolución para los lotes 007F, 010F y 013F en agua y HCl 0.1N	129
X.	BIBLIOGRAFÍA.....	135

✓ ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Características fisicoquímicas de muestras colectadas usando un tubo nasogástrico en 6 equinos, 2 h después de ser alimentados	11
Tabla 2. Factores fisiológicos que promueven el desarrollo de úlceras gástricas.	12
Tabla 3. Estrategias de tratamiento farmacológico (inmediato) y dietas de prevención de úlceras gástricas en equinos.....	14
Tabla 4. Signos clínicos y factores de riesgo para desarrollar EGUS	17
Tabla 5. Número / severidad (N / S) sistema de puntuación	19
Tabla 6. Puntuación de la gravedad de las lesiones ocasionadas por úlcera gástrica.....	19
Tabla 7. Terapia Farmacológica para el tratamiento de EGUS	24
Tabla 8. Condiciones de estrés fisicoquímico para la evaluación de la estabilidad de una solución de Ranitidina.	47
Tabla 9. Condiciones de estrés fisicoquímico para la evaluación de la estabilidad de una solución de Ranitidina.	47
Tabla 10. Selección de niveles de los factores para el diseño de la experimentación, utilizado en la formulación de pastas flotantes	49
Tabla 11. Datos de la evaluación de la adecuabilidad del sistema para la determinación de Ranitidina, usando un espectrofotómetro Varian modelo Cary 100 conc.....	60
Tabla 12. Datos de la evaluación de la precisión del sistema para la determinación de Ranitidina, a tres niveles de concentración diferentes (bajo, medio y alto).	61
Tabla 13. Datos de la linealidad del sistema para la determinación de Ranitidina, en una curva de calibración de 5 niveles de concentración.	62
Tabla 14. Resultados de la regresión lineal usando Excel [®] , para la determinación de la linealidad del sistema.....	62
Tabla 15. Datos de la precisión del método para el cuarto nivel equivalente 100% de analito.	63
Tabla 16. Resultados de coeficientes de variación de 2 analistas y 2 días para determinar a cantidad real recuperada.	63

Tabla 17. Datos de la precisión del método, para el nivel de 100% de la Ranitidina	63
Tabla 18. Resultados para Clorhidrato de Ranitidina a los tres niveles de trabajo.	64
Tabla 19. Resultados de la evaluación de la linealidad del método, usando placebos cargados, realizando las muestras por triplicado con el nivel de concentración	64
Tabla 20. Resultados de la regresión para la determinación de la linealidad del método.	65
Tabla 21. Resultados de la concentración recuperada y % de Ranitidina a los 5 niveles de trabajo.	65
Tabla 22. Resultados de la regresión ajustada para la determinación de los coeficientes usando Excel [®] y la realización de las pruebas de hipótesis.	66
Tabla 23. Resultados de la evaluación de la repetibilidad (1 analista, 2 días) y la reproducibilidad (2 analistas, 2 días).	66
Tabla 24. Resultados de la valoración para los tres lotes piloto de 1.2 kg que se fabricaron para la administración y la estabilidad en anaquel.	67
Tabla 25. Resultados de la uniformidad de contenido por variación de la masa para los tres lotes piloto que se fabricaron para la administración y la estabilidad en anaquel.	67
Tabla 26. Criterios de aceptación para realizar la validación espectrofotométrica, de la Ranitidina (para la valoración y la uniformidad de contenido), tomando como base la guía del Colegio Nacional de QFB.	91
Tabla 27. Resultados del ANOVA realizado a la regresión de la linealidad del sistema para la Ranitidina.	96
Tabla 28. Prueba estadística de t usando Excel [®] para la Ranitidina y los intervalos de confianza calculados.	98
Tabla 29. Resultados del ANOVA realizado a la regresión de la curva de Ranitidina para la determinación de linealidad.	101
Tabla 30. Prueba de t para la Ranitidina y la probabilidad para la comprobación de las hipótesis.	102
Tabla 31. Descripción de los porcentajes de las seis formulaciones de la pasta de Ranitidina y Simeticona utilizando diferentes proporciones de Carbomero, bicarbonato utilizando propilenglicol como agente humectante.	124

Tabla 32. Descripción de los porcentajes de las seis formulaciones de la pasta de Ranitidina y Simeticona utilizando diferentes proporciones de HPMC K100M, bicarbonato utilizando propilenglicol como agente humectante.	124
Tabla 33. Descripción de los porcentajes de las seis formulaciones de la pasta de Ranitidina y Simeticona utilizando diferentes proporciones de HPMC K4M, bicarbonato utilizando propilenglicol como agente humectante.	125
Tabla 34. Descripción de los porcentajes de las seis formulaciones de la pasta de Ranitidina y Simeticona utilizando diferentes proporciones de Alginato de sodio, bicarbonato utilizando propilenglicol como agente humectante.	125

ÍNDICE DE FIGURAS

Fig. 1 Porcentajes aproximados de los componentes del tracto gastrointestinal	4
Fig. 2 Regiones del lado izquierdo del abdomen para el examen del yeyuno	5
Fig. 3 Presentación esquemática del estómago de un equino que muestra las regiones de los recubrimientos gástricos	6
Fig. 4 Esquema de los componentes del tracto gastrointestinal completo de un equino.	7
Fig. 5 Distribución de puntuaciones de las lesiones en los caballos. Puntuación 0: Epitelio intacto sin enrojecimiento o hiperqueratosis, 1: mucosa intacta con áreas de enrojecimiento o hiperqueratosis, 2: pequeñas lesiones únicas o multifocales, 3: lesiones grandes, simples o multifocales o lesiones superficiales extensas, y 4: extensas lesiones con áreas de ulceración profunda aparente.	14
Fig. 6 Fotografías de distintos grados de úlceras gástricas según la escala propuesta en la tabla 6; <i>superior izquierda</i> Grado 0 mucosa sana; <i>superior derecha</i> lesiones menores múltiples grado 1; <i>abajo izquierda</i> grado lesiones profundas extensas grado 2 o 3; <i>abajo derecha</i> lesiones extensas profundas y con sangrado Grado 4 o 5	20
Fig. 7 Estructura de Ranitidina y sus posibles tautómeros de la fracción de nitrodietilamina seleccionadas	31
Fig. 8 Esquema de las estructuras posibles de Ranitidina.	31
Fig. 9. Gráfico que muestra el espectro UV-Vis para la identificación de una solución de Ranitidina.	53

Fig. 10. Las 3 muestras utilizadas para la obtención del Gráfico por reflectancia, mediante NIR, para la identificación de la Simeticona.....	53
Fig. 11. Espectro del NIR característicos de ambas moléculas en la mezcla física (1:1) entre la Ranitidina y la Simeticona.....	54
Fig. 12. Imagen de la forma en que el software Vision [®] , interpreta y muestra los Gráficos de absorbancia obtenidos después de la lectura, y el espectrograma por NIR de algunos de los excipientes utilizados en el desarrollo de la formulación.	54
Fig. 13. Estabilidad a la luz de una solución de concentración conocida de Ranitidina en frascos vial transparente, a tiempo 0, 30 días y 3 meses, respectivamente.	55
Fig. 14. Efecto de la temperatura (estufa a 60°C) y las condiciones de estrés fisicoquímico A y B (ácido, básico y oxidante), sobre la estabilidad de una solución acuosa de Ranitidina, en frascos ámbar (protección de la luz), por un periodo de 7 días.	55
Fig. 15. Imágenes de las muestras de las mezclas físicas (1:1) utilizadas para obtención del gráfico por reflectancia, mediante NIR, para la determinación de incompatibilidades químicas de la Ranitidina, la Simeticona y los siguientes excipientes. A) Carbomero, B) HPMC K100M, C) HPMC K4M, D) Alginato de Sodio, E) Bicarbonato de sodio y F) Carbonato de calcio.	56
Fig. 16. Imágenes de los gráficos de absorbancia, para la determinación de incompatibilidades químicas entre la Simeticona y los excipientes.....	57
Fig. 17. Lotes piloto 004F, 007F, 010F y 013F, de 60 g de pasta para evaluar la estabilidad de la pasta después de la fabricación con propilenglicol como humectante.	57
Fig. 18. Imágenes de las pruebas piloto del empaque primario y llenado del sistema de dosificación para la vía de administración oral; sellado mediante calor y silicón caliente, usando una solución gasificada y pasta de los lotes piloto para determinar la integridad a presión y volumen constante.	58
Fig. 19. Desarrollo de la prueba de tiempo de flotación de la pasta sin agitación, usando un vaso de precipitados con 500 ml de HCl 0.1 M.	58
Fig. 20. Desarrollo de la prueba de tiempo de flotación de la pasta con agitación mecánica, usando un vaso de precipitados con 500 ml de HCl 0.1 M.	59
Fig. 21. Desarrollo de la prueba de eliminación de la espuma o poder antiespumante (A, B y C).	59

Fig. 22. Gráfico que muestras los espectrogramas que muestran la especificidad del método.	60
Fig. 23. Imágenes del aparato 1 (canastillas) después de la realización de la disolución de las pastas flotantes, en donde se evidencia la presencia de polímero.	68
Fig. 24. Perfiles de disolución del lote 007F de la pasta de Ranitidina en agua y HCl 0.1M a distintas RPM.	68
Fig. 25. Perfiles de disolución del lote 010F de la pasta de Ranitidina en agua y HCl 0.1M a distintas RPM.	69
Fig. 26. Perfiles de disolución del lote 013F de la pasta de Ranitidina en agua y HCl 0.1M a distintas RPM.	69
Fig. 27. Imágenes de la endoscopia después de la administración de la pasta con la adición un agente colorido de contraste (tinción celular), para evidenciar el paso de la pasta por la región del tracto gastrointestinal.	70
Fig. 28. Imágenes de la endoscopia para determinar la presencia de úlceras en la región del esófago, cardias y estomago del equino.	71
Fig. 29. Imágenes de la endoscopia después de la administración de la pasta con la adición un agente colorido de contraste (tinción celular), para evidenciar la acción sobre la espuma en el estómago del equino.	72
Fig. 30. Imágenes de la endoscopia realizada a un equino, para evidenciar las lesiones ulcerosas por la administración de AINE´s y un manejo de alto rendimiento.	73
Fig. 31. Imágenes del manejo previo a la administración y la realización de la endoscopia en el hospital de equinos de la FESC, para evidenciar las lesiones ulcerosas por la administración de AINE´s y exceso de carga de trabajo.	74
Fig. 32. Imágenes de la administración de la pasta en el hospital de equinos de la FESC, para evidenciar las lesiones ulcerosas por la administración de AINE´s y exceso de carga de trabajo.	75
Fig. 33. Líquido estomacal obtenido de “Magia”, equino propiedad del hospital de equinos de la FESC, para evidenciar la presencia de espuma y adicionar la pasta y ver la flotación in vitro con liquido fresco.	75

Fig. 34. Líquido estomacal obtenido de “Magia”, equino propiedad del hospital de equinos de la FESC, para evidenciar la eliminación de espuma por la acción la pasta y la disolución de la pasta.	75
Fig. 35. Espectro del NIR, que permite evidenciar la no interacción química entre la Ranitidina y la Simeticona, mediante la demostración grafica de la presencia de picos característicos de ambas moléculas en la mezcla física (1:1) después de 1 mes de su preparación. Simeticona (circulo color rojo) y Ranitidina (elipses de color azul).	78
Fig. 36. Gráfico que muestra las alteraciones químicas sobre los grupos funcionales de la molécula y el efecto de las condiciones de estrés fisicoquímico en una solución de Ranitidina a temperatura ambiente, en frasco ámbar después de 7 días.....	81
Fig. 37. Gráfico que muestra la alteraciones químicas sobre los grupos funcionales de la molécula y el efecto de las condiciones de estrés fisicoquímico y de temperatura (60°C), ne una solución de Ranitidina en frasco ámbar después de 7 días.	81
Fig. 38. Imágenes de los Gráficos de absorbancia, obtenidos mediante el software Visión [®] , para la determinación de incompatibilidades químicas entre la Ranitidina y los excipientes. A) Carbómero, B) HPMC K100M, C) HPMC K4M, D) Alginato de sodio, E) Bicarbonato de sodio y F) Carbonato de calcio.	82
Fig. 39. Espectro del NIR, que permite evidenciar la interacción química entre la Ranitidina y el carboméro (A) demostrando una alteración en su huella química, en color rojo y en el Gráfico (B) una alteración de la huella química, de Ranitidina y el bicarbonato de sodio evidenciado en color azul.	83
Fig. 40. Jeringa precargada (Imagen superior) de Gastro-Shield [®] (omeprazol) con dosificador por peso; jeringa veterinaria sin dosificador por peso (imagen central) de la marca HSW [®] y dispositivo de manguera precargada (imagen inferior) para dispensación oral profunda.....	85
Fig. 41. Sistema de engrasado industrial (nuevo) que emplea un pistón a presión mecánica de acero inoxidable y una manga plástica interior, para dispensar la pasta dentro de la manguera.	87
Fig. 42. Desarrollo de la prueba de tiempo de flotación sin agitación, inicial (inicial A, B y C) y 10 min después de comenzar la prueba (abajo D, E y F).	88

Fig. 43. Desarrollo de la prueba de tiempo de flotación sin agitación después de 3 h de iniciada la prueba, vista lateral (G) y vista superior (H).	88
Fig. 44. Desarrollo de la prueba de eliminación de la espuma o poder antiespumante, inicial (inicial A, B y C) y 20 min. después de comenzar la prueba (abajo D, E y F).	90
Fig. 45. Grafico que muestra los espectrogramas de la especificidad del método.	93
Fig. 46. Gráfico de la linealidad del sistema para la Ranitidina, la ecuación de la recta y el coeficiente de determinación.	94
Fig. 47. Gráfico del error relativo para la Ranitidina vs. la concentración del analito para la curva del sistema, usando análisis de datos de Excel [®]	95
Fig. 48. Gráfico del porcentaje recuperado de los distintos niveles examinados con sus intervalos de confianza obtenidos para Ranitidina.	99
Fig. 49. Gráfico de la linealidad del método para la Ranitidina, y la ecuación de la recta y el coeficiente de determinación.	100
Fig. 50. Gráfico del error relativo para la Ranitidina vs. la concentración del analito para la curva del método, usando análisis de datos de Excel [®]	100
Fig. 51. Porcentajes de recobro de la Ranitidina para la reproducibilidad del método.	104
Fig. 52. Porcentajes de recobro de la Ranitidina para la reproducibilidad del método.	105
Fig. 53. Porcentajes de recobro de la Ranitidina para la reproducibilidad del método.	106
Fig. 54. Resultados de los porcentajes acumulados y su Gráfico correspondiente de los perfiles de disolución para los lotes 007F, 010F y 013F en agua y HCl 0.1N	129
Fig. 55. Resultados de los porcentajes acumulados y su Gráfico correspondiente de los perfiles de disolución para los lotes 007F, 010F y 013F en agua y HCl 0.1N	130
Fig. 56. Resultados de los porcentajes acumulados y su Gráfico correspondiente de los perfiles de disolución para los lotes 007F, 010F y 013F en agua y HCl 0.1N	131
Fig. 57. Resultados de los porcentajes acumulados y su Gráfico correspondiente de los perfiles de disolución para los lotes 007F, 010F y 013F en agua y HCl 0.1N	132
Fig. 58. Resultados de los porcentajes acumulados y su Gráfico correspondiente de los perfiles de disolución para los lotes 007F, 010F y 013F en agua y HCl 0.1N	133
Fig. 59. Resultados de los porcentajes acumulados y su Gráfico correspondiente de los perfiles de disolución para los lotes 007F, 010F y 013F en agua y HCl 0.1N	134

ABREVIATURAS

°C: grados Celsius
µg: microgramos
AB: ácidos biliares
ABS o Abs: Absorbancia
AGV: ácidos grasos volátiles de cadena corta
AINE's: Antiinflamatorios no esteroideos
AL: ácido láctico
Alg-Ca: Alginato de calcio
ANOVA: Análisis de varianza
API y P.A: Active pharmaceutical ingredients o principio activo
CMV: Centro de Medicina Veterinaria
CO ₂ : Dióxido de carbono
conc: concentración
CV: Coeficiente de variación
Desvest: Desviación estándar
DSC: calorimetría diferencial de barrido
EGUS: Equine Gastric Ulcer Syndrome
EUA: Estados Unidos de América
F: Floated
FDA: Food and Drug Administration
FESC: Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán
FEUM: Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos
FF: Forma farmacéutica
g: gramo
GI: Gastrointestinal
H ₀ : Hipótesis nula
H _a : Hipótesis alterna

HCl: ácido clorhídrico
HPLC= CLAR: Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución
HPMC: Hipromelosa o Hidroxipropilmetilcelulosa
hr: hora
IC: Intervalo de confianza
IV: Intravenosa
Kg.: kilogramo
LEDEFAR: Laboratorio de Ensayos de Desarrollo Farmacéutico
m: metro
M: molaridad
mg: miligramo
MGA: Método general de análisis
min.: minuto
ml: mililitro
MP: Materia prima
MTA o Mta: Muestra
MVZ: Médico Veterinario Zootecnista
N: normalidad
NF: National Formulary
NG: Nasogástrico
NIR: infrarrojo cercano
nm: nanómetro
PDMS: polidimetilsiloxano o simeticona
pH: potencial de Hidrogeno
QbD: Quality by design
QFB: Químico Farmacéutico Biólogo
R ² : Coeficiente de determinación
RAN: Ranitidina

rpm: Revoluciones por minuto
S: segundo
SFDF: sistemas flotantes de dosificación de fármacos.
SIM: Simeticona
SOL o Sol: Solución
STD: estándar
TGR: Tiempo de Gastro Retención
UC: Uniformidad de contenido
UNAM: Universidad Nacional Autónoma de México
USP: United States Pharmacopeia
UV-Vis: Ultravioleta - Visible
Val: Valoración

I. INTRODUCCIÓN

La úlcera gástrica en equinos es una enfermedad recurrente en caballos, y se puede presentar en cualquier etapa de la vida del desarrollo; incluidas las etapas de neonatos, potros, y madurez. Este síndrome presenta un gran índice de prevalencia en equinos de alto rendimiento, ya sean caballos de carreras o de uso deportivo ecuestre. Las úlceras gástricas, además de ser uno de los factores que junto con la acumulación de gas en el interior del estómago, predispone a los equinos a una patología que es más compleja conocida como cólico, que dependiendo del estadio puede resultar fatal para el animal. Los diversos factores que la originan, la convierten en una enfermedad crónica; que se podría tratar cada determinado tiempo de forma profiláctica para reducir el riesgo en los animales y las pérdidas económicas para los productores.

En los últimos años en México, el mercado actual farmacéutico veterinario está en proceso de transformación a nivel regulatorio para establecer pruebas y especificaciones de calidad para que todos los medicamentos cumplan y presenten la misma efectividad terapéutica; actualmente la FDA solo tiene autorizado un medicamento para el tratamiento de úlceras en equinos, Gastrogard® pasta oral a base de omeprazol; es relativamente costosa e inaccesible para los productores y granjeros que tienen caballos de uso extensivo, para lo cual se propone el desarrollo de diversas formulaciones tomando como base una pasta flotante y un bolo de rápida desintegración de Ranitidina (antiulceroso), con Simeticona (antiespumante), que mediante el diseño de experimentos, se obtendrán diversas formulaciones y se fabricar algunas formulaciones piloto, y se demostrará su estabilidad, y se probarán en los sujetos de experimentación y determinarán mediante endoscopias y pruebas clínicas, cuál de estos preparados presenta estadísticamente la mejor eficacia terapéutica en la reducción de las úlceras, la cantidad de espuma y gas en los equinos.

II. JUSTIFICACION E HIPÓTESIS

A. Justificación

La prevalencia de las úlceras en los equinos, abre un campo de investigación para tratar de manera preventiva y eficaz un trastorno que se presenta en una gran cantidad de animales. Por esta razón el presente proyecto se contempla como una opción más económica e igual de efectiva que los productos veterinarios disponibles en el mercado actual; se tratará de obtener una fórmula farmacéutica que mejore la estabilidad, el sabor, se busque que aumente la permanencia del fármaco en el sitio de acción y por ende mejore su eficacia en el tratamiento de la úlcera y que facilite la administración a una gran cantidad de equinos, pero sobre todo que sea accesible a los equinos más vulnerables.

B. Hipótesis

El diseño de una formulación óptima para obtener una pasta flotante de Ranitidina y Simeticona que después de ser administrada a equinos en intervalos regulares, podrá reducir la aparición de úlceras, debido a un efecto profiláctico, por lo que su obtención y estudio representará un producto práctico, efectivo y de fácil administración para los grupos de equinos más vulnerables.

III. OBJETIVOS

A. General

➤ Desarrollar una forma farmacéutica veterinaria, para comprobar su desempeño in vitro e in vivo, en el tratamiento de úlceras gástricas en equinos.

B. Particulares

➤ Establecer una serie de formulaciones para establecer la mejor mezcla de excipientes que permita aumentar el tiempo de permanencia en el estómago.

➤ Determinar las formulaciones farmacéuticas más óptimas, mediante pruebas de estabilidad, cuantificación y disolución para poder realizar la producción de lotes piloto.

➤ Cuantificar la cantidad de Ranitidina en la forma farmacéutica mediante la validación de método para la valoración, uniformidad y disolución, para asegurar que cumple con las características de calidad.

➤ Evaluar las diversas formulaciones mediante pruebas in vitro e in vivo para verificar que cumplen con los parámetros mínimos de seguridad y efectividad para su uso en equinos.

IV. MARCO TEÓRICO

A. Anatomía.

1.1 El tracto gastrointestinal de los equinos.

El TGI de un herbívoro típico consiste en la cavidad oral, la faringe, el esófago, el estómago, el intestino delgado, el intestino grueso y el recto ver Fig. 1. Se extiende a través del cuerpo y se encuentra en gran medida dentro de la cavidad abdominal. Además de los principales segmentos del TGI, existen varias glándulas y órganos asociados que se encuentran fuera del TGI y que están involucrados en los procesos de digestión y vacían sus secreciones a lo largo del sistema gastrointestinal (Al Jassim R, 2009).

Los segmentos superiores del tracto gastrointestinal.

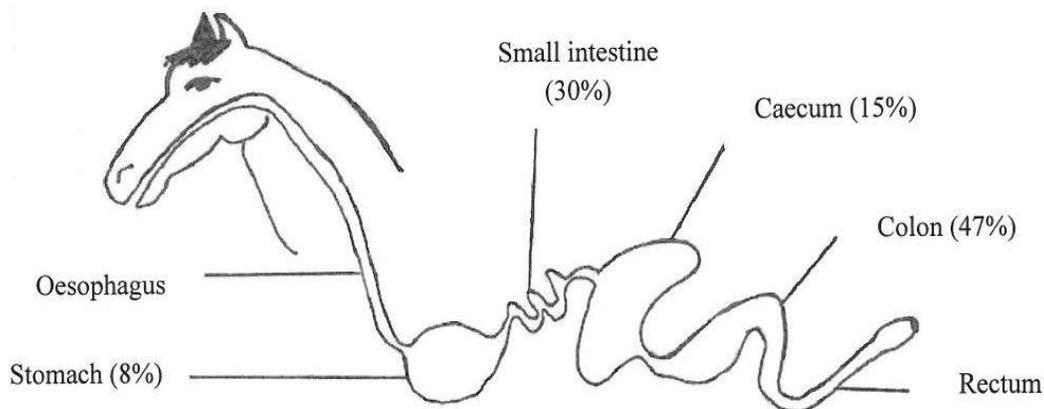


Fig. 1 Porcentajes aproximados de los componentes del tracto gastrointestinal (Dicks L, 2014).

Las siguientes secciones describen brevemente las características anatómicas y las funciones de los diferentes segmentos del tracto gastrointestinal del caballo.

1.2 La boca y el esófago.

Estas estructuras incluyen los labios, la lengua, los dientes y las glándulas salivales asociados. El caballo se diferencia del ganado bovino, en que el caballo tiene dos incisivos superiores e inferiores que les permite pastar más cerca de la base. La mandíbula superior es más ancha que la mandíbula inferior, y el caballo mastica con un movimiento de lado a lado de modo que sus dientes se juntan en una molienda de tracción. Los tres pares de

glándulas salivales secretan saliva, que ayuda en lubricación del alimento y facilita la deglución. Los tres pares de glándulas salivales son las glándulas parótidas, las glándulas mandibulares o submaxilares y las glándulas sublinguales (Al Jassim R, 2009).

La saliva es secretada sólo en respuesta a la acción de masticación y la presencia de alimentos en la boca; no es estimulado por la vista o el olor de los alimentos, como sucede en otras especies. Cerca de 10 a 12 litros de saliva es secretada diariamente; la cantidad depende de la textura y forma de alimentación (Dicks L, 2014). La saliva parece que no tiene una función digestiva relevante, pero presenta una consistencia mucoide (viscosa) cuya función es lubricar los alimentos, además su elevado contenido de bicarbonatos (HCO_3), le proporciona la capacidad de protección contra la acidez en la región proximal del estómago, lo que ayuda a elevar y evitar la disminución del pH asociado con los AGV y la producción de ácido láctico para mantener condiciones ligeramente ácidas pH (3.0 – 4.5), la saliva también contribuye a favorecer la presencia de las bacterias ácido-tolerantes y para fermentar los carbohidratos no estructurales y permitir la producción de lactato, que tiene una importante implicación para el bienestar alimenticio y nutricional del equino (Videla R, 2009).

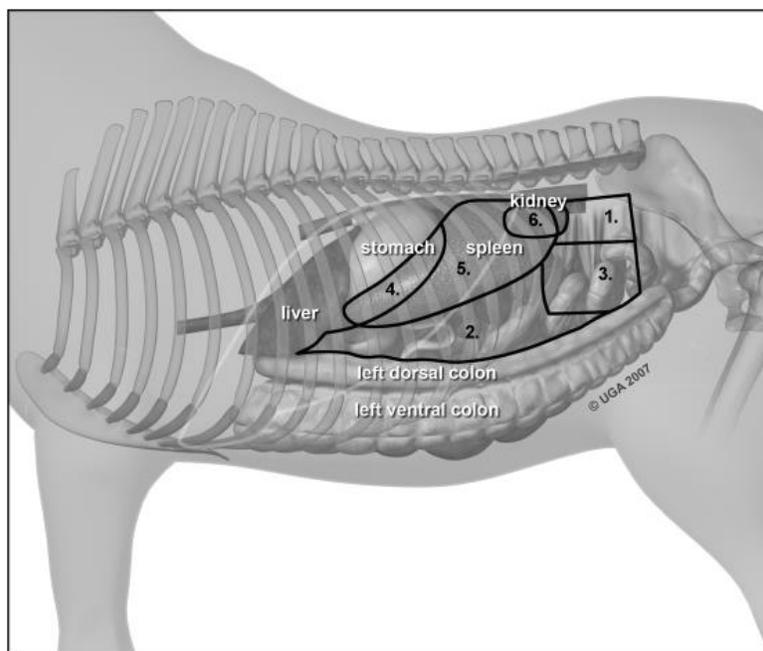


Fig. 2 Regiones del lado izquierdo del abdomen para el examen del yeyuno (cortesía de la Universidad de Georgia, Athens, GA): (1) caudo dorsal al bazo; (2) dorsal a izquierda dorsal grande de colon; (3) el flanco; (4) Espacio gastroesplénico; (5) lateral de bazo; (6) Espacio nefroesplénico (Epstein K, 2008).

1.3 La faringe y el esófago.

La faringe más comúnmente llamada " garganta " es el paso de alimentos y aire. Es una estructura músculo-membranosa que se estrecha en forma de embudo hasta la tráquea y el esófago. Los alimentos pasan por la faringe, y activan el sistema de deglución; que abre y cierra de forma controlada la entrada de la laringe y de la cavidad nasal, para evitar una comunicación entre estas vías lo que se traduciría en el atragantamiento del animal, y que modificaría la conducta normal del equino al momento de la deglución (Al Jassim R, 2009).

El esófago es un tubo muscular largo, que termina en el cardias, unos centímetros más allá del diafragma. La entrada de los alimentos en el estómago, está custodiada por este anillo muscular (esfínter); el cual se encuentra cerrado a excepto durante la deglución. Los caballos son incapaces de regurgitar el contenido gástrico hacia el esófago debido a que el esófago entra en el estómago a un ángulo agudo y el esfínter se cierra cuando se expande el estómago. La fermentación de los alimentos en el estómago del caballo y la acumulación de gas en forma de espuma, aumenta la presión estomacal, y puede producir la ruptura y derrame del contenido en el peritoneo. Los músculos del esófago están constituidos por una capa circular interna y una capa externa longitudinal, similar en estructura para el estómago y el intestino. En el caballo, las dos terceras partes del esófago, lo constituyen músculo del tipo estriado; mientras que el músculo liso está presente en la porción más baja del esófago (Al Jassim R, 2009).

1.4 El estómago del caballo.

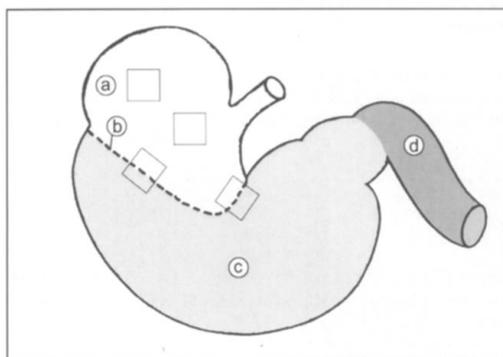


Fig. 3 Presentación esquemática del estómago de un equino que muestra las regiones de los recubrimientos gástricos: a y b en la región no glandular y c en la región del margo plicatus y d en el duodeno (Carsten y colab, 2001).

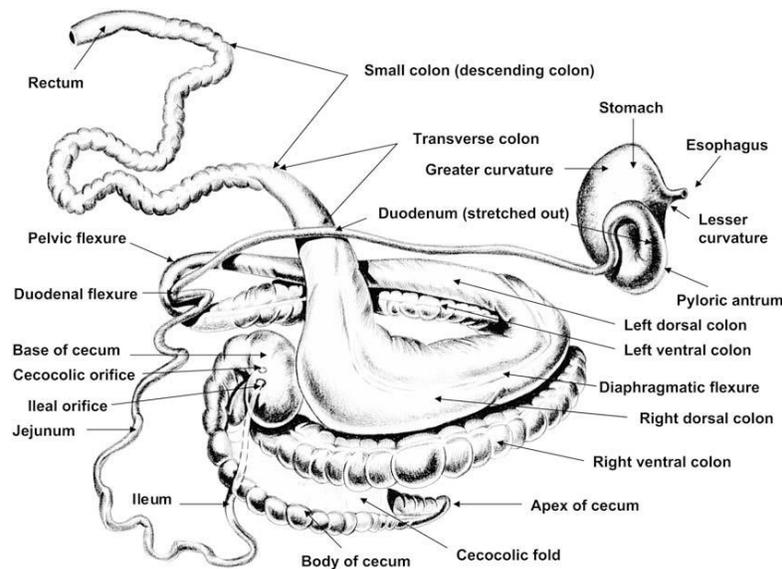


Fig. 4 Esquema de los componentes del tracto gastrointestinal completo de un equino. (Realizado por Kate Andrews, University of Queensland Gatton Campus, Queensland, Australia. Adapted from McCracken TO, Kainer RA, Spurgeon TL. The horse. In: McCracken TO, Kainer RA, Spurgeon TL, editors. Spurgeon's color atlas of large animal anatomy: the essentials. Oxford: Wiley-Blackwell; 1999, pág. 16).

La cavidad del estómago del caballo es relativamente pequeña, en comparación con otras especies animales de proporciones similares (ver Fig.3), ya que comprende sólo el 8% a 10% del tracto GI y presenta una capacidad de entre 7,5 y 15 L, dependiendo del tipo de alimento que consuma el caballo ver Fig. 4 (Buchanan B, 2003).

El estómago presenta dos grandes regiones: la mitad superior del estómago, consta de células epiteliales escamosas que carecen de una capa mucosa, mientras que la parte inferior es la región glandular y se compone de tejido secretor, zona donde se produce ácido clorhídrico y el moco, que ayuda a proteger esta región de una lesión por exceso de ácido clorhídrico.

Los equinos que se alimentan continuamente, con pasto fresco mantienen el estómago lleno y con buen volumen para la digestión. La parte situada más cerca del esófago se llama cardias. El siguiente es el fondo, que es la parte en forma de cúpula del estómago. El fondo es adyacente al corpus, la base redondeada, y juntos constituyen la porción media estomacal, esta región es la que presenta mayor distensión en caso de inflamación. La parte que une el estómago al intestino delgado es el píloro. La parte del

estómago en donde se alinea el epitelio escamoso estratificado, y la región glandular, la también llamada “*Margo Plicatus*” (Buchanan B, 2003; Videla R, 2009).

El Margo Plicatus es una región no glandular y por lo tanto no produce secreciones. Esta parte representa aproximadamente un tercio del estómago. La comida al entrar en el estómago está mal mezclada, por lo que hay un gradiente de pH entre la entrada del estómago, y en la región cardiaca así como, otro pH la región glandular pilórica. Cuando el forraje es consumido, la masticación estimula la secreción de saliva, y la entrega continua de saliva al estómago funciona como una solución tampón que protege la región no glandular (Al Jassim R, 2009).

1.5 La microbiología del tracto GI del equino.

La comunidad microbiana del TGI del equino ha recibido muy poca atención a pesar de su importancia para la salud y la digestión de los alimentos. Algunos autores han reportado que para caballos sanos debe existir una relación entre la mucosa y los recuentos lumbales. Las bacterias asociadas a las diversas regiones conforman entre el 70%, 20%, y 25% en los recuentos microbianos del duodeno, el yeyuno y el íleon, respectivamente (Daly K, 2001; Dicks L, 2014).

Las técnicas moleculares han revelado una gran diversidad bacteriana dentro del estómago y la región intestinal del equino (Daly K, 2001). La fermentación puede cesar en la parte más ácida del estómago, zona cercana a la parte pilórica, pero las bacterias productoras de ácido láctico permanecen viables, incluso cuando los caballos en ayuno por más de 12 horas y parecen ser capaces de tolerar cambios bruscos de pH. Los microorganismos observados en el estómago de caballos alimentados con dietas ricas en almidón o carbohidratos no estructurales incluyen al *Streptococcus bovis*, *S. equino*, *Lactobacillus salivarius*, *L. mucosus*, *L. delbrueckii*, y *Mitsuokella jalaludinii*. (Al Jassim R, 2009).

La acidosis debida a la presencia del ácido D-láctico está bien documentada en la literatura, pero hay poca información disponible acerca de la identidad de las bacterias productoras de ácido D-láctico. Las especies *S. bovis* y *S. equino* han sido las más estudiadas debido a su papel bioquímico, sobre en la acumulación de este metabolito y su participación en el desarrollo de laminitis (Dicks L, 2014).

La fermentación en el intestino posterior del caballo, es similar a la que en el que se presenta en el rumen, lo que resulta en la producción de ácidos grasos volátiles de cadena corta (AGV), principalmente acético, propiónico, y butírico. La proporción de estos ácidos está influenciada por la cantidad y el tipo de sustrato, la composición de la comunidad microbiana, y las condiciones fisiológicas del intestino posterior. La comunidad microbiana del intestino posterior (ciego) del caballo, en particular, está formada por las bacterias que degradan la fibra de celulosa, es mucho menor que en los rumiantes. Por esta razón los AGV son absorbidos de forma muy importante a través de la pared del intestino posterior, y son transportados por la sangre a diferentes tejidos, donde se utilizan como fuente de energía (Al Jassim R, 2009).

Los caballos son menos eficientes que los rumiantes durante el proceso de digestión de la fibra, por lo tanto, presentan una tasa de supervivencia más baja que los rumiantes bajo condiciones de sequía severa.

La gran cantidad de AGV produce una acumulación de gas por exceso de fermentación, lo que provoca una gran cantidad de espuma cuya única vía de eliminación es dorsalmente, en forma de flatulencias. En condiciones normales de pastoreo, los caballos pasan aproximadamente entre 10 a 12 horas al día con la ingesta de alimento. Estos patrones de alimentación les permiten mantener un estómago lleno y un suministro continuo de nutrientes para tener la energía necesaria de sostén, y además mantener una microflora intestinal equilibrada a lo largo de todo el sistema digestivo (Al Jassim R, 2009).

1.6 Requisitos de energía del caballo.

Como se mencionó anteriormente, los caballos pueden pasar varias horas alimentándose (10 a 12 horas al día), para satisfacer sus necesidades nutricionales por su limitación física para absorber los nutrientes necesarios en el estómago y el ciego. Este comportamiento es especialmente importante cuando se consideran las necesidades de energía para un caballo de carreras o un caballo de alto rendimiento. La energía para el caballo se basa en digerir nutrientes, como son los carbohidratos, proteínas y grasa. Por tanto debe hacerse referencia a las Kcal de energía digerible por día / Kg peso corporal, para expresar las necesidades

energéticas de equinos. Los requisitos calculados para el mantenimiento variaron desde 25,7 hasta 35,1 kcal / kg de peso corporal (Buchanan B, 2003).

1.7 El forraje grueso para la alimentación de equinos.

En condiciones normales de alimentación los caballos, consumen dietas que consisten principalmente en la pared celular del pasto, compuesto de polisacáridos que incluyen celulosa, hemicelulosa y pectina, los cuales son los principales constituyentes estructurales de la pared celular vegetal. Este tipo de dietas a menudo son voluminosas y bajas en contenido de energía. Los caballos para satisfacer sus necesidades de energía y de otros nutrientes, pastan continuamente en condiciones de corral, pasan entre 0,5 a 3 horas consumiendo alimento a base granos (Al Jassim R, 2009).

Los procesos digestivos del caballo comienzan con la hidrólisis ácida en el estómago y la digestión enzimática seguida por una extensa fermentación en el ciego, y la simbiosis con las bacterias se da en todo el tracto gastrointestinal. La contribución de los AGV a los requerimientos diarios de energía del caballo puede ser tan alta como del 70% al 80%. En estas condiciones el ambiente del intestino grueso permanece tamponado y apoya la proliferación de los principales grupos de la comunidad microbiana (Al Jassim R, 2009).

B. Cólico.

El cólico es un problema equino grave que afecta a los caballos a nivel mundial y puede ser potencialmente mortal. Entre las varias causas probables de esta síndrome se encuentran los parásitos internos, los cambios de dieta, los tratamientos farmacológicos, las condiciones de alojamiento, la falta de acceso a los pastos frescos y el agua, aumento en el régimen de ejercicio, y la movilización de los caballos, son los factores más comunes que pueden contribuir a una rápida digestión (fermentación) y la excesiva acumulación de gas, lo que conduce a la distensión del aparato digestivo y en consecuencia causan cólicos. Un suministro inadecuado de fibra dietética y una dieta alta en concentrados a base de granos y frecuentes periodos cortos de alimentación, son las causas principales del cólico en los equinos, bajo los modernos sistemas de crianza. Además de una mala dentición, también pueden contribuir a la aparición de cólicos: Un proceso de masticación ineficaz, así como

una deglución de alimento demasiado largo, lo que puede interrumpir el proceso de la digestión y que resulta en estreñimiento y reduce la velocidad del paso de los alimentos y aumenta la formación de gas (Eipstein K, 2008; Al Jassim R, 2009).

1.1 La secreción de ácido gástrico.

La mayoría de las úlceras (cerca del 80%) se producen en la región no glandular proximal, zona cercana a la región del cardias, en donde el recambio celular es más lento y la acumulación de AGV es mayor.

Tabla 1. Características fisicoquímicas de muestras colectadas usando un tubo nasogástrico en 6 equinos, 2 h después de ser alimentados (Tabla parcial tomada de Varloud M, 2007).

Característica	Media	S.D	CV	Rango
pH ₁	5.23	0.66	0.13	2.87-7.18
pH ₂	5.08	0.44	0.09	4.07-6.36
Temperatura	24.19	1.27	0.05	18.0-27.9
Volumen	191.67	67.91	0.35	40-590
Total AGV	7.29	1.73	0.24	20.1-129.2
S.D.: desviación estándar; CV: coeficiente de variación				

1.2 Las úlceras gástricas.

Son mayormente encontradas en la curvatura menor y la curvatura mayor de la región no glandular, cerca de la *Margo plicatus*, donde existe aumento en la concentración del ácido clorhídrico que se produce en el fondo del estómago, en comparación con la región *saccus caecus*. La región de la mucosa no glandular escamosa está predispuesta a la lesión de ácido porque carece de moco protector sustancial y de células promotoras del búfer de bicarbonato. (Tabla 1.) Por otra parte, los efectos erosivos de ácido gástrico son la causa más probable de los signos de cólico en los caballos con úlceras gástricas (Rabuffo T, 2009).

Los dos tercios distales del estómago está revestido por mucosa glandular y tiene una amplia cantidad de moco protector y células productoras de bicarbonato. Las glándulas en esta región secretan ácido clorhídrico (HCl) y pepsinogéno para digestión. Esta región también contiene una extensa red capilar y presenta desde el punto de vista fisiológico una rápida restitución del epitelio cuando este se lesiona. Aproximadamente el 20% de las

úlceras se producen en esta región y puede sanar rápidamente sin intervención terapéutica. Las úlceras graves en la región profunda puedan llevar a dolor abdominal, especialmente cuando ocurren alrededor de la abertura del píloro (Rabuffo T, 2009).

Los caballos son secretores de HCl gástrico continuo, la exposición al ácido se piensa que es la causa primaria de EGUS y dolor abdominal intermitente asociado con úlceras gástricas. La secreción de HCl gástrico es estimulada por la gastrina, histamina y acetilcolina, un neurotransmisor del nervio vago. Sin embargo, otros ácidos (ácidos grasos volátiles [AGV], ácidos biliares [AB] y ácido láctico [AL]) y enzimas (pepsina), que se encuentran en el estómago pueden irritar la mucosa del estómago. La exposición prolongada de los ácidos en la región no glandular, en un entorno de pH bajo, probablemente es la que principalmente contribuye a la EGUS y dolor observado en equinos (Buchanan B, 2003).

La prevalencia de caballos con una puntuación de 2-4 lesiones (Lesiones en la mucosa) fue de 70 % para la región no glandular escamosa y el 30 % para la porción glandular del estómago.

1.3 Prevalencia de las úlceras.

La prevalencia de la úlcera gástrica es alta en caballos de competición o de alto desempeño. En estudios realizados mediante endoscopia realizados en caballos de alto rendimiento, se observó la formación, y la presencia de úlceras gástricas en el 80% de los equinos examinados Tabla 2. (Buchanan B, 2003).

Tabla 2. Factores fisiológicos que promueven el desarrollo de úlceras gástricas.

Factores	Factores protectores de la región mucosa no glandular	Factores protectores de la mucosa glandular.
Secreción de ácido clorhídrico	Restitución epitelial	Secreción de bicarbonato por células especializadas.
Producción de ácidos orgánicos	Flujo sanguíneo en la mucosa	Restitución epitelial
Conversión de pepsina a pepsinogéno		Flujo sanguíneo en la mucosa
Reflujo Duodenal de ácidos biliares		Producción de prostaglandinas E

1.4 Las etiologías del síndrome de úlcera gástrica equina en animales adultos.

Los caballos son secretores de ácido clorhídrico gástrico continuo, la exposición al ácido se piensa que es la causa primaria de EGUS (Murray y colab, 1996). Varios ácidos (HCl, ácidos grasos volátiles [AGV], y ácidos biliares) ha demostrado que causa daños a la región no glandular del estómago equino (Buchanan B, 2003).

En un informe reciente, el ácido clorhídrico y la presencia de una gran cantidad de AGV, causa una inhibición del transporte celular de sodio, lo que se traduce en hinchazón celular, y eventual úlcera cuando se expone la mucosa escamosa no glandular a un pH de 4 o menor (Nadeau y colab. 2003).

Los efectos de los ácidos biliares no tienen relación con las úlceras gástricas, debido a que su sitio de liberación, es en duodeno y estos ácidos presentan un pH con características cercanas a la neutralidad ($\text{pH} \geq 6.5$), y por otra parte el reflujo esofágico no representa mayor problema debido a que presenta un pH mayor que 4. El pepsinogéno, que se transforma en la forma activa de pepsina a un pH de menor de 4, y tiene un papel preponderante en el desarrollo de EGUS. Esta enzima proteolítica puede actuar sinérgicamente con el ácido clorhídrico para dar como resultado en daño por acidez. Aunque el ácido clorhídrico y el estrés son los principales agentes causales, la posible combinación del ácido clorhídrico y los ácidos orgánicos, actúan de forma sinérgica con la pepsina para causar EGUS. La clasificación de las lesiones ha sido realizada como se muestra en la Fig. 5 para la región no glandular (color blanco) y para la región glandular (color negro) en múltiples estudios previos, para evidenciar la proporción y el grado de úlcera en determinado grupo de equinos, y establecer las bases internacionales para evaluar el grado de EGUS que presentan los equinos (Rabuffo T, 2009).

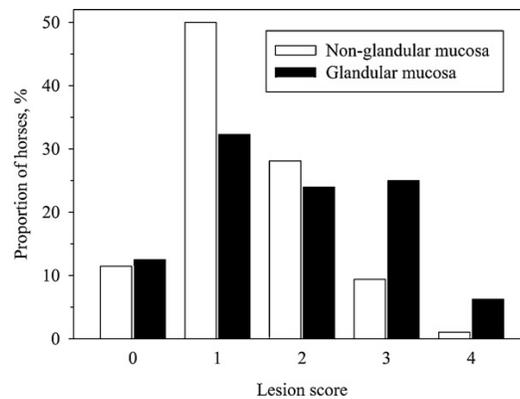


Fig. 5 Distribución de puntuaciones de las lesiones en los caballos. Puntuación 0: Epitelio intacto sin enrojecimiento o hiperqueratosis, 1: mucosa intacta con áreas de enrojecimiento o hiperqueratosis, 2: pequeñas lesiones únicas o multifocales, 3: lesiones grandes, simples o multifocales o lesiones superficiales extensas, y 4: extensas lesiones con áreas de ulceración profunda aparente (Jens Malmkvista, 2012).

Por otra parte el cólico es una manifestación aguda que puede presentarse de forma más común en caballos, requiere una evaluación de emergencia (no mayor de 8 h) y un tratamiento farmacológico inmediato. Regularmente se utiliza el ultrasonido para evaluar el tracto gastrointestinal, en tiempo real y que esto permita al especialista la evaluación de espesor de la pared del intestino, la contractilidad, distensión, contenido luminal, y fluido peritoneal. La ecografía gastrointestinal también se puede utilizar en los caballos con complicaciones después de la cirugía abdominal para evaluar el cólico. La evaluación del espesor de la pared y de la contractilidad puede ser útil en la determinación del flujo sanguíneo postoperatorio y determinar si no sufren de íleon paralítico postoperatorio o presentan isquemia intestinal (Videla R, 2009).

Tabla 3. Estrategias de tratamiento farmacológico (inmediato) y dietas de prevención de úlceras gástricas en equinos.

Estrategia	Régimen de trabajo	Heno fresco vs. alfalfa	Estabulación	Intermitente vs. Alimentación libre	Farmacoterapia
1	Carrera / intensivo	Alfalfa	Confinado	Libre	Gastrogard® 4mg /Kg por 28 días luego 2 mg/ Kg de mantenimiento.

2	Carrera / intensivo	Alfalfa	Confinado	Libre	Ranitidina 6.6 mg / Kg, tres veces al día durante el tratamiento y el mantenimiento
3	Carrera / intensivo	Alfalfa	Confinado	Libre	Antiácidos, 30/15 g de AlOH/MgOH antes del ejercicio y en la tarde.
4	Moderado / espectáculos	Alfalfa	Confinado con comida	Libre en el establo	Igual que el tratamiento 1 y 2 con omeprazol y ranitidina 3 días antes del evento
5	Carromato / compañía	Ambos	Campo libre	Pastando	No es necesario excepto cuando se diagnostica úlceras, tratar por 14 días y valorar de nuevo al equino.

1.5 El sexo, edad y temperamento.

En un estudio realizados por otros investigadores demostraron que existe un porcentaje más alto de ulceración gástrica en equinos castrados (94%) que en los potros (78%) y yeguas (82%). Estudios realizados por otros investigadores sobre la formación de úlceras en los caballos de carreras, no han demostrado diferencias acerca de la predisposición y la gravedad de EGUS entre machos y hembras. Se ha evaluado la gravedad de las úlceras gástricas en equinos de diferentes edades, encontrándose que, los caballos mayores de 3 años de edad presentan más predisposición a las úlceras que los caballos de 2 años de edad, debido al uso y a los tiempos de trabajo a los que son sometidos y el riesgo de úlceras aumentó con la edad en caballos castrados y disminuyó con la edad en las yeguas y sementales. Sin embargo, esto podría haber sido debido a que los caballos más viejos habían estado en un período de entrenamiento mayor. Además de un temperamento y comportamiento nervioso, se distingue a menudo como un factor que predispone y se asocia con úlceras gástricas (Videla R, 2009).

1.6 Alimentación intermitente Vs. alimentación continua.

Los caballos que pastan a campo abierto tienen una disminución de la prevalencia de EGUS. Durante el pastoreo, hay un flujo continuo de saliva y alimentos ingeridos que amortigua el ácido del estómago, y pH del estómago es 5.0 – 7.0 para una gran parte del día, como se muestra en la Tabla 3. Por otro lado, cuando la alimentación es intermitente o limitada en los caballos, antes de las carreras o en caballos estabulados, el pH gástrico cae rápidamente, y la mucosa glandular se expone a un ambiente excesivamente ácido ($\text{pH} \leq 1$) (Buchanan B, 2003).

1.7 Confinamiento en los establos.

El confinamiento ha sido implicado como un factor de riesgo para EGUS. Por ejemplo, seis de siete caballos alojados en establos presentan úlceras gástricas, mientras que ningún caballo tenía úlceras gástricas después de 7 días de alimentarse libremente en los pastos.

En otros estudios, se observó que la gravedad no presentaba diferencias significativas entre los caballos estabulados de tiempo completo, y caballos confinados por periodos intermedios y caballos libres de tiempo completo. Se encontró que el pH del estómago no cambió significativamente en los caballos alojados solo en establos, o ubicados con un compañero, y alojados en un estabulador metabólico (Buchanan B, 2003).

1.8 Las dietas modificadas.

El tamaño y la composición del grano tienen una relación directa y un profundo efecto causando EGUS. Debido a que las dietas altas en concentrados son ricas en carbohidratos digeribles, que rápidamente son fermentados por las bacterias residentes, lo que resulta en la producción de AGV. Los AGV en presencia del pH bajo en el estómago (< 4) causa daños en el mucosa de la región no glandular escamosa. Como se muestra en la tabla 3 (Buchanan B, 2003).

1.9 Los agentes antiinflamatorios no esteroideos (AINE's)

El uso de AINE's es común en los caballos con dolor abdominal agudo. Típicamente, a estos caballos se les suministra ya sea fenilbutazona o flunixinina meglumina por vía intravenosa para controlar el dolor durante un episodio de cólico. Estos agentes,

especialmente la flunixin meglumina son muy eficaces en la disminución de dolor abdominal asociado con aguda cólicos, pero varios efectos secundarios han sido reportados lo que hace riesgoso su uso en los caballos de forma directa con el EGUS (Buchanan B, 2003).

1.10 *Helicobacter* spp y otras bacterias.

Múltiples tipos de *Helicobacter* han sido aislados de distintas especies animales que sufren de úlceras gástricas y gastritis. Recientemente, una nueva especie entero hepática de *Helicobacter*, denominada *Helicobacter equorum*, se aisló de muestras fecales de algunos equinos clínicamente sanos, que indica que solo algunas de las especies de *Helicobacter* son responsables a la predisposición de las úlceras (Al Jassim R, 2009).

C. Los signos clínicos de Síndrome de la Úlcera Gástrica Equina.

Los signos clínicos asociados con EGUS son numerosos y a menudo de múltiples orígenes, los cólicos agudos y recurrentes se presentan junto con diarrea, el pelo áspero, la falta de apetito, la pérdida de peso, cambios en la actitud, estados de depresión y disminución del rendimiento, son signos que se presentan en los caballos con úlceras, ver Tabla 4 (Buchanan B, 2003).

Tabla 4. Signos clínicos y factores de riesgo para desarrollar EGUS

Signo clínico en adultos	Factores de riesgo
Cólico agudo	Stress
Cólico recurrente	Transportación
Inflamación	Dieta rica en granos
Baja condición física	Exceso de confinamiento
Anorexia parcial	Alimentación intermitente
Bajo rendimiento	Carreras
Cambios de actitud	Enfermedades
Problemas al orinar	Uso de AINE's
Falta de energía	Cambios en el manejo
Diarrea crónica	Infección parasitaria
Falta de apetito	Ejercicio intenso

1.1 Diagnóstico.

El diagnóstico de EGUS requiere una historia clínica detallada, la realización de un examen físico, y una serie análisis de laboratorio. A fin de facilitar la identificación de factores de riesgo y detectar los signos clínicos presentes para hacer un diagnóstico veraz. Sin embargo, la endoscopia es el único diagnóstico confiable y seguro, para detectar y evaluar la gravedad de las úlceras gástricas. La endoscopia o también denominada gastroscopia se han descrito en detalle, en diversas fuentes literarias, para su realización se requiere un endoscopio de mínimo 2 m de largo para visualizar la región no glandular de la mucosa y el *margo plicatus* y un endoscopio de mayor luminiscencia y más largo para visualizar el píloro y el duodeno proximal en equinos adultos. El uso de un sistema de puntuación para la úlcera gástrica permite a los médicos poder comparar los resultados gastroscópicos y vigilar la curación de las úlceras y evaluar la eficacia del tratamiento (Buchanan B, 2003).

Desafortunadamente, las técnicas de laboratorio proporcionan pruebas de diagnóstico presuntivo solamente de EGUS, mientras que un diagnóstico definitivo sólo puede hacerse mediante un examen endoscópico. Por lo tanto, si la gastroscopia no está disponible y las úlceras son el padecimiento más probable, puede ser útil iniciar el tratamiento empírico y observar para la resolución de los signos clínicos. (Anon, 1999) Si el caballo no responde al tratamiento, la remisión a una institución con un gastroscopio se indica como la opción más segura, para garantizar el bienestar y la salud del animal (Buchanan B, 2003).

1.2 Sistemas Internacionales de clasificación de lesiones ulcerosas.

Los sistemas de clasificación se han desarrollado para evaluar el número de úlceras gástricas y la gravedad de las lesiones en los caballos, la evaluación del equino y la clasificación se lleva bajo anestesia general inducida (MacAllister, 1993; Murray, 1997; Andrews 1999) ver Tabla 5 y 6. Sin embargo, las úlceras gástricas determinadas por estos sistemas de clasificación durante la endoscopia regularmente se comparan con imágenes literarias de úlceras gástricas obtenidas de la realización de necropsias y pruebas de histopatología en cadáveres de equinos.

Tabla 5. Número / severidad (N / S) sistema de puntuación (MacAllister 1993).

Puntuación del número úlceras gástricas
0 No hay lesiones
1 a 2 lesiones leves localizadas
3 a 5 lesiones leves localizadas
6 a 10 lesiones moderas localizadas
6 > 10 lesiones o lesiones difusas (o muy grandes)

Tabla 6. Puntuación de la gravedad de las lesiones ocasionadas por úlcera gástrica

0	No hay lesiones
1	Aparece superficial
2	Estructuras más profundas involucradas (lesión tiene mayor profundidad que 1)
3	Lesiones múltiples y severidad variable (1 y 2)
4	Igual que el 3 y tiene el aspecto activo (Activo = hiperémica y / lesión oscura)
5	Igual que el 4 más hemorragia activa o coágulo de sangre adherente

La limitación de la visualización con el endoscopio en la evaluación de zonas con alimento o con líquido estomacal, no siempre refleja la verdadera condición del estómago ya que no se evalúa por completo todas las regiones del estómago del equino. Un sistema de clasificación validado daría a los investigadores la confianza de que la lesión gástrica endoscópica emita puntajes que verdaderamente reflejen el número y la gravedad de las lesiones gástricas presentes en el estómago; y mejore el diagnóstico de los médicos veterinarios zootecnistas o los químicos formuladores; para comparar los efectos de diversos agentes farmacológicos sobre la cicatrización gástrica de la úlcera.

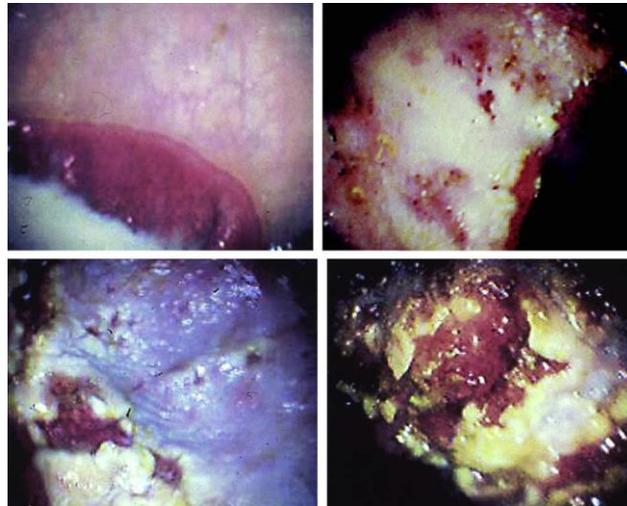


Fig. 6 Fotografías de distintos grados de úlceras gástricas según la escala propuesta en la tabla 6; *superior izquierda* Grado 0 mucosa sana; *superior derecha* lesiones menores múltiples grado 1; *abajo izquierda* grado lesiones profundas extensas grado 2 o 3; *abajo derecha* lesiones extensas profundas y con sangrado Grado 4 o 5 (Rabuffo T, 2009).

1.3 Examen endoscópico del estómago.

Los caballos fueron estabulados, restringidos de alimento durante 18-24 horas y se les negó el acceso a agua durante 4 h antes de la anestesia general. Después del período de retención de alimentación, los caballos fueron anestesiados utilizando xilacina (Rompun) y la ketamina (Ketaset) fueron colocados en posición derecho decúbito lateral, y sus estómagos se visualizaron utilizando un endoscopio de 2,75 m que fue pasado a través de la cavidad nasal y el esófago. Posteriormente se utilizó un compresor de aire era utilizado para insuflar (hasta que las rugosidades se mostraran lisas). Para visualizar la mucosa del estómago por completo, el material adherente alimenticio se lavó de la mucosa del estómago utilizando agua de grifo descargada a través del canal de biopsia del endoscopio. Fig. 6 (Andrews , 2005).

1.4 Examen histopatológico y la puntuación.

Cuando un equino fallece se procede a evaluar la cantidad de las úlceras gástricas, en la necropsia, un especialista cuenta el número de úlceras gástricas de los estómagos de los caballos las cuales son extraídas con una cuchilla de bisturí, colocado en frascos de plástico que contiene 10 veces el volumen de formalina (10%, tamponada). Y consiguientemente se

procede en el laboratorio de patología a la fijación, se preparan las laminillas necesarias y se seccionan 5 µm de las biopsias, y se tiñen con hematoxilina-eosina, para determinar la gravedad del daño y la alteración celular que se generó para causar junto con otras manifestaciones de la muerte del equino (Andrews, 1999).

D. Tratamiento farmacológico en EGUS.

1.1 Tratamientos veterinarios para la úlcera gástrica en equinos.

El alivio del dolor, la cicatrización y la prevención de complicaciones secundarias, son la característica principal del uso de antiulcerosos, como terapia de sostén para prevenir el EGUS. El tratamiento farmacológico se basa principalmente en aumentar el pH del estómago, suprimir la secreción de ácido clorhídrico, y reducir la tasa de recurrencia de la patología, un control eficaz de la cantidad de ácido debe ser el principal objetivo aunado a un control nutricional y dietas con pastura fresca para prevenir la recurrencia de la úlcera.

1.2 El manejo del dolor.

El manejo del dolor durante un episodio de cólico puede ser difícil, especialmente si los signos son graves. Sin embargo, los caballos con ulceración gástrica primaria o secundaria se presentan con episodios leves de cólicos que normalmente responden a dosis terapéuticas. Si se sospecha de EGUS la administración de fenilbutazona y flunixinina meglumina debería evitarse. Aunque una única dosis terapéutica de fenilbutazona (4,4 mg / kg, por vía intravenosa (IV) o flunixinina meglumina (1,1 mg / kg, IV) probablemente no dará lugar a consecuencias catastróficas, pero dosis repetidas y la presencia de estos fármacos por la región capilar estomacal compromete la integridad de la mucosa, y el aumento de la acidez de estómago, y la disminución la secreción de moco, puede exacerbar las úlceras gástricas (Videla y Andrews, 2009).

1.3 Terapia de antiácido específico.

En general la mayoría de las lesiones en equinos de alto rendimiento o en equinos que presenten signos clínicos deben ser tratadas con diferentes agentes farmacológicos, como se muestra en la Tabla.7.

Hay muchos enfoques para el tratamiento EGUS, pero la estrategia aceptada requiere que en la terapia se suministre un agente supresor de ácido clorhídrico. Actualmente, la pasta de omeprazol (GASTROGARD[®], Merial Limited, Duluth, Georgia) es el único producto aprobado por la FDA para el tratamiento y la prevención de recurrencia de EGUS. El uso de inhibidores de la bomba de protones ofrece muchas ventajas sobre los antagonistas de H₂, que incluyen la aprobación, la administración una vez al día por la FDA, y la capacidad de bloquear la secreción de ácido gástrico, independientemente del estímulo, aunque no necesariamente, es lo mejor para tratar una síndrome recurrente ya que se produce una alteración de tipo celular, con el uso de los inhibidores; y se ha demostrado en humanos una sensibilización a alergias y aún se está tratando de demostrar una relación la demencia en adultos mayores, por lo cual el uso de antagonistas de la H₂, surge de nuevo como una opción terapéutica económica y accesible a los dueños de equinos en México (Videla R, 2009 y Andrews, 1999).

1.3.1 Omeprazol.

Omeprazol pasta oral (4 mg / kg, por vía oral, cada 24 horas véase Tabla 7) Inhibe la secreción de ácido gástrico durante 24 horas en equinos (Daurio y colab, 1999); en un medio ácido el omeprazol se activa a una molécula sulfonamida y se une reversiblemente a la H₁ / K₁ ATPasa en las células parietales e inhibe el transporte de iones de hidrógeno en el estómago de los equinos. Debido a su efecto sobre la célula blanco, el omeprazol a menudo se llama un " bloqueador de la bomba de protones. " El efecto sobre la secreción de ácido gástrico depende de la dosis y el tiempo de administración (Andrews F, 1999 y MacAllister, 1995).

1.4 Los antagonistas de los receptores H₂.

La histamina estimula la secreción de ácido en las células parietales que tienen receptores H₂ que responden a los antagonistas de la histamina, y disminuyen la secreción de ácido por unión competitiva al receptor de histamina, bloqueando así la fijación de la histamina y la estimulación de la secreción de ácido gástrico. Además, estos agentes también pueden inhibir las secreciones de ácido estimulada por gastrina y acetilcolina (Videla R, 2009).

1.4.1 Ranitidina.

El clorhidrato de ranitidina (6,6 mg / kg c/8 h véase Tabla 7), es cuatro veces más potente, que la cimetidina. Cuando se administra por vía oral (6,6 mg / kg, por vía oral, cada 8 horas), la ranitidina suprime la producción de ácido y manteniendo el pH alrededor 4,5 en el estómago. En un estudio la ranitidina fue capaz de limitar con éxito el desarrollo de úlceras en un modelo con privación de alimento. Aunque dosis más bajas (4,4 mg / kg, por vía oral, cada 8 horas) cuando se administró por vía oral fue ineficaz para el tratamiento de EGUS. Se ha publicado que un aumento en el tiempo de retención estomacal y una liberación controlada durante el ayuno puede mejorar la respuesta terapéutica, y mejorar la disponibilidad de la ranitidina (Orsini y colab. 1991). La ranitidina (6,6 mg / kg, por vía oral, cada 8 horas) tiene una eficacia alta y se recomienda para el tratamiento de EGUS, sin embargo, el cumplimiento por parte del propietario es difícil (Videla R, 2009).

1.5 Duración del tratamiento farmacológico.

Es difícil predecir cuánto tiempo tardara en cicatrizar una úlcera gástrica glandular o no glandular, pero el tiempo de tratamiento recomendado para la mayoría de los medicamentos antiulcerosos es de 28 días. Sin embargo, el manejo, la alimentación, el confinamiento y el resto de la terapia farmacológica pueden favorecer el proceso de cicatrización. Por ejemplo, después de un modelo de privación de alimentación para la inducción de la úlcera, éstas se curaron parcialmente o en su totalidad en los caballos después de 9 días de alimentación con pastos frescos (Videla R, 2009).

Tabla 7. Terapia Farmacológica para el tratamiento de EGUS (Videla R, 2009).

Fármaco	Dosis	Vía de administración	Frecuencia de administración
Omeprazol	0.5 – 1.0 mg /Kg	Intravenosa	Cada 24 h
Omeprazol (Gastrogard)	4 mg /Kg Tratamiento 1 mg /Kg Prevención	Oral	Cada 24 h
Ranitidina	1.5 mg /Kg	Intravenosa	Cada 6 h
Ranitidina	6.6 mg /Kg	Oral	Cada 8 h
Famotidina	0.3 mg /Kg	Intravenosa	Cada 12 h
Famotidina	2.8 mg /Kg	Oral	Cada 12 h
Misoprostol	5 µg /Kg	Oral	Cada 8 h
Sulcralafto	20 – 40 mg /Kg	Oral	Cada 8 h
Antiácido AlOH/MgOH	30 AlOH / 15 g MgOH	Oral	Cada 2 h

El tratamiento con los antagonistas de los receptores H₂ debe continuarse durante al menos 28 días, pero la cicatrización puede tardar más de 40 días y puede no ser tan eficaz como el tratamiento con pasta de omeprazol. En general, puede tomar más tiempo para tratar las úlceras grandes, úlceras más severas y úlceras en la mucosa no glandular, como se indica en la Figura 7.

En los casos en los que los signos clínicos se han resuelto y los factores de riesgo para el desarrollo de la úlcera son bajos, se puede producir la curación espontánea de las úlceras sin tratamiento adicional (Videla R, 2009).

E. En el mercado veterinario.

En la medicina veterinaria, las principales razones para el desarrollo de un fármaco que cumpla con una forma farmacéutica especial o un sistema de liberación prolongada, son básicamente para reducir el estrés en los animales por la manipulación y dosificación, además de reducir el costo en términos de dinero vs. el tiempo de tratamiento. Los sistemas

de liberación controlada son más convenientes para administrar fármacos que la dosificación de repetición de liberación inmediata, y permiten que la cantidad de fármaco administrado este bien definida, en contraste con la administración de fármacos en el agua o en el alimento. Además, estas formas de dosificación también pueden reducir la exposición humana a compuestos farmacéuticos veterinarios que no son seguros para manejar (Rothen-Weinhold A, 2000).

1.1 La producción de alimentos y los animales de compañía.

El principal mercado para la aplicación de la tecnología de liberación controlada en el sector veterinario es la prevención y control de enfermedades a través del tratamiento con agentes antimicrobianos y antiparasitarios; para animales productores de alimentos. Otro mercados incluyen el control de la fertilidad de los animales, la promoción del crecimiento, la sincronización del celo (a través de la aplicación de hormonas) y la suplementación de agentes nutricionales (a través de la entrega de microminerales en trazas) (Rathbone, 1999).

En la medicina veterinaria, la entrega controlada de fármacos a los animales pueden ser convenientemente divididas en dos grandes categorías: los animales productores de alimentos, que forman el mayor sector del mercado total con aproximadamente el 70% de las ventas totales, y los animales de compañía, que representan el restante 30%. Los animales productores de alimentos consisten principalmente de ganado bovino, ovejas, cerdos y aves de corral, junto con el pescado y cualquier otro animal del cual se obtiene la carne u otros productos derivados como los huevos o leche son obtenidos (Rothen – Weinhold, 2000).

Los animales de compañía comprenden principalmente caballos, perros y gatos. Es muy importante saber si la liberación del fármaco ha sido diseñada para el tratamiento de cada animal (animales de compañía) o para su uso en un rebaño o manada. Esto se debe a que la sensibilidad al precio, es menos importante en el caso de animales de compañía, de lo que es con los animales productores de alimentos (Rothen – Weinhold A, 2000).

Los propietarios comparan constantemente el costo del tratamiento con los resultados logrados por el tratamiento. En general, el costo de un producto de liberación controlada es mayor que las terapias convencionales (costos más altos de desarrollo), pero menudo ofrece más beneficios que los tratamientos de liberación inmediata. Ejemplo de esto es que por cada visita del veterinario está asociada al costo de su tiempo, experiencia y

la frecuencia de administración que requiere el producto, entre mayor tiempo sea necesario el MVZ mayor será el coste de la tratamiento para dueño. Además, el desarrollo de un sistema de suministro de liberación controlada ofrece, que el ingrediente activo sea liberado durante largos periodos de tiempo, lo que permite el manejo de los animales sólo una vez, antes de que se introduzcan al pastoreo intensivo. Los mejores productos serán aquellos que maximizan el beneficio terapéutico con el mínimo costo y la máxima comodidad para el productor (Rothen-Weinhold A, 2000).

En el mercado de animales de compañía, el costo en la fabricación y el diseño de la forma farmacéutica, es menor con respecto a las posibles ganancias asociadas con un producto desarrollado para este grupo de animales, y las ganancias son mucho mayores en comparación con las de un producto dirigido hacia el mercado de producción animal y alimentos. El alto valor de un animal de compañía depende del valor emocional y los recursos financieros del propietario (Rathbone, 1999).

1.2 Particularidades asociados con el sector veterinario.

En los productos veterinarios se tienen que comprobar la valoración o potencia del ingrediente activo indicada en el marbete, cumplir con la uniformidad del contenido, igual que los medicamentos de consumo humano, pero no es requisito tener las validaciones del método analítico para estas determinaciones, actualmente se pretende establecer los nuevos criterios para que la industria veterinaria en México comience a realizar las pruebas de bioequivalencias y se transforme así en un mercado de genéricos veterinarios, además de los estudios detallados de residuos (también llamados estudios de depleción) y la evaluación de la seguridad en el manejo, en particular para los animales productores de alimentos.

Los niveles de residuos en los tejidos, son la cantidad de fármaco que queda en los tejidos comestibles en el momento de sacrificio de animal, para asegurar que estos niveles no causan peligro para los seres humanos, es necesario determinar experimentalmente el tiempo necesario después de la administración del fármaco para alcance a eliminarse hasta alcanzar niveles no tóxicos y estos estudios debe ser determinados por especies y dosis de fármaco administrado (Rothen-Weinhold A, 2000).

Ya que no se permite el sacrificio del animal antes de esta fecha. Por lo que se afecta directamente la oferta y la demanda del producto, e influye, en el de forma directa al uso que se dará a la forma farmacéutica, ya que el metabolismo en las especies animales en

la cual va ser usado es diferente; por lo que, el formulador tendrá que conocer el metabolismo de la especie para un óptimo diseño de la forma farmacéutica (Cardinal y colab. 1992). Ya que las pruebas in vivo deben llevarse a cabo en todas las especies animales para las que el tratamiento ha sido desarrollado. Esto elimina las incertidumbres vinculada a la correlación entre los modelos animales y por lo tanto es una importante ventaja en la determinación de los estudios de depleción (Rothen-Weinhold A, 2000).

1.3 Las formulaciones orales

Son formas farmacéuticas ampliamente utilizadas, por su facilidad de administración, a los animales que pasan gran parte de su vida de pastoreo en campos abiertos. Lo que representa un desafío para el formulador en cuestión del diseño y para el veterinario que debe garantizar la administración de la forma farmacéutica, ya que se deben optimizar los métodos de administración para garantizar que la protección de la salud animal, durante por períodos prolongados y reducir al mínimo la manipulación. Dentro del desarrollo farmacéutico la preformulación es el primer paso esencial para una buena formulación de un activo farmacéutico (API). La preformulación es una investigación lo más extensa y detallada de las propiedades fisico-químicas del fármaco, solo y en combinación con excipientes. La evaluación de las posibles incompatibilidades entre el fármaco y los diferentes excipientes (Rothen-Weinhold A, 2000).

La formulación de un fármaco con frecuencia implica, que se mezcle con diferentes excipientes para mejorar la fabricación, y para maximizar la eficacia del producto para el tratamiento de un padecimiento específico.

Los excipientes utilizados para facilitar administración y modular la liberación del activo. Pueden aumentar la estabilidad la contra la degradación del medio ambiente. La mayoría de los excipientes no tienen acción farmacológica directa, pero pueden impartir propiedades útiles a la formulación de la forma farmacéutica. Sin embargo, también pueden aumentar los efectos secundarios y / o los efectos no deseados, tales como aumento de la degradación del fármaco (McGoverin C, 2006).

Las interacciones fisicoquímicas entre fármacos - excipientes pueden afectar a la naturaleza química, la estabilidad y la biodisponibilidad del fármaco, y generar productos de degradación que en consecuencia, pueden afectar su terapéutica eficacia y seguridad (Rowe R, 2009). Para realizar las pruebas de compatibilidad se utiliza una mezcla binaria

(API – Exp) y se realiza utilizando cantidades considerables de los fármacos y cada uno de los excipientes (puede ser 1: 1 o personalizada), con o sin agua y agregado en algunas ocasiones operaciones unitarias como la pre-compactación, y se analizan utilizando un método de indicador de la estabilidad, por ejemplo cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), infrarrojo cercano (NIR) o calorimetría diferencial de barrido (DSC) (McGovernin C, 2006).

Una de las maneras más eficaces para estabilizar un fármaco que es sensible al pH, es través del ajuste del pH microscópico o adicionando agentes de pH conocido en la formulación. Existen una amplia gama de excipientes con alta estabilidad de pH y se recomiendan usar combinaciones de los agentes de tamponamiento.

Los medicamentos veterinarios y los procesos regulatorios en el ámbito veterinario actualmente están en proceso de transformación para asegurar la bioequivalencia entre los diversos medicamentos que se encuentran en el mercado mexicano; ya que en las formulaciones actuales, los estándares de calidad y los métodos de fabricación, no siempre aseguran que el producto veterinario cumpla con la efectividad y seguridad necesaria para garantizar la salud y el bienestar animal, aunque en las NOM oficiales no especifican los requisitos de los procesos de fabricación. Sin embargo los métodos analíticos, deberían estar validados, para realizar las pruebas de bioequivalencia entre productos y formas farmacéuticas, debe ser necesario que el mercado actual tome la validación como el criterio mínimo para el aseguramiento de la calidad, así como otros métodos de trabajo como la calidad por diseño (QbD por sus siglas en inglés), por esta razón, se ha comenzado a trabajar en establecer los productos que se utilizaran como innovadores. Debido a esta situación, se debe determinar la efectividad y la seguridad deben ser confirmadas por evaluaciones químicas antes y después de la salida al mercado del producto (Rothen-Weinhold A, 2000).

Los medicamentos veterinarios deben indicar que su uso, es únicamente para este fin; y además de cuáles son las especies en las que se ha comprobado su efectividad. Debido a las diferencias en las especies para tragar o ingerir tabletas masticables, se mantienen en continua modificación la vida útil de anaquel y las características de los productos veterinarios, una de las razones principales que se da en las diversas especies

veterinarias es el sabor para mejorar la palatividad, y así disminuir el potencial de impacto negativo de los productos (Imran Ahmed, 2002).

Por otro lado, las instituciones de cada país y a nivel internacional, mandan alertas del uso y establecen cada vez más controles y exigen tener un control mayor de las especificaciones para evitar el rechazo de lotes debido a la variabilidad con la que se fabrican los productos veterinarios actualmente, pero a su vez estos controles le permiten a las empresas que están comprometidas con la salud y el bienestar animal aumentar el control sobre sus procesos y formulaciones, además de que se puedan utilizar estas para trabajar en las diversas especies (Imran Ahmed, 2002).

Sin embargo, los productos genéricos en la actualidad, son ampliamente requeridos en el mercado veterinario Mexicano, con el fin de evitar la variabilidad en la respuesta, por ende los laboratorios necesitan mejorar y controlar sus procesos de manufactura. La bioequivalencia a nivel veterinario presenta una gran desventaja para la industria farmacéutica veterinaria con respecto a la especie humana, ya que los laboratorios de productos veterinarios, tienen que demostrar esta prueba, en cada una de las especies en las que se recomienda, lo que si se compara el costo-utilidad no siempre se recupera la inversión, de forma inmediata o a largo plazo, a esta situación se le debe sumar que, en un mercado donde la vigencia de registro de los medicamentos veterinarios , ante las autoridades, es de solo 5 años y debe ser validada para todas las especies en las que se tiene que demostrar la prueba de bioequivalencia (Imran Ahmed, 2002).

En el mercado veterinario la capacidad de predicción entre las especies y la demostración de la bioequivalencia, resulta de gran importancia para establecer bases de datos, como las que tiene la FDA; la cual es concentrada y analizada por el Centro de Medicina Veterinaria (CMV). Este centro evalúa y determina si los cambios afectan la seguridad de los productos farmacéuticos, y por esto se establecieron una serie de criterios, en los que si existen este tipo de cambios, es necesario, realizar nuevos estudios de bioequivalencia, entre los cuales se encuentran los siguientes (Imran Ahmed, 2002).

- ✓ Un cambio en la concentración del activo o recomendar el producto para más de una especie animal.
- ✓ Un cambio en la calidad, pureza, identidad y potencia.
- ✓ El método de síntesis o fermentación.
- ✓ Cambios en el proceso de manufactura, requiere ser probado en 2 o más especies.

F. Características de los fármacos

El sistema de clasificación biofarmacéutica sirve para identificar los fármacos adecuados para el desarrollo del proyecto de antiulcerosos y anti flatulentos. En este sentido, se han explorado las características físico-químicas de los componentes y como podrían afectar sus propiedades y su desempeño terapéutico y si se modifica la absorción. Así, el metabolismo de la Ranitidina en el colon tiene implicaciones importantes en el desarrollo de la liberación prolongada y en los sistemas específicos de administración de fármacos, Ver Fig. 8 y 9. Para los medicamentos que pueden ser sustratos para el metabolismo bacteriano, toda posible liberación más allá del intestino delgado tiene pocas esperanzas, de lograr niveles terapéuticos del API en la sangre o localmente dentro del colon.

Por otra parte, fármacos que se absorben de forma incompleta durante el paso a través del estómago y el intestino delgado, ya sea debido a su pobre solubilidad o permeabilidad, también son candidatos potenciales para la degradación ya que el colon contiene especies bacterianas que pueden contribuir a su degradación (McGoverin C, 2006).

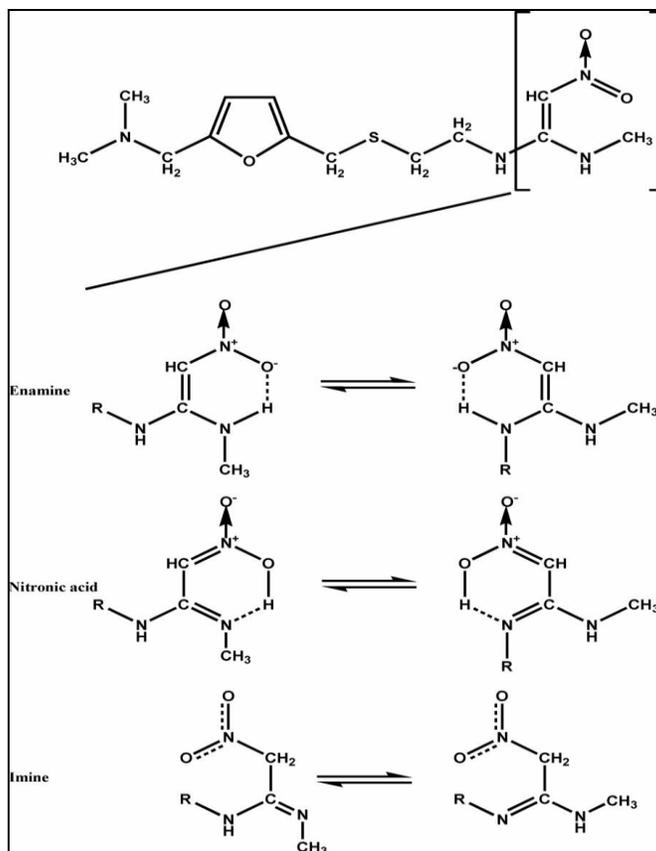


Fig. 7 Estructura de Ranitidina y sus posibles tautómeros de la fracción de nitrodiethylamina seleccionadas (McGoverin C, 2006).

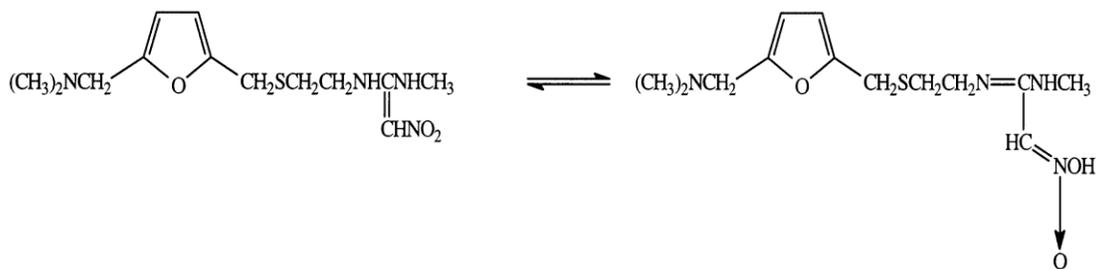


Fig. 8 Esquema de las estructuras posibles de Ranitidina.

La Ranitidina es más efectiva que el omeprazol en el tratamiento de la úlcera gástrica entre individuos que desarrollan esta condición dos semanas después de tomar medicamentos antiinflamatorios no esteroideos (AINE's) (Kitagami K, 1990).

1.1 Forma Farmacéutica

Las formas flotantes de dosificación están diseñadas para ser retenidas en el estómago durante largos períodos de tiempo, y se han desarrollado como un sistema de administración de fármacos. Las formas de dosificación flotantes tienen la ventaja de permitir la administración local del medicamento en el estómago, por ejemplo en el tratamiento de *Helicobacter pylori* (*H. pylori*), y la reducción de la variabilidad en la biodisponibilidad que se produce se debe a los actualmente sistemas de liberación inmediata disponible (Frances Stops, 2008).

Actualmente, la administración de sistemas de liberación controlada de fármacos, han repuntado, en gran parte para superar los problemas experimentados con las formas de dosificación convencionales. Básicamente, los sistemas de liberación controlada de fármacos consisten en un depósito de fármaco, desde la cual se libera el fármaco lentamente durante su tránsito en el tracto gastrointestinal, a una determinada velocidad para mantener constante la absorción del fármaco (Frances Stops, 2008).

El desarrollo de formas farmacéuticas de liberación controlada de fármacos representa un problema para fármacos cuya absorción depende de cambios de diversos factores tales como la disolución, solubilidad, pH, enzimas y flora microbiana.

Los fármacos que utilizan un sistema flotante, tienen múltiples enfoques y usos, es que el principalmente sirve para aumentar el tiempo de permanencia gástrica y aumentar la presencia del fármaco en el estómago (Lee y colab, 1999; Singh y Kim, 2000). Sin embargo, los dispositivos de administración de fármacos por vía oral tienen una limitante fisiológica en el tiempo de gastro retención gástrica (TGR) (Soppimath et al., 2001), la variabilidad del tiempo de vaciamiento gástrico y la poca cantidad del fármaco disponible puede resultar debido a la liberación incompleta del fármaco desde el sistema de administración, o en la zona de absorción (estómago o parte superior del intestino delgado), lo conduce a una menor eficacia de la dosis administrada (Iannuccelli , 1998). Para superar estas limitaciones, el enfoque de este proyecto propone prolongar el TGR generando sistemas flotantes de dosificación de fármacos (SFDF por sus siglas en español).

Sin embargo, en muchos sistemas flotantes ya desarrollados se ha observado que como sistemas hidrodinámicos equilibrados, son poco fiables debido al TGR prolongando, ya que a veces existe un vaciamiento total o nulo y, por lo tanto, puede resultar en una alta

variabilidad en la biodisponibilidad y una irritación local debido a la gran cantidad de fármaco suministrado en un determinado el sitio de TGI (Whitehead et al., 1998).

Los diferentes sistemas flotantes que se han desarrollado en diferentes formas y se basan en varios principios, como el sistema de múltiples compartimientos de aire (Iannuccelli y colab., 1998), las micropartículas basadas en soportes porosos (Sharma y Pawar, 2006; Streubel y colab., 2003), por medio de microesferas huecas (Sato et al.;2004), o por perlas de gel (Sriamornsaka et al., 2005; Tang et al., 2007).

Los alginatos se componen de copolímeros lineales biodegradables no tóxicos derivados del L-glucurónico y residuos de ácido D-manurónico. Y son ampliamente utilizados en la industria alimentaria y farmacéutica. El alginato de calcio (Alg-Ca) es formado rápidamente por la gelificación del ácido algínico, con la presencia de iones de calcio. Las esferas de alginato se habían desarrollado como formas flotantes de dosificación prolongada en TGR, en 1980 (Stochwell y Davis, 1986).

En los últimos años, con frecuencia se han empleado perlas de gel de alginato como un vehículo único para SFDF (Iannuccelli y colab; 1998; Whitehead, 2000; Choi, 2002; Murata, 2000). Sin embargo, la eficiencia de encapsulación para el fármaco hidrofílico en perlas del gel es baja, y la liberación de muchos fármacos hidrófilos no se puede sostener por más de 4 h, incluso después de la modificación adicional de las perlas de gel.

Las formas farmacéuticas efervescentes están diseñadas para ser disueltas o dispersadas en agua antes de administración. La tableta se disuelve rápidamente por la liberación interna de CO₂ en el agua; la reacción del CO₂, es debido a una interacción de un ácido (tartárico y cítrico) con carbonatos de metales alcalinos o bicarbonatos en presencia del agua. Las formas efervescentes, por lo general, consisten en ácidos y bicarbonatos o carbonatos.. Además, los medicamentos prescritos comúnmente en dosis altas se pueden usar en forma de efervescentes porque de otra forma existiría una variabilidad muy grande en la absorción (Abolfazl Aslani, 2013).

Siendo previamente disuelto en una solución tampón, los productos efervescentes no reciben en contacto directo con el tracto gastrointestinal. De este modo, se pueden tolerar en el estómago y el intestino, y reducir la irritación GI. De hecho, el CO₂ producido en una reacción de efervescencia aumenta la penetración de sustancias activas en la vía para celular y en consecuencia su absorción (Abolfazl Aslani, 2013).

1.2 CO₂ contenido

Se colocaron 3 muestras en 100 ml de ácido clorhídrico 1N, y se colocaron en 3 vasos de precipitados separados. Con el fin de determinar la cantidad de CO₂ liberado (mg), y se obtuvo la diferencia de peso antes y después de la disolución (Abolfazl Aslani, 2013).

1.3 Evaluación de la solución pH

Se usó de un medidor de pH, el pH de la solución se midió disolviendo 3 dosis de la forma farmacéutica en 3 vasos de precipitados que contenían 200 ml de agua (Abolfazl Aslani, 2013).

G. Diseño experimental

Se utilizaron para el procedimiento de optimización. En este caso se propone un diseño 3^2 el cual se considera que es adecuado para la investigación y para la construcción de un modelo matemático que permita determinar la influencia de los diversos factores, y la optimización del proceso. El modelo matemático, determina y evalúa la capacidad de optimizar la formulación y se lleva a cabo con el empleo de Stat Graphics[®]. Bajo este esquema de diseño se trabaja con 2 factores a 3 niveles diferentes, por este motivo se seleccionaron la cantidad de polímero y la cantidad de bicarbonato de sodio como los factores para dirigir las respuestas a obtener con las combinaciones estadísticas para el desarrollo de la formulación (Aashima Hoodaa, 2012).

1.1 Cantidad de Polímero

Los sistemas de administración de fármacos flotantes en múltiple unidades muestran varias ventajas sobre los de una sola unidad, de entre cuales los siguientes destacan: evitar el vaciamiento total o nulo del estómago, la ausencia de distorsión de la actuación debido a la falta de unas pocas unidades, y una cinética de liberación de fármaco más predecible.

Actualmente, las compañías farmacéuticas veterinarias están explorando mecanismos para maximizar la eficacia y facilidad de administración de antibióticos buscando la aprobación de compuestos, y reducir al mínimo el riesgo de resistencia a los medicamentos.

Existen numerosas oportunidades para desarrollar en la industria veterinaria sistemas de liberación prolongada de fármacos que cumplen las necesidades insatisfechas en los dos

grandes grupos que existen: los animales de compañía y los animales de granja. Estos, junto con el objetivo de una administración menos frecuente, han estimulado el desarrollo de sistemas de liberación de fármacos de liberación modificada. Estas oportunidades han dado lugar a numerosas sistemas de liberación modificada de fármacos para su uso en los animales (Rathbone Michael J, 2002).

Los principios básicos que subyacen en el desarrollo y uso de sistemas de liberación modificada incluyen:

- Mejora de la eficacia clínica.
- La eficiencia relativa de la reducción de los regímenes de dosificación (es decir, mejora el cumplimiento del dueño o cuidador).
- Ahorros relativos en el manejo del paciente (por ejemplo, la lactancia o visitas ambulatorias para la administración de fármacos repetición) y el cuidado médico (por ejemplo, manejo de eventos adversos o efectos secundarios).

Existen razones similares para el uso de la administración de fármacos con sistemas modificados en las especies animales. La posible reducción en el manejo de animales (que resulta en la reducción del estrés de los animales y ahorro económico), son factores que impulsan el desarrollo de tales sistemas para animales de granja, mientras que la comodidad del consumidor y el cumplimiento de la terapia farmacológica, son las principales ventajas para los animales de compañía (Rathbone Michael J, 2002).

- Sistemas flotantes: son sistemas hidrodinámicos equilibrados, como micro esferas flotantes de liberación multiparticulada de fármacos que tienen la ventaja de la retención gástrica de hasta 12 h en los seres humanos. El fármaco es contenido dentro del núcleo interior micro esferas huecas que permiten la flotación, y se libera en el estómago a un ritmo lento.
- Sistema de hinchamiento: el dispositivo se hincha en una proporción tal que este es incapaz de salir del estómago a través del píloro. En consecuencia, la forma de dosificación es retenida en el estómago durante un largo período de tiempo.
- Sistemas bioadhesivos: el dispositivo está formulado para adherirse a un sitio diana dentro del tracto gastrointestinal donde se entrega y libera el fármaco.

- Los sistemas de formas geométricas: son formas no desintegrantes que se moldean a partir de elastómero o mezclas extruidas a base polietileno. Debido a las funciones fisiológicas normales, el dispositivo se retiene en el estómago debido a su tamaño, forma o flexibilidad.
- Formulaciones de alta densidad: el dispositivo se hunde literalmente dentro del estómago, retardando de este modo su salida durante expulsión gástrica normal.

Algunos de estos fármacos se caracterizan por una absorción lenta en la parte superior del tracto gastrointestinal. Un tránsito gastrointestinal rápido es impredecible y podría resultar en una absorción incompleta del fármaco desde el dispositivo por encima de la zona de absorción, lo que lleva a una eficacia disminuida de la dosis administrada. Para aumentar la retención gástrica, las diversas formas farmacéuticas aumentan el tiempo de retención gástrica de los medicamentos dosificados. Estos sistemas permanecen en la región gástrica durante varias horas y por lo tanto pueden prolongar significativamente el tiempo de residencia gástrica de los fármacos. La retención gástrica prolongada mejora la biodisponibilidad, porque mejora la solubilidad de los fármacos que son menos solubles en el pH alto del intestino delgado (Pallab Roy, 2009).

Los principales enfoques que han sido examinados, a este respecto, son excipientes de baja densidad o polímeros grasos e incluso sistemas flotantes que permanecen boyante, encima del líquido acuoso acidificado del estómago; o incluso en situaciones muy particulares la administración concomitante de fármacos o excipientes, que ralentizan la motilidad del tracto gastrointestinal; el uso de excipientes con propiedades bioadhesivas o mucoadhesivas como alternativas en las formas de dosificación (Pallab Roy, 2009).

En el campo de la liberación modificada, ha aumentado el interés en la administración oral de tiempo específico, que generalmente se refiere a la liberación pre-programada de fármacos, después de la administración, para lograr la mejora de la eficacia terapéutica. Estos sistemas constituyen una relativa, nueva clase de dispositivos, la importancia de lo cual, se debe, a los recientes avances en crono farmacología (Sangalli, 2001).

Sin embargo, el contenido viscoso de la parte inferior del tracto gastrointestinal es un obstáculo en la difusión del fármaco y también en la degradación enzimática de algunos

fármacos, esta hace, que sea un sitio desfavorable para la liberación del fármaco (Hoffman et al., 2004). Además, la naturaleza altamente variable del proceso de vaciado gástrico puede dar como resultado problemas in vivo de variabilidad y biodisponibilidad.

Por el contrario, las formas de dosificación de retención gástrica residen en el estómago y no se ven afectados por la variabilidad del pH, medio ambiente local o la velocidad gástrica de vaciado. Estas formas de dosificación también son específicamente ventajosas para los medicamentos cuando son, ya sea absorbido en el estómago o que requieren que la entrega local sea en el estómago.

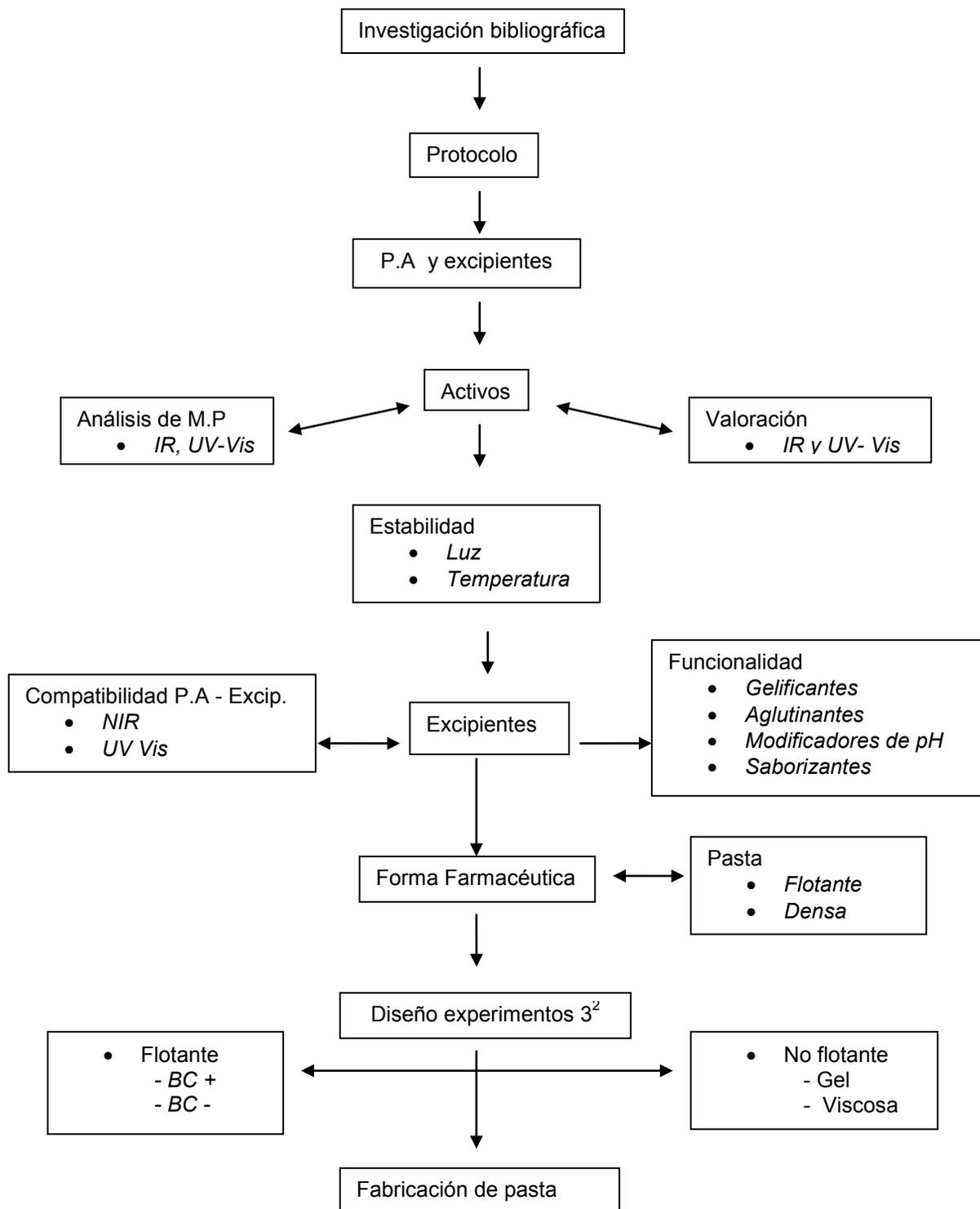
De los numerosos enfoques para prolongar la retención gástrica, los sistemas flotantes de administración de fármacos son los más ampliamente utilizados y ofrece un enfoque práctico y sencillo del aumento de residencia gástrica a través de la flotabilidad inherente (Singh y Kim, 2000).

1.2 Cantidad de Bicarbonato

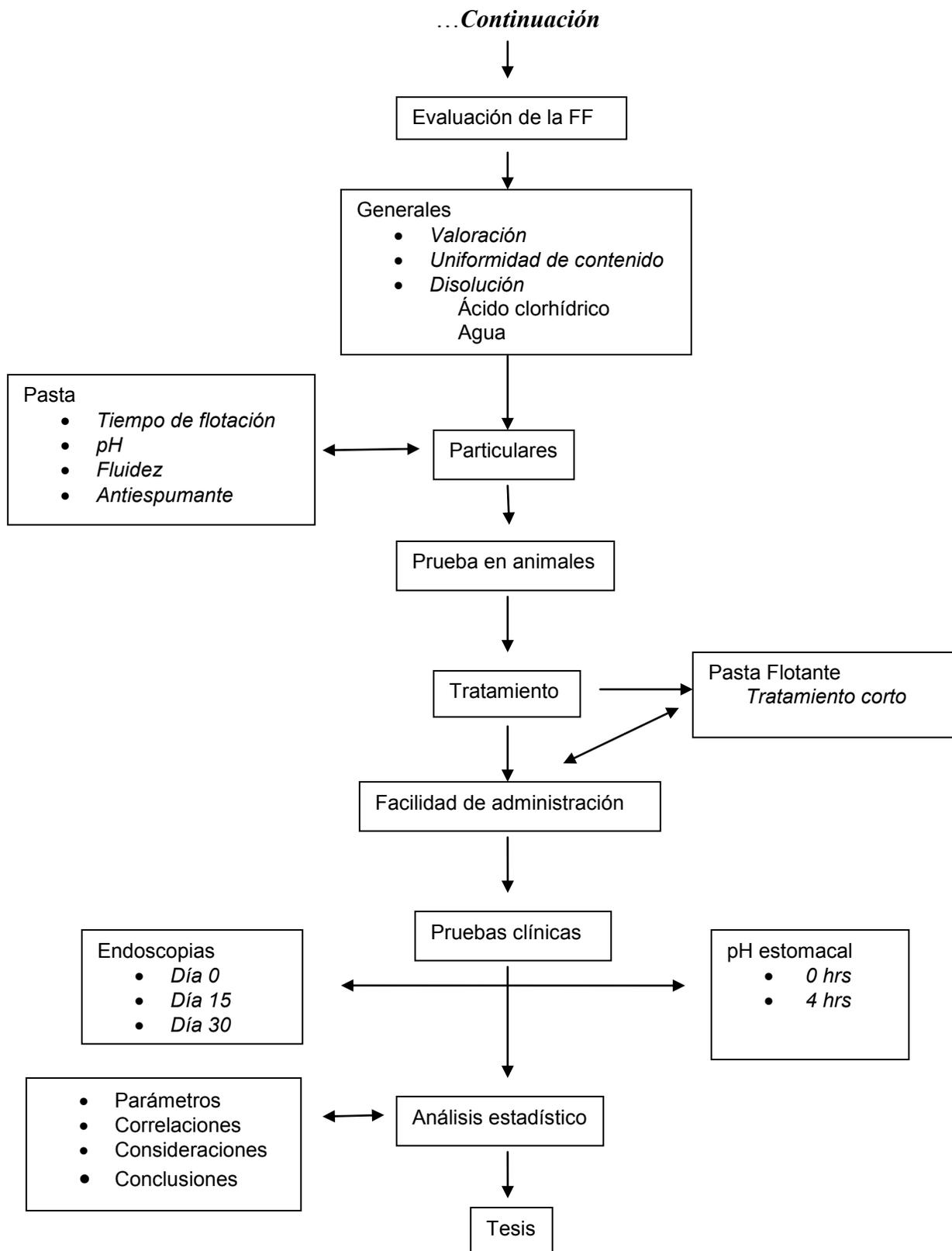
El bicarbonato de sodio se utiliza generalmente en formulaciones farmacéuticas como una fuente de dióxido de carbono en comprimidos efervescentes y gránulos. También es ampliamente utilizado para producir o mantener el pH alcalino en una preparación. En comprimidos efervescentes y gránulos, el bicarbonato de sodio, generalmente es formulado con cítrico y / o ácido tartárico.

V. DESARROLLO EXPERIMENTAL.

A. Cuadro metodológico



Continúa...



B. Materiales y métodos

1.1 Material de laboratorio

- Pasta de Ranitidina y Simeticona
- Pipetas volumétricas de 1, 2, 4, 6, 8 y 10 ml
- Probeta 10, 100, 250 y 1000 ml
- Vasos de precipitados de 100, 250, 500 y 1000 ml.
- Puntas para micropipetas 1000 μ L, 1-5 ml. FinnpiPETTE®
- Matraz aforado de 25, 50, 100 y 200 ml.
- 100 Tubos de ensayo de polipropileno con tapa.
- Papel Hartmann
- 50 Recipientes de polietileno con tapa.
- Barras magnéticas
- Recipientes de acero Inoxidable de 500 y 1000 ml
- Canastillas malla #30 y filtros de cánula
- Pistola Silicón y silicón comercial.
- 5 Jeringas de 20 y 50 ml
- Etiquetas de colores
- 2.5 m de manguera de PTFE (calibre ½ pulgada)
- Arnés para inmovilizar el tronco superior de los caballos
- Lubricante en gel (neutro)
- 10 recipientes con tapa (pH)
- Contenedor de plástico
- Guantes y cubre bocas
- Tubos Vacutainer de 10 ml
- 100 viales de vidrio para muestras del NIR

1.2 Equipo e instrumentos

- Balanza analítica Mettler Toledo Mod. AB- 204S
- Cronometro Citizen Mod: AZ1200
- Micropipetas 1000 µL, 1-5 ml. Finnpiptete
- Disolutor Varian Vankel K7000
- pH metro Mettler Toledo mod: A165
- Agitador magnético Mettler Toledo
- Infra Rojo Cercano (NIR) FOSS Mod: NIR - 6500
- Bomba de llenado de jeringas (metálica)
- Espectrofotómetro Varian UV – Vis Mod: Cary 100 Conc
- Balanza granataria Mod: OHAUS
- Balanza digital 5000 g Mod: VE – 5000
- Estufa de calor seco (60° C)
- Vernier digital
- Endoscopio con cámara y luz

C. Reactivos y sustancias

1.1 Ranitidina

La Ranitidina es un antagonista receptor de H₂, comúnmente utilizado en el tratamiento de la úlcera gástrica y duodenal. La Ranitidina puede ser encontrada como un medicamento de libre venta en el mercado mexicano; en forma de tabletas, jarabes y solución inyectable. Si se compara las formulaciones líquidas con las tabletas es preferible usar las tabletas por la facilidad de administración pero sobre todo por la eliminación del sabor amargo que mejorar su aceptación sobretodo en pacientes pediátricos, mediante recubrimientos. Además los líquidos orales requieren parabenos como agentes antimicrobianos; sin embargo estos presentan una mejora inmejorable y es que presentan una mejor y mayor absorción de la sustancia activa que las tabletas (Martindale, 2004).

1.2 Simeticona

La acción antiespumante de la Simeticona es resultado de una mezcla compleja de una molécula de alto peso molecular llamada oligómero de polidimetilsiloxano (PDMS) en un 92% con dióxido de silicio añadido para mejorar las propiedades del aceite de silicón. El PDMS es caracterizado en términos de viscosidad, de alrededor de 60 000 centipoise, debido a que presenta un peso molecular de 27 000 daltons. La Simeticona es un ingrediente muy común en la industria farmacéutica, en particular es utilizado para liberar el gas gastrointestinal, aliviar el malestar intestinal y el reflujo. La simeticona se puede usar directamente sobre formulaciones sólidas como Simeticona USP, aunque también se encuentra disponible en una emulsión al 30% para ser incluida en suspensiones líquidas (USP, 1995; Douglas, 2002).

1.3 Carbóméro

Los carbómeros se usan en la industria farmacéutica líquida o semisólida como modificadores de la reología. Las formulaciones incluyen cremas, geles, lociones y ungüentos para uso en la administración oftálmica, rectal, preparaciones tópicas y vaginales. Los Carbómeros se caracterizan por tener bajos niveles de residuos de acetato de etilo, tales como Carbopol 971P NF o Carbopol 974P NF, se puede usar en preparaciones orales, suspensiones en cápsulas, o tabletas. En las formulaciones de comprimidos, los carbómeros se usan como agentes de liberación controlada y / o como aglutinantes. En

contraste con polímeros lineales, una mayor viscosidad no da lugar a la liberación del fármaco más lenta con carbómeros. Los carbómeros ligeramente reticulados (presentan una menor viscosidad) son generalmente más eficientes en el control de liberación del fármaco que altamente los carbómeros reticulados, ya que presentan una mayor viscosidad (Rowe R, 2009).

1.4 Hidroxipropilmetilcelulosa K100M y K4M

La hipromelosa es utilizada en formas orales, oftálmicas, nasales, tópicas y en formulaciones farmacéuticas. En los productos orales, la hipromelosa se utiliza principalmente como un aglutinante, en película de recubrimiento, y como una matriz para el uso en la liberación modificada. En concentraciones entre 2% y 5% w / w puede ser utilizado como un aglutinante en ya sea en procesos húmedos o secos de granulación. Los grados de alta viscosidad se pueden usar para retardar la liberación de fármacos de una matriz a niveles de 10-80% w/w en tabletas y cápsulas. La hipromelosa también se utiliza en formas de dosificación orales líquidas como un agente de suspensión y / o engrosamiento agente en concentraciones que van desde 0.25-5.0%. Dependiendo del grado de viscosidad, las concentraciones de 2-20% w/w se utilizan para soluciones de formación de película para tabletas. Ejemplos de materiales de recubrimiento de película que están disponibles comercialmente incluyen, Pharmacoat[®] y el Methocel E Premium[®]. Hipromelosa también se utiliza como un agente de suspensión y espesante en formulaciones tópicas. En comparación con la metilcelulosa, la hipromelosa produce soluciones acuosas de una mayor claridad, con menos fibras no disueltas presentes, y por lo tanto se prefiere en formulaciones para uso oftálmico. Hipromelosa a concentraciones entre 0.45 a 1.0% w / w puede añadirse como un agente espesante para vehículos de colirios y soluciones de lágrimas artificiales (Rowe R, 2009).

1.5 Alginato de sodio.

El alginato de sodio se utiliza en una variedad de formulaciones farmacéuticas orales y tópicas. En las formulaciones de comprimidos, el alginato sodio puede ser utilizado como un aglutinante y disgregante; ha sido utilizado como diluyente en formulaciones de cápsulas. También se ha utilizado en la preparación de formulaciones de liberación sostenida por vía oral formulaciones ya que puede retrasar la disolución de un fármaco,

cuya forma farmacéutica sean comprimidos, cápsulas y suspensiones acuosas. Los efectos de tamaño de partícula, la viscosidad y la composición química de alginato de sodio sobre los principios activos se han descrito en matrices de liberación. En formulaciones tópicas, el alginato de sodio se usa ampliamente como un agente de engrosamiento y agente de suspensión en una variedad de pastas, cremas, geles, y estabilizante para emulsiones de aceite en agua. Recientemente, el alginato de sodio se ha utilizado para microencapsulación acuosa de fármacos. La adhesividad de los hidrogeles preparados a partir de alginato de sodio ha sido investigado y la liberación del fármaco a partir de la mucosa buco-adhesivas. La bioadhesión en esófago, se puede lograr, mediante suspensiones de alginato de sodio y puede proporcionar una barrera contra el reflujo gástrico o la entrega específica en el sitio de acción. Los sistemas de hidrogel que contienen alginatos también se han investigado para la entrega de proteínas y péptidos. Terapéuticamente, alginato de sodio se ha utilizado en combinación con un antagonista del receptor H_2 en la gestión de reflujo (Rowe R, 2009).

1.6 Bicarbonato de sodio

Los comprimidos o gránulos que entran en contacto con el agua, ocurre una reacción del producto químico, y genera dióxido de carbono. Los comprimidos también pueden prepararse con bicarbonato de sodio solo ya que la acidez del fluido gástrico es suficiente para provocar efervescencia y desintegración. El bicarbonato de sodio también se usa en formulaciones de comprimidos para amortiguar las moléculas de fármaco que son ácidos débiles, con lo aumentan de la velocidad de disolución de la tableta y la reducción gástrica de la irritación. Los efectos de aglutinantes de tabletas, tales como polietilenglicoles, celulosa microcristalina, almidón pregelatinizado, y povidona, en las propiedades físicas y mecánicas de las tabletas de bicarbonato de sodio también se han investigado. Recientemente, el bicarbonato de sodio se ha utilizado como un gas de formación de agente en los sistemas de balsas de alginato flotante. Terapéuticamente, puede ser usado como un antiácido, y como fuente del anión bicarbonato en el tratamiento de acidosis metabólica (Rowe R, 2009).

1.7 Propilenglicol

Es ampliamente utilizado como un disolvente, agente de extracción, como conservador en formulaciones farmacéuticas. El propilenglicol es un mejor disolvente, que glicerina y disuelve una amplia variedad de materiales, tales como corticosteroides, fenoles, barbitúricos, vitaminas (A y D), la mayoría de alcaloides, y muchos anestésicos locales. Como un antiséptico es similar a etanol. Se usa comúnmente como un plastificante en películas acuosas. Se usa también en la cosmética y en la comida industria como un portador para emulsionantes y como un vehículo para saborizantes (Rowe R, 2009).

D. Condiciones generales de análisis

1.1 Identificación de los principios activos

Para la identificación de los principios activos de la pasta flotante, se buscó que las técnicas fueran sensibles a los cambios en la composición pero sobretodo muy fáciles de realizar.

Para el caso de la Ranitidina la cual es una molécula con más de 35 años en el mercado farmacéutico humano-veterinario, lo más sencillo por sus características moleculares es disolverla en solución acuosa y realizar un barrido en el espectrofotómetro UV buscando los valles de los picos máximos de absorción y comparar con la literatura para verificar.

Para el caso de la Simeticona el método de análisis instrumental seleccionado fue por infrarrojo cercano (NIR), debido a que en solución acuosa, en la literatura no se encuentra reportado alguna respuesta en la región del UV, mientras que por sus características moleculares y físicas la simeticona en polvo, el NIR puede analizarlo para poder comparar este espectro IR con lo reportado en la literatura.

1.2 Identificación de los excipientes de la formulación

La identificación de los excipientes, es necesaria, para establecer una prueba para poder evaluarlos y determinar si cumplen con los requisitos mínimos de calidad, basados en comparar con la literatura. Ya que determinar sus características permitirá posteriormente evaluar las compatibilidades con los activos.

1.3 Estabilidad de los principios activos

La estabilidad de los principios activos se realiza para establecer los cuidados mínimos que se necesitan controlar durante el proceso de pesado, fabricación y análisis de estos para la realización de la pasta flotante de Ranitidina y Simeticona.

Las guías internacionales de validación indican que para evaluar la estabilidad de los fármacos, es necesario, estresar las moléculas de interés usando sustancias establecidas y pruebas de estrés ambiental; para observar cuanto puede soportar las moléculas de interés estos cambios deliberados de condiciones que posiblemente se puedan presentar en el ambiente o en los procesos de fabricación (Saranjit Singh, 2013).

En general, en la tabla 9 se muestran, las condiciones más comunes a las que se someten las moléculas de interés con las que se modifica extremadamente el pH de la solución (ácido y básico), que oxidan y reducen los grupos funcionales de los fármacos de interés (Oxidantes y reductores) y las que consideran los cambios climáticos tanto de luz, humedad y temperatura, como factores que pueden modificar significativamente la estabilidad, por esta razón se establecen pruebas básicas para la determinación de la influencia de estos factores (Saranjit Singh, 2013).

Por lo anterior se procedió a someter a la Ranitidina y la Simeticona a las pruebas anteriormente descritas. Aunque para el caso de la Simeticona, no son tan importantes, ya que la literatura solo reporta que la incompatibilidad que se presenta en esta molécula es debida principalmente a la presencia de agentes oxidantes fuertes, además de que esta molécula no se absorbe en el tracto gastrointestinal ya que su función principal es la eliminación de la espuma resultado de la fermentación en el estómago del equino.

Mientras que para la Ranitidina se establecieron los siguientes criterios para determinar que condición que influía más en la estabilidad.

Tabla 8. Condiciones de estrés fisicoquímico para la evaluación de la estabilidad de una solución de Ranitidina.

Condición	Control	Temperatura ambiente	Temperatura 60° C
<i>Vial transparente</i>	Sol. Acuosa	Sol. Acuosa	Sol. Acuosa

Tabla 9. Condiciones de estrés fisicoquímico para la evaluación de la estabilidad de una solución de Ranitidina (Saranjit Singh, 2013).

Condición	Control	Modificación pH		Oxidante
<i>Vial Ámbar Temperatura ambiente</i>	Sol. Acuosa	Ácido pH 1.2	Básico pH 12	H ₂ O ₂ al 30%
<i>Vial Ámbar Temperatura 60 C</i>	Sol. Acuosa	Ácido pH 1.2	Básico pH 12	H ₂ O ₂ al 30%

1.4 Compatibilidad del fármaco vs. Excipientes

La identificación de los excipientes, es fundamental para poder determinar la compatibilidad de estos con los principios activos, principalmente con la ranitidina; para lo cual se realizaron una serie de combinaciones y mezclas físicas 1 : 1 entre los activos y los excipientes para observar si existen cambios en las propiedades, utilizando el NIR y las 2das derivadas para determinar si existían cambios, esto es mucho más fácil y barato que utilizar DSC, ya que lo más importante de cualquier desarrollo farmacéutico es que sea rápido, accesible y barato.

Los excipientes utilizados para el desarrollo de la formulación de Ranitidina y Simeticona, tienen su fundamento en artículos científicos internacionales, sobre todo Europeos los cuales hacen referencia a una diversa variedad de estos, y aunque su uso no es en pasta, han demostrado en sus respectivas legislaciones cumplir con la estabilidad.

1.5 Diseño de experimentos

Se utilizó un diseño factorial completo 3^2 en el que las variables independientes / formulación, determinan el tipo de polímero (Carbómero, HPMC K100M, K4M y Alginato de sodio) la cantidad de bicarbonato de sodio (nulo, medio y alto(-1, 0, -1)), mientras que las variables dependientes / respuesta, que se midió el pH dentro de la formulación (cerca a pH 7), tiempo de flotación (h.), la capacidad antiespumante, la liberación del fármaco hasta alcanzar mínimo el 80%, y la facilidad de la administración. Se utilizó un modelo cuadrático para evaluar cuantitativamente los efectos principales y la interacción (Aashima Hoodaa, 2012).

En el presente estudio, un diseño factorial completo contiene 3^2 dos factores se evaluó en tres niveles (véase Tabla 10), y las pruebas experimentales se realizaron en todas las posibles combinaciones. Las dos variables de formulación independientes evaluados fueron:

X1: Tipo de polímero (Carbómero, HPMC K100M, K4M y Alginato de sodio)

X2: Cantidad de bicarbonato de sodio (nulo, medio y alto (-1, 0, -1))

Las variables de respuesta evaluadas fueron:

Y1: El pH dentro de la formulación (cerca a pH 7)

Y2: El tiempo de flotación (h.)

Y3: La capacidad antiespumante

Y4: Liberación del fármaco hasta alcanzar mínimo el 80%

Y5: Facilidad de la administración.

Las formulaciones se prepararon de acuerdo con el diseño. Las cantidades requeridas de clorhidrato de Ranitidina, Simeticona en polvo, el bicarbonato de sodio y el polímero correspondiente (Carbomero, HPMC K100M, HPMC K4M, alginato de Sodio) se mezclaron directamente en un recipiente de acero inoxidable para pre mezclar, y solo para el alginato de sodio se adicionó el carbonato de calcio, por otra parte el humectante (agua o propilenglicol) y el conservador (Optiphen) se mezclaron al final para asegura una mejor distribución en la pasta (Gharti KP, 2014).

Tabla 10. Selección de niveles de los factores para el diseño de la experimentación, utilizado en la formulación de pastas flotantes (Aashima Hoodaa, 2012).

Modelo Factor	Valores en porcentajes			Código		
	Bajo	Medio	Alto	Bajo	Medio	Alto
Factor A Polímero (C, K100M, K4M, AS)	C = 0.5%	C = 1.0%	C = 2.0%	-1	0	1
	K100M=1.25%	K100M=2.50%	K100M=5.00%	-1	0	1
	K4M = 1.25%	K4M = 2.50%	K4M = 5.00%	-1	0	1
	AS = 1.25%	AS = 2.50%	AS = 5.00%	-1	0	1
Factor B Bicarbonato de sodio	0.25%	1.0 %	2.0%	-1	0	1

Una vez que se establecieron los factores a modificar dentro de las formulaciones también se establecieron los códigos de nombre para los lotes, basados en un número consecutivo diferente y la identificación con la letra F para indicar la diferencia entre la pasta flotante y la pasta densa, ya en el marco teórico se hace mención a una posible reacción no deseada por el efecto del pH medio continuo de la formulación y el bicarbonato en medio acuoso, el cual puede reaccionar con moléculas ácidas de los excipientes.

1.6 Evaluación de la flotabilidad In vitro HCl 0.1 M

La evaluación del tiempo de flotación se realiza en un vaso de precipitados de 500 ml con fluido gástrico simulado a 37° C. Posteriormente se toma el tiempo en el que la pasta se mueve hacia la parte superior del vaso de precipitados, tomando el tiempo en minutos.

Este tiempo es también examinado simultáneamente cuando se realizan las pruebas de disolución in vitro. Aunque para el caso de la pasta es realizado en los vasos del disolutor pero utilizando paletas en lugar de canastillas para determinar cuánto tiempo bajo impulso mecánico se mantiene a flote, buscando si las condiciones de agitación afectan la flotación de la pasta (Gharti KP, 2014).

1.7 Evaluación del poder antiespumante

Para la determinación de las propiedades antiespumantes de la Simeticona se sigue un proceso bastante sencillo, en donde se evaluará *in vitro* la capacidad de la simeticona para eliminar la espuma formada por un agente detergente en ácido clorhídrico, tratando de

imitar las condiciones estomacales con agitación magnética a fin de eliminar la acumulación de gas (metano, sulfuro, etc.) en el interior del estómago del equino a fin de prevenir la inflamación y el cólico en los equinos.

Esta prueba se realiza en un vaso de precipitados de 500 ml con ácido clorhídrico, adicionando una cantidad promedio de pasta para que comience a liberar, posteriormente se genera espuma mediante agitación mecánica y se toma el tiempo en que tarda la simeticona en disolver la espuma en la parte superior del vaso de precipitados.

1.8 Valoración de los principios activos

La valoración se realizará a las formulaciones que aun cumplan con los atributos de calidad, establecidos por el investigador; para este punto se evaluará la valoración de la Ranitidina por espectrofotometría UV – Vis, esta prueba no se realizara a las muestras de estabilidad sino a los lotes piloto equivalentes a mínimo 100 muestras de la Pasta flotante de Ranitidina y Simeticona, los cuales son resultados de seleccionar las mejores formulaciones para que sean administradas a los equinos y presentan una mejor estabilidad, compatibilidad y viabilidad de fabricación y de administración por lo que se apta para ser aplicada por los médicos veterinarios encargados de los equinos.

1.9 Uniformidad de contenido en la forma farmacéutica

La uniformidad de contenido se realiza a cada formulación para asegurar que el mezclado de la pasta es uniforme y no se está presentando separación por diferencia de tamaños de partícula y así se asegura que se cumplan con los atributos de calidad, establecidos por el investigador; este punto se evaluara por espectrofotometría UV – Vis, esta prueba da validez a los lotes piloto de la Pasta flotante de Ranitidina y Simeticona confirmando que cualquier muestra que se le administre a un determinado equino presenta la cantidad que se indica en el marbete.

1.10 Perfiles de disolución de la pasta

Los perfiles de disolución se realizarán para garantizar que la cantidad que se libera del fármaco en las formulaciones seleccionadas, es mínimo del 85% de la cantidad total de principio activo contenido, en la pasta a las 4 h después de comenzar la disolución y bajo las condiciones que *in vitro* simulen y presenten un mayor poder de predicción, del

comportamiento de la pasta en condiciones *in vivo*, para que se puedan establecer relaciones *in vitro* – *in vivo* y poder determinar si existe una correlación, además de dar la pauta para mejora en la formulación y esta quede optimizada para su fabricación en un laboratorio farmacéutico veterinario (Gharti KP, 2014).

Los perfiles se llevan a cabo, de acuerdo a lo que indica la FEUM 11ed. 2014 para pruebas de disolución tomando en consideración los sistema de liberación (S) y los criterios que se mencionan en el MGA, por esta razón se realizaron 12 muestras, a fin de tener suficientes datos para establecer una estadística descriptiva y comparativa entre los que pasaron todas las pruebas de calidad (Gharti KP, 2014).

1.10.1 En HCl 0.1 M

Para la realización de estudios de disolución *in vitro* se utilizaron los aparatos USP. El medio de disolución que regularmente se utiliza es fluido gástrico simulado (sin enzimas) manteniendo la temperatura a 37° C y una velocidad de rotación de 100 rpm, tomando alícuotas a intervalos regulares de tiempo y filtrando las muestras para leer en el espectrofotómetro a 223 nm para conocer la cantidad de fármaco acumulado (Gharti KP, 2014).

1.10.2 En agua desionizada

Para la realización de estudios de disolución *in vitro* se utilizaron los aparatos USP. El medio de disolución que regularmente se utiliza es agua desionizada, manteniendo la temperatura a 37° C y una velocidad de rotación de 100 rpm, tomando alícuotas a intervalos regulares de tiempo, filtrando las muestras para leer en el espectrofotómetro a 313 nm para conocer la cantidad de fármaco acumulado (Gharti KP, 2014).

1.11 Evaluación de la efectividad terapéutica de la pasta flotante

1.11.1 Endoscopias del estómago

Para realizar el procedimiento de intubación utilizando endoscopio se aplicó anestesia local en los caballos para minimizar lo incomodo de la intubación. Se realiza de preferencia en ayuno, los caballos deben ser llevados al estabulador y se administró para su inducción 1 ml del sedante, 10 minutos después, introducir el tubo nasogástrico previa lubricación con gel o aceite mineral, para facilitar la introducción y el tránsito en el esófago. Y se utiliza una sonda de 3 m flexible para introducir el endoscopio, el cual también es lubricado y

enjuagado con agua para ser introducido en el esófago. El tubo NG es empujado lentamente a la parte inicial del estómago deslizándolo y verificando al mismo tiempo si existen úlceras en el esófago en esta zona debido al reflujo. Para posicionar en una mejor zona del estómago, lo que se recomienda, es llenar con aire (inflar el estómago) e ir al fondo del estómago y de allí comenzar a observar lentamente el líquido y las regiones expuestas, y comenzar a rotar a ambos lados, tratando de ubicar la región no glandular o estratificada para poder tomar una fotografía y seleccionar una úlcera para ver si presenta mejoría.

1.12 Respuesta

1.12.1 Fórmula para calcular la valoración y la uniformidad de Clorhidrato de Ranitidina:

$$\frac{0.9994(X_{mta}) - 0.0025}{0.9994(X_{std}) - 0.0025} \times \frac{1 \text{ g}}{1000 \text{ mg}} \times \frac{50 \text{ mL}}{4 \text{ mL}} \times \frac{100 \text{ mL}}{30 \text{ mg}} \times \frac{600 \text{ mg}}{100 \text{ mL}} \times \frac{1 \text{ mL}}{100 \text{ mL}} \times \frac{4 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 100\% = \% Val$$

X_{mta} es igual a la absorbancia obtenida de la solución muestra de Ranitidina

X_{std} es igual a la absorbancia obtenida de la solución estándar de Ranitidina

$\% val$ es el porcentaje real calculado que presenta la muestra analizada

$$\% Val \times \frac{600 \text{ mg RAN}}{1.1 \text{ g mta Pasta}} \times 6 \text{ g Pasta } x \text{ caballo} = \text{Cantidad en mg RAN}$$

$\% val$ es el porcentaje real calculado que presenta la muestra analizada

Cantidad en mg de RAN es la cantidad total real que contiene la muestra analizada de la pasta flotante de Ranitidina y Simeticona.

VI. RESULTADOS

A. Identificación de la Ranitidina

Por lo anterior, la identificación de la Ranitidina se realizó mediante un barrido (Fig.10) de una solución STD con una concentración de 24 $\mu\text{g/ml}$, utilizando para el proyecto en un espectrofotómetro Cary 100 conc, a 313 nm como longitud de onda seleccionada, en medio acuoso a una con una absorbancia promedio de 1.2.

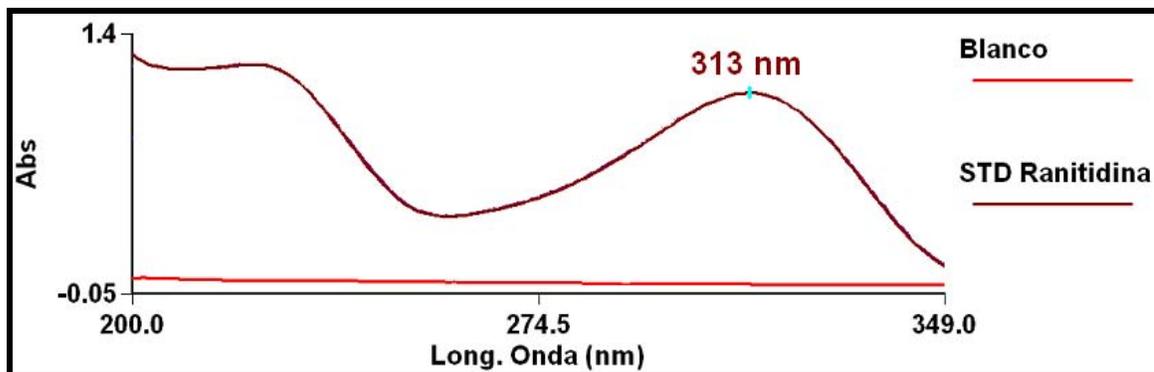


Fig. 9. Gráfico que muestra el espectro UV-Vis para la identificación de una solución de Ranitidina.

B. Identificación de la Simeticona

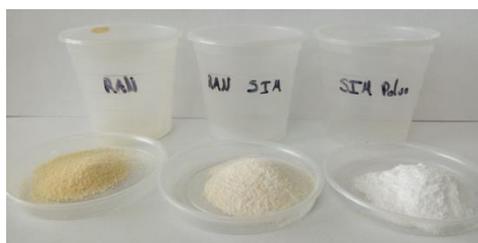


Fig. 10. Las 3 muestras utilizadas para la obtención del Gráfico por reflectancia, mediante NIR, para la identificación de la Simeticona.

La identificación de la Simeticona se realizó, mediante el análisis de las muestras sólidas de 100% Simeticona, 100% Ranitidina y la mezcla física 1:1 de los principios activos (Fig. 11), utilizando un NIR FOSS 6500 de reflectancia para este proyecto, encontrando como se muestra en la Fig.12 las huellas químicas de los activos (Sonali S. Bharate, 2010; Sarisuta N, 2006).

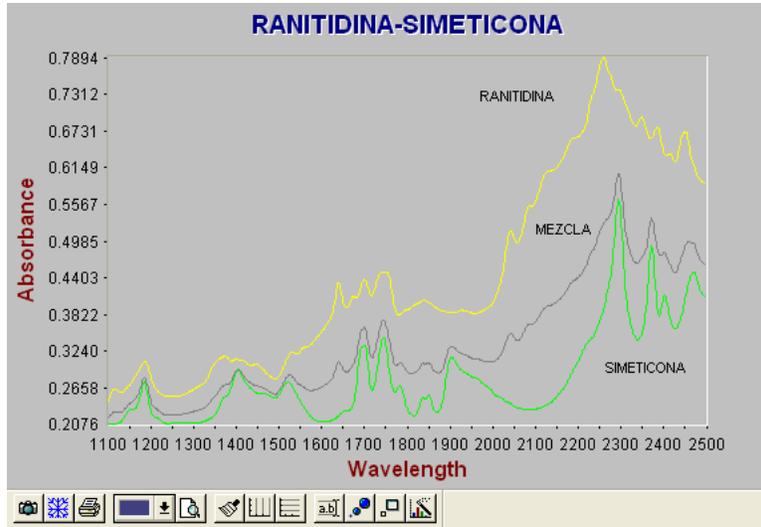


Fig. 11. Espectro del NIR característicos de ambas moléculas en la mezcla física (1:1) entre la Ranitidina y la Simeticona.

C. Identificación de los excipientes de la formulación

La identificación de los componentes de la formulación se realizó utilizando NIR por reflectancia ya que esta técnica permite obtener una huella digital química de las sustancias, la cual es básicamente única como se puede evidenciar en la Fig. 13, donde se evaluaron la mayor parte de los excipientes (Sarisuta N, 2006).

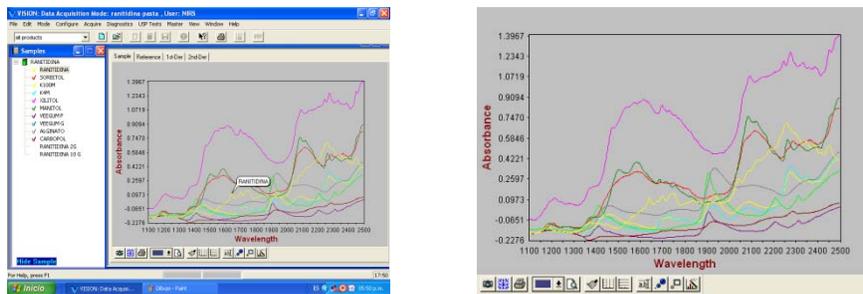


Fig. 12. Imagen de la forma en que el software Vision[®], interpreta y muestra los Gráficos de absorbancia obtenidos después de la lectura, y el espectrograma por NIR de algunos de los excipientes utilizados en el desarrollo de la formulación.

D. Estabilidad de los principios activos

La estabilidad de los activos, fue dentro de la preformulación, el punto clave para decidir que excipientes se seleccionarían para el desarrollo de las distintas formulaciones.

1.1 Estabilidad del clorhidrato de Ranitidina



Fig. 13. Estabilidad a la luz de una solución de concentración conocida de Ranitidina en frascos vial transparente, a tiempo 0, 30 días y 3 meses, respectivamente.



A) Temperatura ambiente

B) Estufa a 60°C

Fig. 14. Efecto de la temperatura (estufa a 60°C) y las condiciones de estrés fisicoquímico A y B (ácido, básico y oxidante), sobre la estabilidad de una solución acuosa de Ranitidina, en frascos ámbar (protección de la luz), por un periodo de 7 días.

E. Compatibilidad del fármaco vs. Excipientes

Para la determinación de la compatibilidad entre los activos y los excipientes se procedió a evaluar las distintas mezclas 1:1 de los excipientes seleccionados (Fig. 16) que no presentaban grupos funcionales oxidantes, metálicos y que no necesitaban temperatura para su incorporación a la fórmula. Ver los gráficos A, B, C, D, E y F (Sonali S. Bharate, 2010).

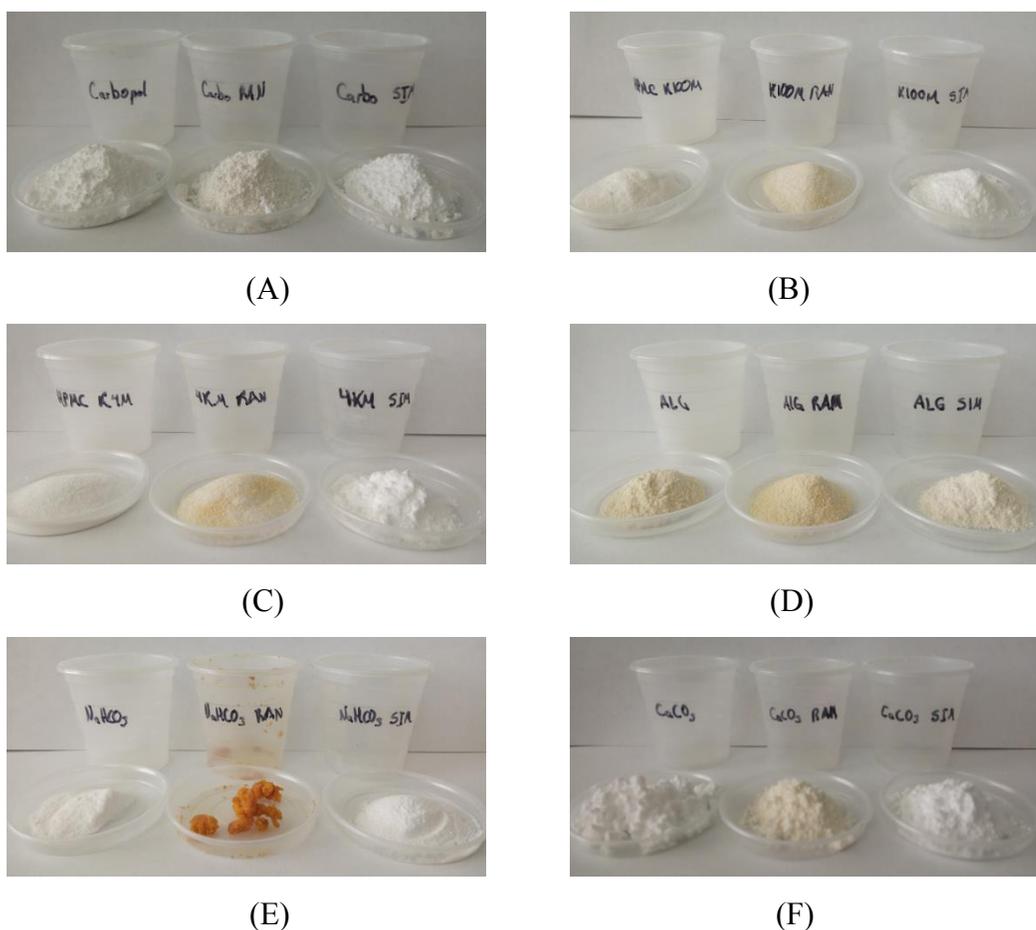


Fig. 15. Imágenes de las muestras de las mezclas físicas (1:1) utilizadas para obtención del gráfico por reflectancia, mediante NIR, para la determinación de incompatibilidades químicas de la Ranitidina, la Simeticona y los siguientes excipientes. A) Carbomero, B) HPMC K100M, C) HPMC K4M, D) Alginato de Sodio, E) Bicarbonato de sodio y F) Carbonato de calcio.

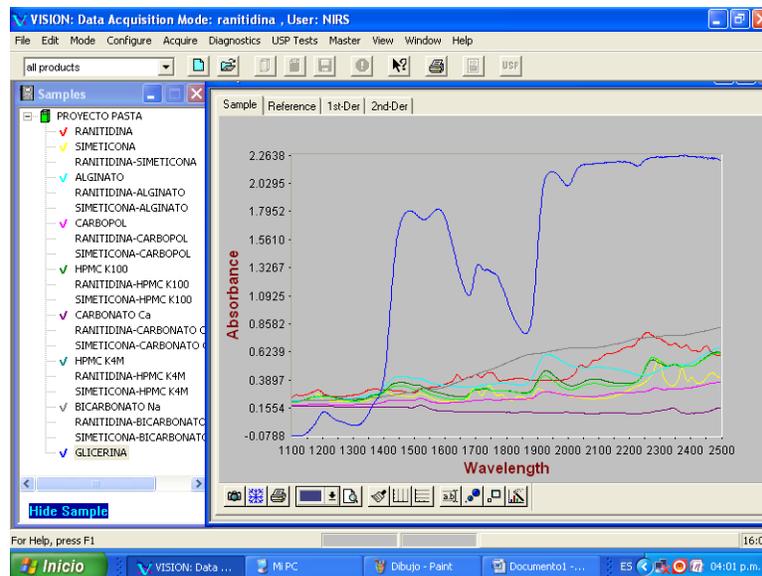


Fig. 16. Imágenes de los gráficos de absorbancia, obtenidos mediante el software Vision[®], para la determinación de incompatibilidades químicas entre la Simeticona y los excipientes.

F. Selección de los lotes de la pasta flotante de Ranitidina y Simeticona

Se fabricaron todos los lotes, siguiendo lo indicado en las directivas y las hojas de producción, basados en el diseño de experimentos, y se consideraron las formulaciones que presentaron un mejor desempeño en el comportamiento de flujo.

La composición, es la siguiente para cada lote: Carbomero, HPMC K100M, HPMC K4M y alginato de sodio y la mayor proporción de bicarbonato de sodio, para aumentar el tiempo de flotación.



Fig. 17. Lotes piloto 004F, 007F, 010F y 013F, de 60 g de pasta para evaluar la estabilidad de la pasta después de la fabricación con propilenglicol como humectante.

G. Llenado de la pasta



Fig. 18. Imágenes de las pruebas piloto del empaque primario y llenado del sistema de dosificación para la vía de administración oral; sellado mediante calor y silicón caliente, usando una solución gasificada y pasta de los lotes piloto para determinar la integridad a presión y volumen constante.

H. Evaluación de la flotabilidad

La flotabilidad de las pasta se evaluó utilizando como medio ácido clorhídrico 0.1 M, pH = 1.5; se comenzó a desarrollar esta técnica basado en la literatura, que evaluó sistemas de sólidos orales flotantes, se consideraron 2 formas para evaluar la flotabilidad



Fig. 19. Desarrollo de la prueba de tiempo de flotación de la pasta sin agitación, usando un vaso de precipitados con 500 ml de HCl 0.1 M.



Fig. 20. Desarrollo de la prueba de tiempo de flotación de la pasta con agitación mecánica, usando un vaso de precipitados con 500 ml de HCl 0.1 M.

I. Evaluación del poder antiespumante

Para la determinación de la propiedad antiespumante de la Simeticona se siguió un proceso sencillo, en donde se evaluó *in vitro*, la capacidad para eliminar la espuma formada por un agente detergente en ácido clorhídrico, tratando de imitar las condiciones estomacales.

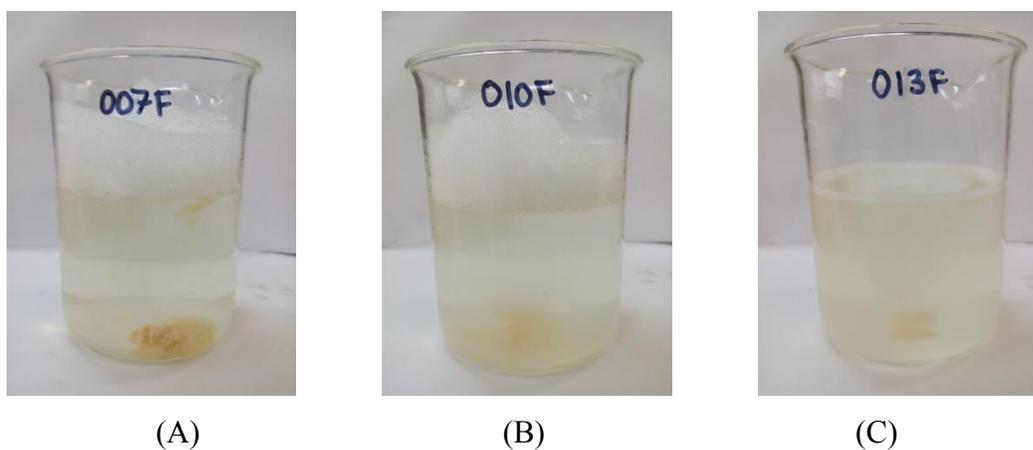


Fig. 21. Desarrollo de la prueba de eliminación de la espuma o poder antiespumante (A, B y C).

J. Validación del método analítico para la cuantificación de Ranitidina

1.1 Especificidad

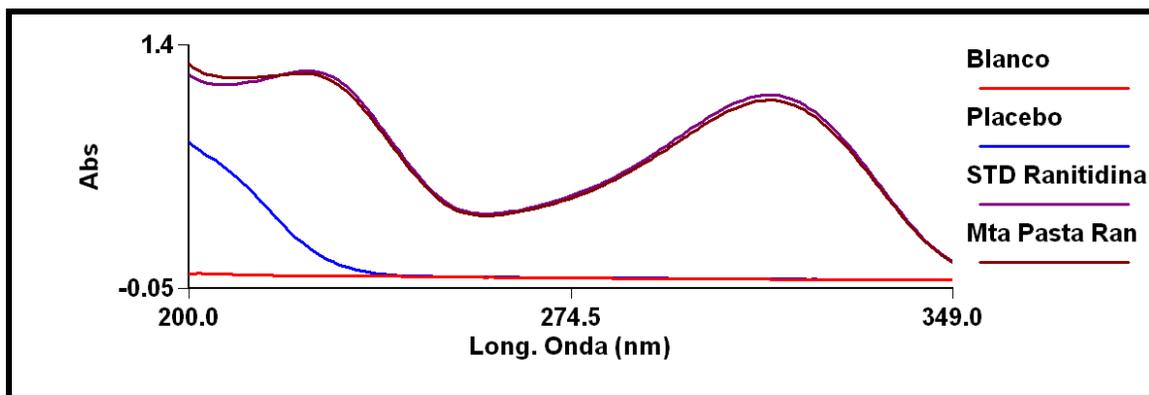


Fig. 22. Gráfico que muestra los espectrogramas que muestran la especificidad del método.

1.2 Adecuabilidad del sistema

Tabla 11. Datos de la evaluación de la adecuabilidad del sistema para la determinación de Ranitidina, usando un espectrofotómetro Varian modelo Cary 100 conc.

Sistema	Absorbancia a 313 nm
Cero	(0.0069)
1	0.2644
1	0.2639
1	0.2643
1	0.2643
1	0.2644
1	0.2647
Promedio	0.2643
Desvest	0.0003
CV	0.0977

1.3 Precisión del sistema

Tabla 12. Datos de la evaluación de la precisión del sistema para la determinación de Ranitidina, a tres niveles de concentración diferentes (bajo, medio y alto).

Porcentaje (%)	Conc. (µg/ml)	Absorbancia	Abs / []
75	18.3	0.7960	0.0435
		0.8051	0.0440
		0.8027	0.0439
		0.8127	0.0444
		0.8201	0.0448
		0.8131	0.0444
100	24.4	1.0646	0.0436
		1.0685	0.0438
		1.0664	0.0437
		1.0621	0.0435
		1.0656	0.0437
		1.0682	0.0438
125	30.5	1.3288	0.0436
		1.3338	0.0437
		1.2993	0.0426
		1.3518	0.0443
		1.3599	0.0446
		1.3789	0.0452
Promedio			0.0439
Desvest			0.0006
CV (%)			1.3543

1.4 Linealidad del sistema

Tabla 13. Datos de la linealidad del sistema para la determinación de Ranitidina, en una curva de calibración de 5 niveles de concentración.

Nivel	Conc [$\mu\text{g} / \text{ml}$]	Absorbancia	Abs / []
1	6.0	0.2644	0.0441
	6.0	0.2765	0.0461
	6.0	0.2728	0.0455
2	12.0	0.5266	0.0439
	12.0	0.535	0.0446
	12.0	0.5304	0.0442
3	18.0	0.7960	0.0442
	18.0	0.8051	0.0447
	18.0	0.8027	0.0446
4	24.0	1.0655	0.0444
	24.0	1.0711	0.0446
	24.0	1.0686	0.0445
5	30.0	1.3288	0.0443
	30.0	1.3338	0.0445
	30.0	1.2993	0.0433
Promedio			0.0445
Desvest			0.0006
CV (%)			1.4381

Tabla 14. Resultados de la regresión lineal usando Excel[®], para la determinación de la linealidad del sistema.

Datos	Ranitidina	Criterio de aceptación
Coefficiente de correlación R	0.9997267	$R \geq 0.98$
Coefficiente de determinación R^2	0.99945347	$R^2 \geq 0.98$
Pendiente (m o b_0)	0.04455791	b_0 debe ser diferente de 0
Intercepto (b o b_1)	-0.0048, 0.0197	b_1 debe incluir el 0
IC de b_0	± 0.0003	
No. observaciones		5 niveles por triplicado

1.5 Precisión del método (precisión intermedia).

Tabla 15. Datos de la precisión del método para el cuarto nivel equivalente 100% de analito.

Sistema	Conc. Ran ($\mu\text{g} / \text{ml}$)	Conc. Sim ($\mu\text{g} / \text{ml}$)	% Ran	% Sim
1	24.4	5.0	100	100
2	24.4	2.5	100	50
3	24.4	3.75	100	75
4	24.4	6.25	100	125
5	24.4	1.25	100	25

Tabla 16. Resultados de coeficientes de variación de 2 analistas y 2 días para determinar a cantidad real recuperada.

Día	Analista 1	Analista2	CV Cantidad Recuperada
	Cantidad Recuperada (mg/ml)		
Ranitidina			
1	1.1351	1.1339	1.0169
	1.1612	1.1501	
	1.1597	1.149	
CV	1.2721	0.7910	
2	1.1254	1.1256	0.5892
	1.1252	1.1377	
	1.1242	1.1382	
CV	0.0571	0.6292	
CV (%) global			1.2703

1.6 Exactitud del método

Tabla 17. Datos de la precisión del método, para el nivel de 100% de la Ranitidina

Sistema	Conc. Ran ($\mu\text{g} / \text{ml}$)	Conc. Sim ($\mu\text{g} / \text{ml}$)	% Ran	% Sim
1	24.4	5.0	100	100
2	12.2	5.0	50	100
3	18.3	5.0	75	100
4	30.5	5.0	125	100
5	6.1	5.0	25	100

Tabla 18. Resultados de los CV para Clorhidrato de Ranitidina a los tres niveles de trabajo.

Muestra	75 % Ranitidina	100% Ranitidina	125% Ranitidina
1	99.76	100.17	99.57
2	100.67	98.95	100.16
3	99.81	100.66	101.56
4	99.67	100.06	99.83
5	100.81	100.58	100.20
6	100.51	100.35	98.85
Promedio	100.20	100.13	100.03
Desvest	0.5103	0.6236	0.8967
CV	0.5092	0.6228	0.8965

1.7 Linealidad del método

Tabla 19. Resultados de la evaluación de la linealidad del método, usando placebos cargados, realizando las muestras por triplicado con el nivel de concentración de la Ranitidina

Nombre	Nivel	Conc adic (µg / ml)	% recuperado
HCF 1,1	25	6.10	99.08
HCF 1,2		6.10	101.37
HCF 1,2		6.10	103.17
HCF 2,1	50	12.20	98.42
HCF 2,2		12.20	100.96
HCF 2,3		12.20	99.41
HCF 3,1	75	18.30	99.47
HCF 3,2		18.30	100.38
HCF 3,3		18.30	99.52
HCF 4,1	100	24.40	99.96
HCF 4,2		24.40	98.74
HCF 4,3		24.40	100.46
HCF 5,1	125	30.50	99.41
HCF 5,2		30.50	100.00
HCF 5,3		30.50	101.41

Tabla 20. Resultados de la regresión para la determinación de la linealidad del método.

Datos	Ranitidina
Pendiente (m o b ₀)	0.0445
Intercepto (b o b ₁)	0.0028
No. De observaciones	15

Tabla 21. Resultados de la concentración recuperada y % de Ranitidina a los 5 niveles de trabajo.

Nombre	Nivel	Conc adic (µg / ml)	Conc recup (µg / ml)	% Recuperado
HCF 1,1	25	6.10	6.04	99.08
HCF 1,2		6.10	6.18	101.37
HCF 1,2		6.10	6.29	103.17
HCF 2,1	50	12.20	12.01	98.42
HCF 2,2		12.20	12.32	100.96
HCF 2,3		12.20	12.13	99.41
HCF 3,1	75	18.30	18.20	99.47
HCF 3,2		18.30	18.37	100.38
HCF 3,3		18.30	18.21	99.52
HCF 4,1	100	24.40	24.39	99.96
HCF 4,2		24.40	24.09	98.74
HCF 4,3		24.40	24.41	100.46
HCF 5,1	125	30.50	30.32	99.41
HCF 5,2		30.50	30.50	100.00
HCF 5,3		30.50	30.93	101.41
Promedio				100.12
Desvest				1.2285
CV				1.2271

Tabla 22. Resultados de la regresión ajustada para la determinación de los coeficientes usando Excel[®] y la realización de las pruebas de hipótesis.

Datos	Ranitidina	Criterio de aceptación
Coefficiente de correlación	0.9998	$R \geq 0.98$
Coefficiente de determinación R^2	0.9996	$R \geq 0.98$
Pendiente (m o b_0)	0.9995	
IC b_0	(0.9876, 1.0113)	b_1 debe incluir el 1
Probabilidad	1.5454E-23	
Intercepto (b o b_1)	0.00246667	
IC	(-0.2373 , 0.2422)	b_0 debe incluir el 0
Probabilidad	0.98260504	
No. De observaciones	15	5 niveles por triplicado

1.8 Reproducibilidad y repetibilidad del método

Tabla 23. Resultados de la evaluación de la repetibilidad (1 analista, 2 días) y la reproducibilidad (2 analistas, 2 días).

Día	Analista 1	Analista 2	CV (%) A1 y A2
	% Recobro		
	Ranitidina	Ranitidina	
1	99.47	99.76	0.6446
	100.38	100.67	
	99.52	99.81	
	99.96	100.17	
	98.74	98.95	
	100.46	100.66	
	100.20	99.83	
	99.75	100.20	
	98.64	98.85	
	CV (%)	0.6617	

2	100.38	99.67	0.7489
	100.66	100.81	
	100.69	100.51	
	100.11	100.06	
	102.06	100.58	
	101.78	100.35	
	99.41	99.57	
	100.00	100.16	
	101.41	101.56	
CV (%)	0.8679	0.6039	
CV (%)D 1 y 2	0.9212	0.6572	
CV % GLOBAL (Anal 1 – 2 y Día 1 – 2)			0.7898

K. Valoración y uniformidad de contenido en la forma farmacéutica

Tabla 24. Resultados de la valoración para los tres lotes piloto de 1.2 kg que se fabricaron para la administración y la estabilidad en anaquel.

Nombre	Valoración (%)
Lote 007F	98.74
Lote 010F	101.11
Lote 013F	99.06

Tabla 25. Resultados de la uniformidad de contenido por variación de la masa para los tres lotes piloto que se fabricaron para la administración y la estabilidad en anaquel.

Nombre	Uniformidad (%)
Lote 007F	98.18
Lote 010F	101.15
Lote 013F	100.01

L. Perfiles de disolución de la pasta de los lotes



Fig. 23. Imágenes del aparato 1 (canastillas) después de la realización de la disolución de las pastas flotantes, en donde se evidencia la presencia de polímero.

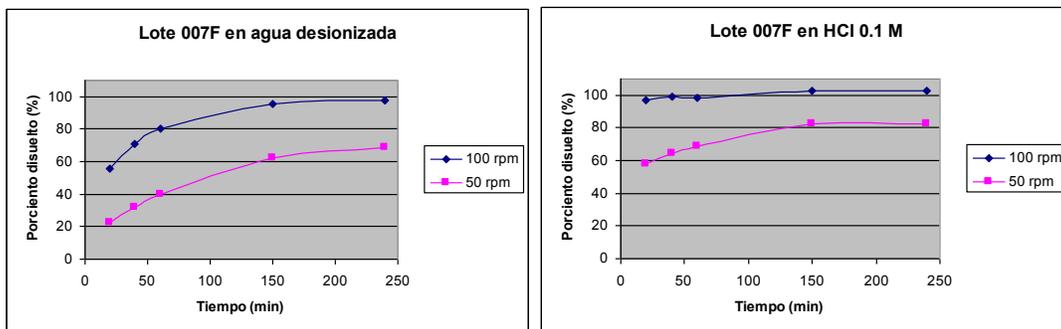


Fig. 24. Perfiles de disolución del lote 007F de la pasta de Ranitidina en agua y HCl 0.1M a distintas RPM.

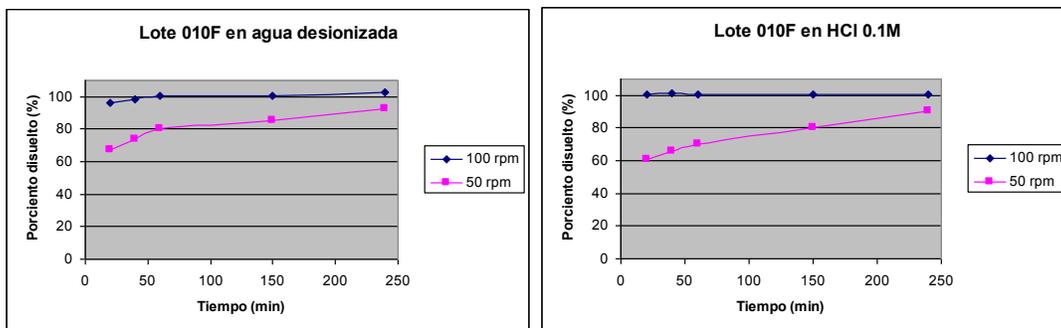


Fig. 25. Perfiles de disolución del lote 010F de la pasta de Ranitidina en agua y HCl 0.1M a distintas RPM.

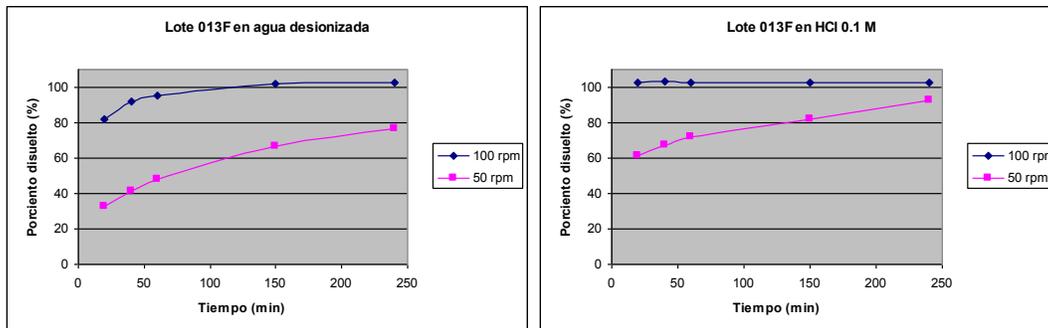
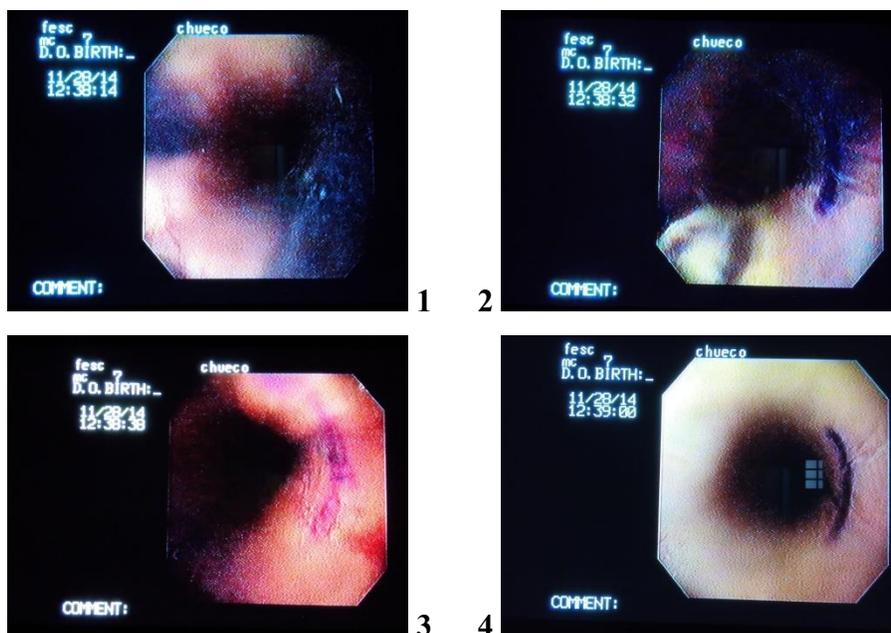


Fig. 26. Perfiles de disolución del lote 013F de la pasta de Ranitidina en agua y HCl 0.1M a distintas RPM.

M. Evaluación de la efectividad terapéutica de la pasta flotante

1.1 Endoscopias del estómago “Chueco”



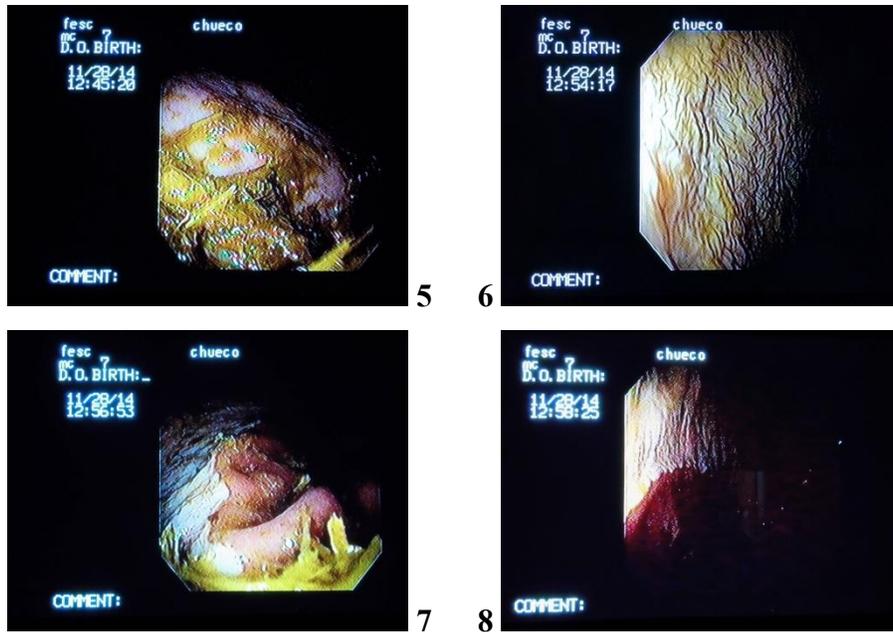
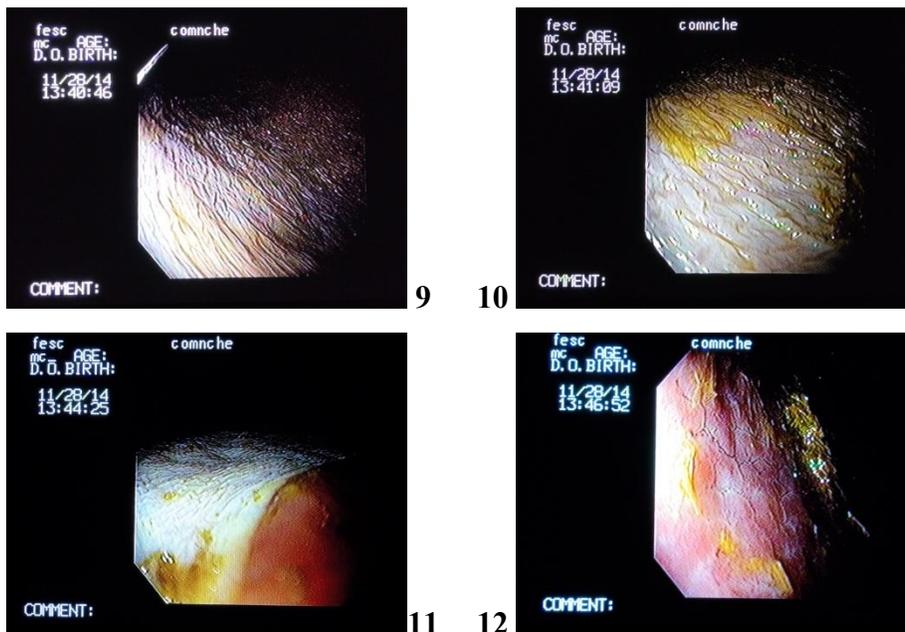


Fig. 27. Imágenes de la endoscopia después de la administración de la pasta con la adición un agente colorido de contraste (tinción celular), para evidenciar el paso de la pasta por la región del tracto gastrointestinal.

1.2 Endoscopias del estómago “Comanche”



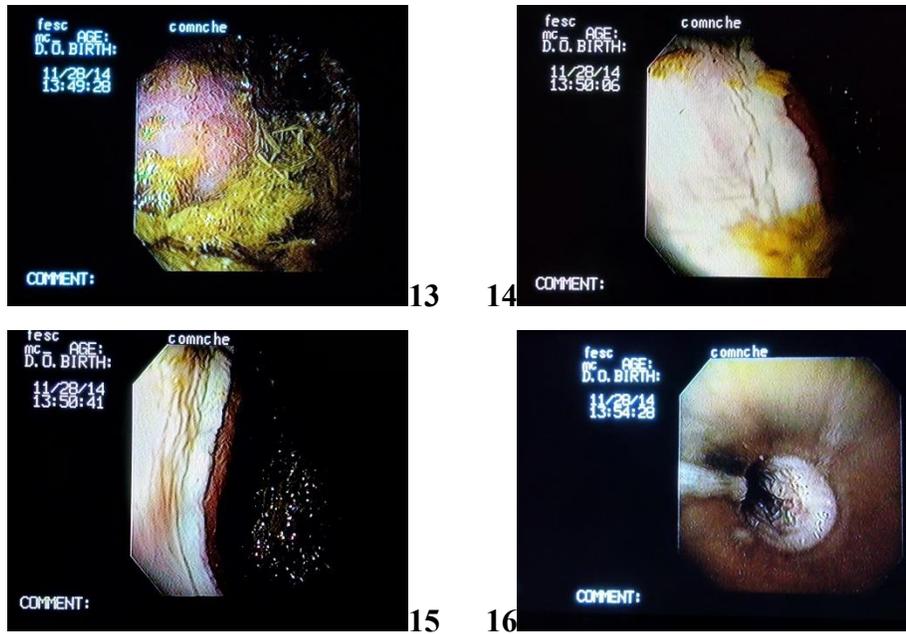
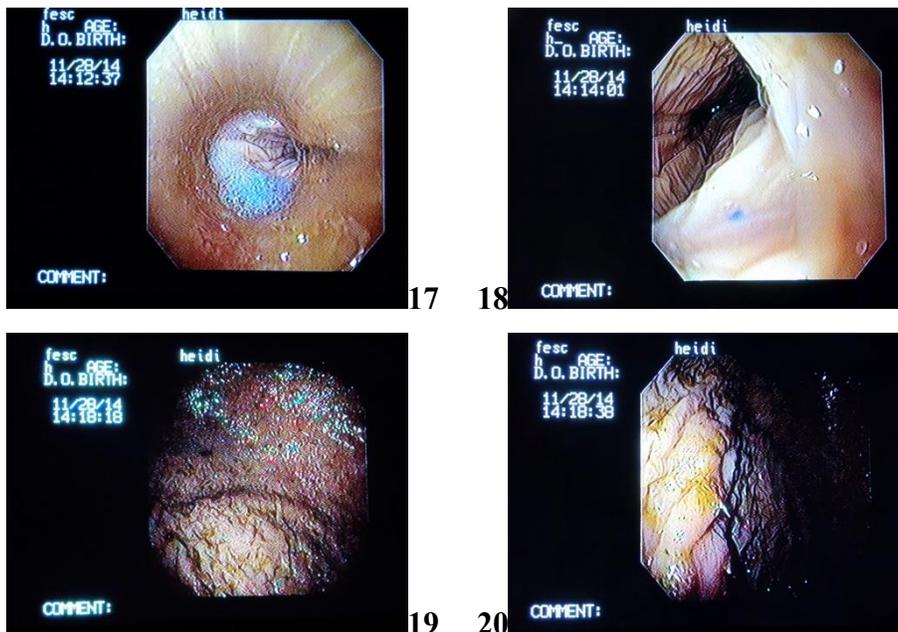


Fig. 28. Imágenes de la endoscopia después de la administración de la pasta para determinar la presencia de úlceras en la región del esófago, cardias y estómago del equino.

1.3 Endoscopias del estómago “Heidi”



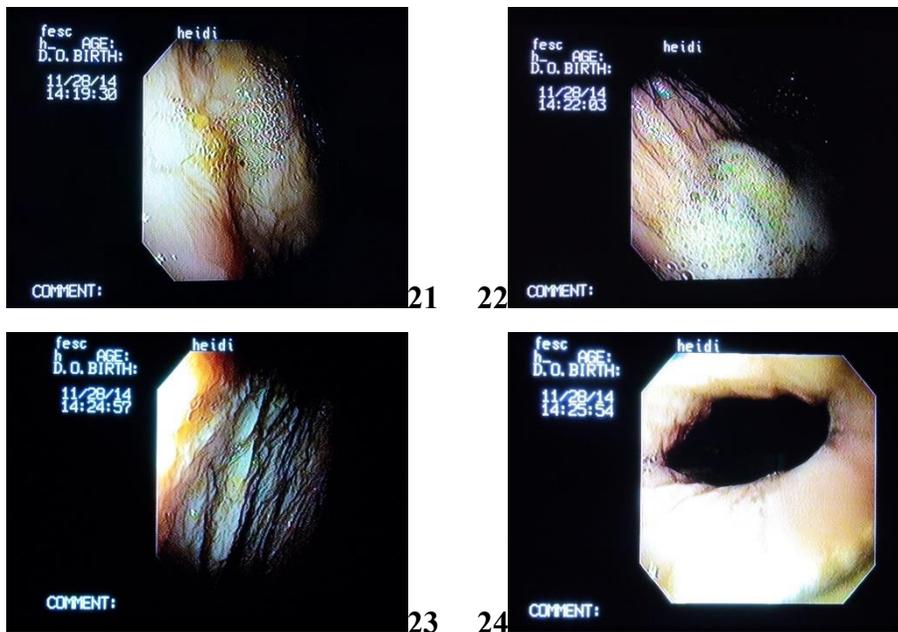


Fig. 29. Imágenes de la endoscopia después de la administración de la pasta con la adición un agente colorido de contraste (tinción celular), para evidenciar la acción sobre la espuma en el estómago del equino.

1.4 Endoscopias del estómago un equino con úlcera.



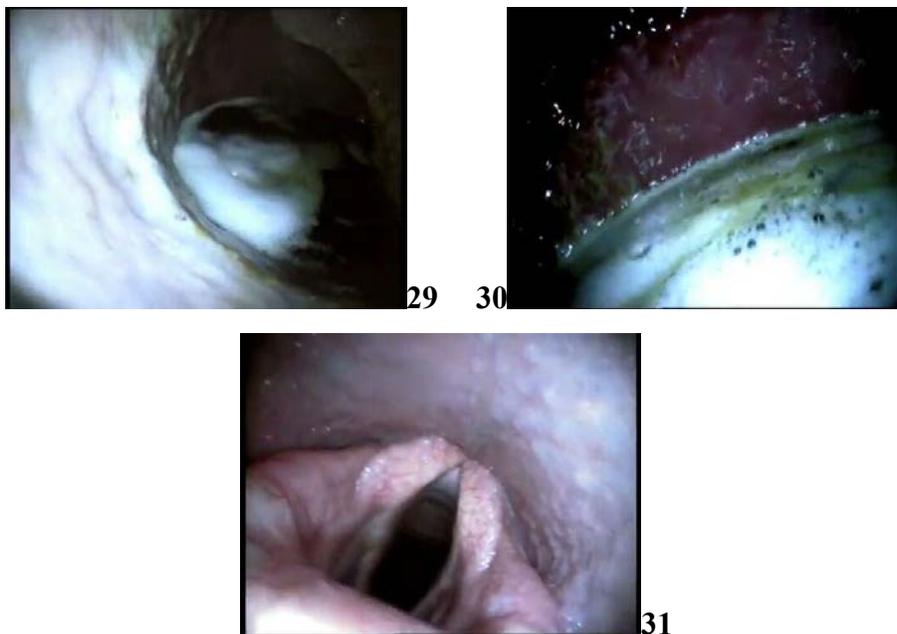


Fig. 30. Imágenes de la endoscopia realizada a un equino, para evidenciar las lesiones ulcerosas por la administración de AINE's y un manejo de alto rendimiento.

N. Manejo del Sujeto de experimentación





Fig. 31. Imágenes del manejo previo a la administración y la realización de la endoscopia en el hospital de equinos de la FESC, para evidenciar las lesiones ulcerosas por la administración de AINE's y exceso de carga de trabajo.

O. Administración de la pasta flotante





Fig. 32. Imágenes de la administración de la pasta en el hospital de equinos de la FESC, para evidenciar las lesiones ulcerosas por la administración de AINE's y exceso de carga de trabajo.

P. Obtención de muestra estomacal



Fig. 33. Líquido estomacal obtenido de "Magia", equino propiedad del hospital de equinos de la FESC, para evidenciar la presencia de espuma y adicionar la pasta y ver la flotación in vitro con líquido fresco.



Fig. 34. Líquido estomacal obtenido de "Magia", equino propiedad del hospital de equinos de la FESC, para evidenciar la eliminación de espuma por la acción la pasta y la disolución de la pasta.

VII. DISCUSION

Este proyecto tuvo como prioridad el desarrollo de una nueva opción terapéutica para el tratamiento de la úlcera gástrica en equinos, y la acumulación de gas en el interior del estómago de los equinos; para prevenir el cólico, que fundamentalmente se presenta en equinos de alto rendimiento; además este proyecto tuvo la finalidad de despertar el interés de la industria veterinaria para el desarrollo de opciones terapéuticas para tratar diversos padecimientos con una sola forma farmacéutica y además tener más y mejores formas de administración, que le permitan competir en el mercado nacional.

Para la identificación de la Ranitidina y la Simeticona, se utilizaron técnicas espectrofotométricas, que son comunes, baratas y sencillas en el área farmacéutica veterinaria, ya que este es otro de los puntos de interés para este proyecto, ya que la regulación actual no exige a la industria farmacéutica veterinaria que sus procesos y métodos analíticos se encuentren validados, por lo cual se genera una gran incertidumbre, falta de confiabilidad y variación en la efectividad terapéutica de los productos disponibles actualmente en el mercado veterinario nacional, y que no le permite competir con las grandes empresas trasnacionales que saben que la calidad en los productos les adiciona valor agregado y la posibilidad de aumentar sus ventas.

La identificación es la prueba fundamental para la realización de cualquier proyecto de investigación, por esta razón, se realizó una búsqueda amplia de distintos productos farmacéuticos que contienen algunos de los analitos, que se utilizaron este desarrollo farmacéutico. Cabe resaltar que en la literatura solo se encuentran reportados por separado la Ranitidina y la Simeticona, y en general para el tratamiento de la úlcera gástrica en equinos solo se encuentra reconocido el omeprazol en pasta, el cual está aprobado por la FDA en EUA, ya que es el único que cumple plenamente con la eficacia terapéutica, pero solo la marca Gastrogard[®], el resto de los productos aun no demuestran la bioequivalencia de este activo; y en consecuencia el uso de la Ranitidina no está muy presente en el mercado veterinario, por esta razón solo en América latina se utiliza para el tratamiento crónico de las úlceras, algunas veces en forma de polvos o granulados, por vía intravenosa y la forma farmacéutica más habitual para la administración es la suspensión; un ejemplo de una combinación de la Ranitidina y la Simeticona es el Taural plus[®], de origen Sudamericano, pero tiene desventajas al momento de la preparación y de la administración

porque requiere que se diluya y la cantidad a administrar requiere de aproximadamente 400 ml de agua (recurso vital) por equino a tratar; por esta razón se pensó en un sistema de entrega que facilite la administración, la permanencia y de bajo costo.

En general, la identificación de la Ranitidina se puede realizar, utilizando diversos equipos o instrumentos del ámbito químico – farmacéutico; ya sea determinación por UV-Vis, HPLC o NIR, para este proyecto la Ranitidina se analizó por UV-Vis que es el método más barato y sencillo de implementar en la industria farmacéutica, y sobre todo en la veterinaria; por otro lado la Simeticona es un principio activo-excipiente que tiene una doble función, es decir, puede usarse como activo solo o como agente de contraste o en combinación con otros activos, para el manejo del gas intestinal y la inflamación abdominal, pero también se utiliza ampliamente en la industria farmacéutica humana, como un excipiente para evitar la formación de burbujas en las suspensiones, con una característica muy particular y es que por sus propiedades moleculares como tensoactivo polimérico, no se absorbe a torrente sanguíneo, razón por la cual, su acción solo es local en el interior del tracto gastrointestinal, debido a esto no es necesario cuantificar su disponibilidad, solo asegurar que está presente en la forma farmacéutica y que no presenta interacciones con el resto de los componentes de la formulación.

A. Identificación de la Ranitidina

La Ranitidina es una molécula que presenta un coeficiente de extinción molar que una cuantificación con cantidades relativamente altas, para este trabajo se utilizaron concentraciones de entre 6 – 30 $\mu\text{g}/\text{ml}$; demostrando que aunque las absorbancias llegaban alrededor de 1.5, la linealidad de la curva de calibración se mantenía dentro de los criterios establecidos.

Por lo anterior la identificación de la Ranitidina se realizó mediante un barrido de una solución STD de concentración de 24 $\mu\text{g}/\text{ml}$, utilizando para el proyecto en un espectrofotómetro Cary 100 conc, a 313 nm como longitud de onda seleccionada, en medio acuoso a una con una absorbancia promedio de 1.2, como se observa en la Fig. 10.

B. Identificación de la Simeticona

La Simeticona es una molécula que no presenta grupos funcionales que no presentan absorción en el UV-Vis, por lo cual la literatura recomienda que para su identificación se utilice el NIR de reflectancia, como una técnica más sencilla que la determinación indirecta usando HPLC; el infrarrojo cercano trabaja entre 1100 y 2500 nm, lo que permite determinar los diferentes grupos funcionales de las moléculas y los enlaces químicos que presentan, lo que proporciona una huella gráfica digital, que es única para cada una de las distintas moléculas que se analizan mediante esta técnica.

Por lo anterior la identificación de la Simeticona se realizó el análisis de las muestras sólidas de 100% Simeticona, 100% Ranitidina y la mezcla física 1:1 de los 2 activos, (Fig. 11 y 12) utilizando un NIR FOSS 6500 de reflectancia para este proyecto, encontrando gráficamente (véase Fig. 36) 2 picos característicos para Simeticona en las regiones de 1400 y 1900 nm (color rojo) y 2 picos de no correspondencia en la región del espectro correspondiente a 1650 y 2050 nm (color azul), en los rojos se puede diferenciar Simeticona de Ranitidina y en los azules se puede diferenciar Ranitidina de Simeticona, lo que permitió identificar la presencia de uno y del otro claramente, la absorbancia se encuentra entre 0.25 y 0.35.

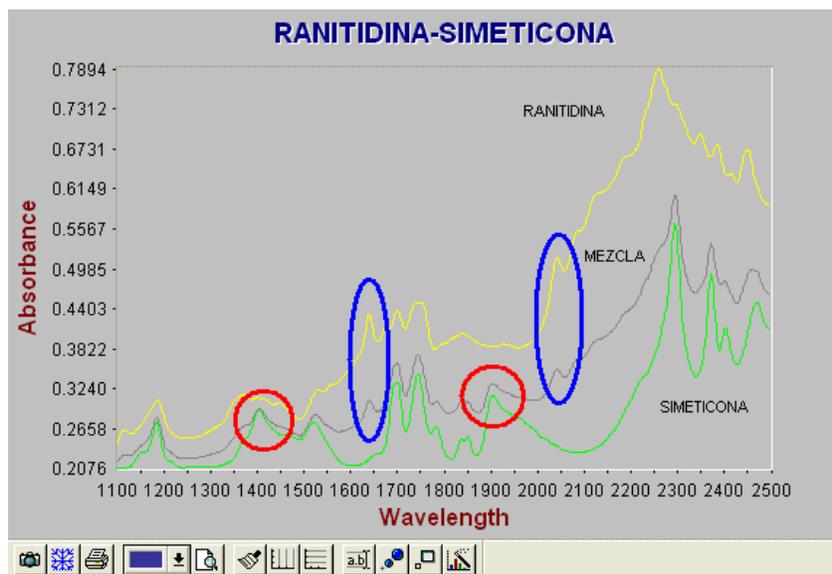


Fig. 35. Espectro del NIR, que permite evidenciar la no interacción química entre la Ranitidina y la Simeticona, mediante la demostración gráfica de la presencia de picos

característicos de ambas moléculas en la mezcla física (1:1) después de 1 mes de su preparación. Simeticona (circulo color rojo) y Ranitidina (elipses de color azul).

1. Identificación de los excipientes de la formulación

La identificación de los componentes de la formulación se realizó utilizando la técnica, que se recomienda como la más rápida, funcional y útil; que corresponde al NIR por reflectancia ya que esta técnica permite obtener una huella digital química de las sustancias, la cual es básicamente única para cada sustancia, lo que permite determinar las sustancias que están presentes en una mezcla.

Por ellos se procedió a realizar la lectura de todos los excipientes que se consideraron, para la realización de las distintas formulaciones, entre los excipientes se pueden encuentran agentes suspensores, modificadores reológicos, endulzantes, geles, etc. Se obtuvieron las distintas huellas químicas y se determinaron las zonas de identificación para los distintos excipientes, y así se pudo para evaluar si existen interacciones químicas, y si son estables cuando se realizan las mezclas físicas.

C. Estabilidad de los principios activos

La estabilidad de los activos, fue dentro de la preformulación, el punto clave para decidir que excipientes se seleccionarían para el desarrollo de las distintas formulaciones, la evaluación se centró básicamente en el activo que actúa a nivel de las úlceras, ya que esto representa la afectación principal en los equinos y debido a que su acción es local en los receptores H_2 , que se encuentran en el estómago, donde potencialmente se encontrara en pH ácidos y básicos. Por este motivo se tuvo que asegurar que el principio activo funciona y llevo a cabo su efecto terapéutico.

Por otra parte la estabilidad de la Simeticona, se encontró que solo sufre degradación por agentes oxidantes fuertes y metales, por este motivo solo se evaluó, el efecto del peróxido de hidrogeno sobre la Simeticona, no encontrando diferencias cuando esta se encontró en polvo, pero si cuando la Simeticona se encontraba en suspensión al 30%. Por este motivo se trabajó con Simeticona en polvo grado USP.

1.1 Estabilidad del clorhidrato de Ranitidina en condiciones de estrés

La estabilidad de la Ranitidina se evaluó siguiendo las recomendaciones de la guía del colegio nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos, debido a que la literatura química indico que la Ranitidina, es sensible a la degradación por luz y la temperatura, se procedió a comprobar el efecto de la luz (véase Fig.14 y 15) sobre una solución saturada de Clorhidrato de Ranitidina en solución acuosa usando viales de vidrio transparente durante un periodo de 90 días, expuesto a temperatura ambiente en el laboratorio.

Una vez que se comprobó que la luz degrada una solución de Ranitidina, se procedió a evaluar las otras condiciones de estrés fisico-químicas, por lo que se consideraron 2 grandes grupos: grupo a temperatura ambiente y grupo a 60°C, estos en frascos ámbar para evitar la degradación por la luz; y se evaluaron las condiciones de estrés ácidas, básicas, oxidantes y un control. (Fig.14 y 15) Encontrándose que la temperatura afecta de manera muy importante, la estabilidad de la Ranitidina, razón por la cual el procedimiento de fabricación de la pasta de Ranitidina y Simeticona, tiene que ser a temperatura ambiente y rápido para evitar la degradación por el efecto de la luz sobre la molécula. Y también que al igual que con la Simeticona el peróxido de hidrogeno tiene efectos de degradación química sobre le Ranitidina, lo que indico que los excipientes a utilizar en la formulación no pueden contener grupos funcionales oxidantes.

Para comprobar el efecto de degradación de las condiciones de estrés sobre la Ranitidina se procedió a realizar, un barrido utilizando un espectrofotómetro UV- Vis, en un rango de 350 a 200 nm, evaluando si comparados con el espectro de identificación de los activos y la solución control de los grupos (Fig. 37 y 38), existían modificaciones en las zonas de absorción a 313nm y 220 nm, encontrando al igual que de forma visual, el factor oxidante es que afecta a la molécula de Ranitidina y que al aumentar la temperatura la absorbancia disminuye y se observan cambios en el espectro UV-Vis de la Ranitidina.

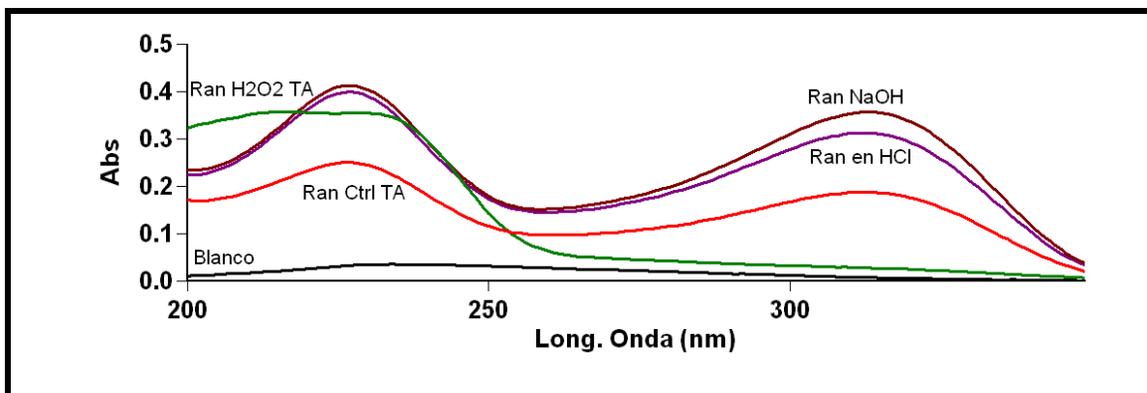


Fig. 36. Gráfico que muestra las alteraciones químicas sobre los grupos funcionales de la molécula y el efecto de las condiciones de estrés físicoquímico sobre una solución de Ranitidina a temperatura ambiente, en frasco ámbar después de una exposición de 7 días.

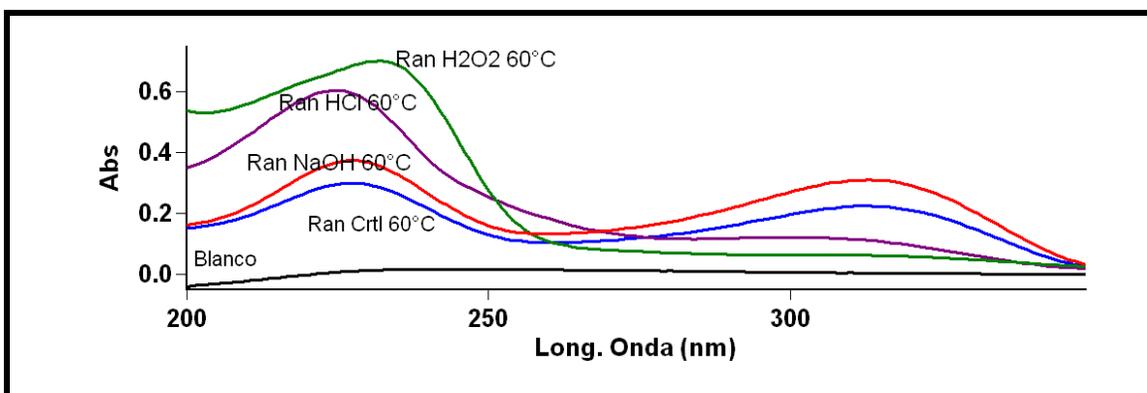


Fig. 37. Gráfico que muestra la alteraciones químicas sobre los grupos funcionales de la molécula y el efecto de las condiciones de estrés físicoquímico y de temperatura (60°C), sobre una solución de Ranitidina en frasco ámbar después de una exposición de 7 días.

D. Compatibilidad del fármaco vs. Excipientes

Para la determinación de la compatibilidad entre los activos y los excipientes se procedió a evaluar las distintas mezclas 1:1 de los excipientes seleccionados (Fig. 16) que no presentaban grupos funcionales oxidantes, metálicos y que no necesitaban temperatura para su incorporación a la fórmula. Obteniendo los Gráficos de la Fig.17 y por separado de muestran en la Fig. 39 (A, B, C, D, E y F), donde se determinó si hay compatibilidades.

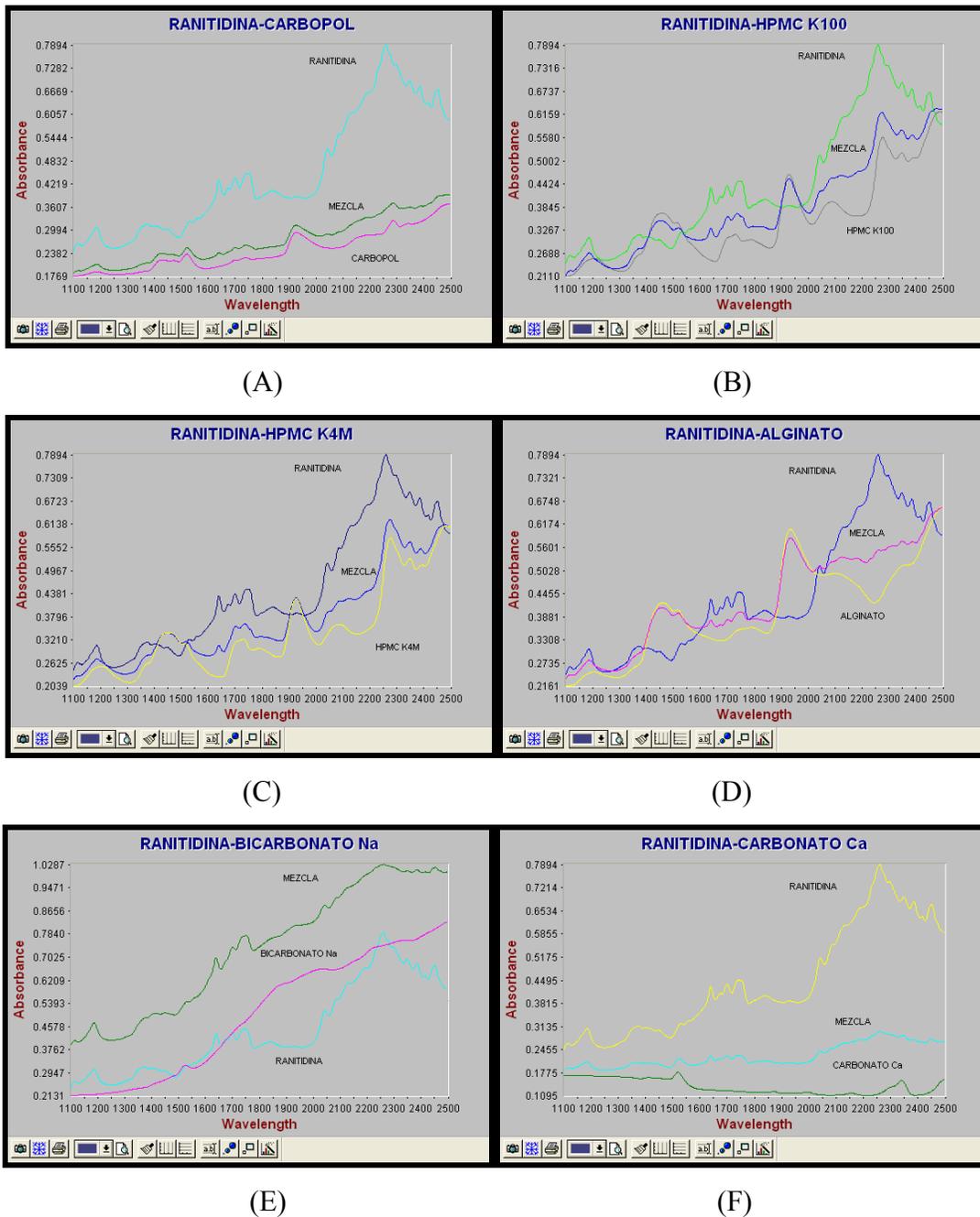


Fig. 38. Imágenes de los Gráficos de absorbancia, obtenidos mediante el software Visión[®], para la determinación de incompatibilidades químicas entre la Ranitidina y los excipientes. A) Carbómero, B) HPMC K100M, C) HPMC K4M, D) Alginato de sodio, E) Bicarbonato de sodio y F) Carbonato de calcio.

Los mejores excipientes fueron aquellos que eran promotores de la generación de una capa polimérica de protección contra la luz, y que además provocaron una disminución del área de contacto del Clorhidrato de Ranitidina, con las papilas gustativas, mejorando la palatabilidad de la pasta, por ende se puede decir que mejoraron las características de sabor. Los saborizantes aunque se aplicaron en porcentajes altos, cercanos al 30 % dentro de la formulación no presentaron ninguna ventaja de mejorar en el sabor amargo, por lo cual se eliminaron de la formulación ya que se podía promover la contaminación o crecimiento microbiológico, no deseado por sus características moleculares, las que son abundantes en carbono y nitrógeno (Fig. 39 (B, C, D y E)). Por esta razón también se modificó el uso de los conservadores originales que regularmente son el metil y propil parabenos, cambiándolos por un nuevo agente bacteriostático denominado Optiphen de Ashland; el cual tiene un amplio rango de acción entre pH 2 – 8 y puede usarse en formulaciones no acuosas, como las cremas, ungüentos, etc.; y debido a que se presentó una incompatibilidad con el medio acuoso, resultó ser un buen agente bacteriostático.

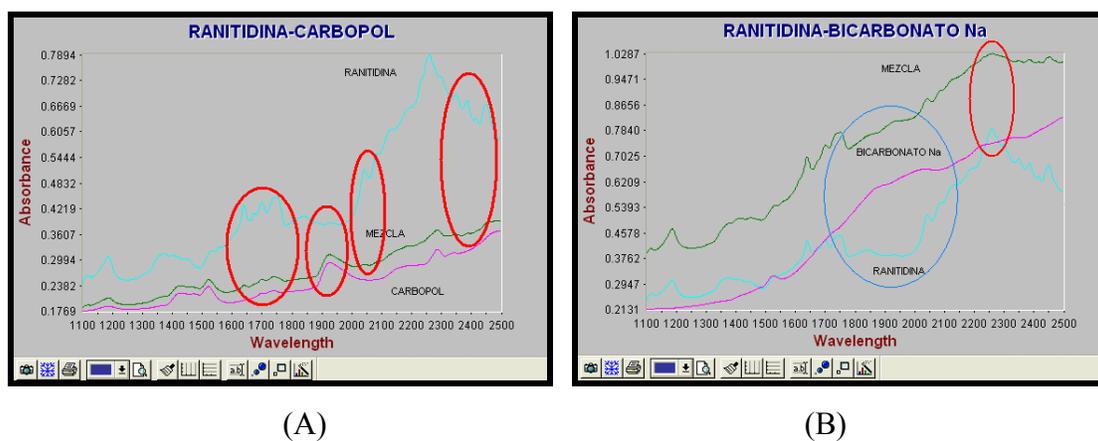


Fig. 39. Espectro del NIR, que permite evidenciar la interacción química entre la Ranitidina y el carbomero (A) demostrando una alteración en su huella química, en color rojo y en el Gráfico (B) una alteración de la huella química, de Ranitidina y el bicarbonato de sodio evidenciado en color azul.

Por otra parte se encontró una incompatibilidad entre la Ranitidina y el Carbomero, uno de los polímeros que se utilizaron para cambiar las propiedades reológicas de la pasta, lo cual se observa en la Fig. 40 A (color rojo), en donde se observó la modificación de la presencia picos de identificación de la Ranitidina y por otra parte en la mezcla Ranitidina y bicarbonato de sodio (agente flotante) se observó una característica que no se presentó en

ninguna otra mezcla física, la interacción del agua ambiental con uno de los excipientes, lo que produjo una reacción no deseada, antes de que la pasta entre en contacto con el HCl del estómago de los equinos, generando una reacción ácido – base entre el bicarbonato y la Ranitidina en medio acuoso, por lo cual se decidió eliminar el agua en las formulaciones, ya que en un principio, se había decidido que todas las formulaciones llevarían agua como agente humectante, esto debido a que el polímero que se utilizó responde al hinchamiento de su estructura de forma directa y por ende aumenta los tiempos de liberación por la reducción del área de contacto de la Ranitidina con el medio de disolución ya sea ácido o acuoso, convirtiendo a las pasta en un sistema de liberación prolongada; se cambió el humectante por el propilenglicol, el cual también permitía la incorporación de los componentes de la fórmula, y este humectante tiene la característica de no reacciona con los agentes viscosantes, por lo cual las reacciones de puentes de hidrogeno entre el polímero y el agua se ven limitadas, hasta que estos se encuentran en un medio acuoso, el propilenglicol también es utilizado por la industria veterinaria como un agente precursor de ácidos grasos volátiles y formador de glucosa utilizado en otras formulaciones orales veterinarias y como una solución nutricional para mejorar la salud y el bienestar animal. (Imran Ahmed, 2002)

E. Diseño de experimentos

Para el diseño de experimentos se utilizó un diseño 3^2 , en el cual se tomó como niveles de interés el tipo de polímero y el bicarbonato de sodio, en tres niveles de interés, a fin de tener una serie de experimentos que aportaran la mayor cantidad de información, evitando tener que realizar los 24 experimentos totales por cada uno de los agentes humectantes, quedando solo 6 sistemas por en los que también se evaluó el efecto que tenía sobre la formulación, la presencia y la ausencia del agente flotante que le da a la formulación su capacidad de retenerse por un mayor tiempo en la región estomacal del equino, aumentando la disponibilidad y el contacto de la Ranitidina con el receptor H_2 de la histamina, reduciendo la producción de la señal del hambre y evitando la secreción del ácido clorhídrico, de forma reversible con el uso de este antagonista.

F. Selección de dispositivo de administración.

Para el diseño final de la forma farmacéutica, se utilizó Gastro - shield como referencia, el cual es un producto disponible en el mercado veterinario mexicano, fabricado por

Laboratorios Tornel, el cual pretende ser como el Gastrogard[®], único medicamento aprobado por la FDA, para pretender tener una presentación similar al Gastro – shield se buscó tener la misma presentación incluido el sistema de dosificación (Jeringa), el cual es a base de polipropileno, y es capaz de dosificar por kilogramo de peso del equino; el inconveniente es que en México, no existe un fabricante de jeringas certificado por lo que se tuvieron que utilizar en un principio jeringas de la marca HSW, empresa que fabrica sistemas de dosificación veterinarios a nivel mundial, pero en México no tiene venta directa lo que elevaba, es costo de este proyecto de investigación; por lo que se diseñó un sistema que ocupa una jeringa de 20 ml, y un sistema de 15 cm de manguera de polietileno de 3/8 de diámetro, la cual se llena con la pasta formulada y se sella con silicón. Para dosificar en la región profunda de la boca, mediante la inyección de la pasta usando como agente impulsor agua, promoviendo la necesidad de tragar en el equino.



Fig. 40. Jeringa precargada (Imagen superior) de Gastro-Shield[®] (omeprazol) con dosificador por peso; jeringa veterinaria sin dosificador por peso (imagen central) de la marca HSW[®] y dispositivo de manguera precargada (imagen inferior) para dispensación oral profunda.

G. Selección de los lotes de la pasta flotante de Ranitidina y Simeticona

Se fabricaron todos los lotes, siguiendo lo indicado en las directivas y las hojas de producción, basados en el diseño de experimentos, considerando las formulaciones que presentaron un mejor desempeño en el comportamiento de flujo y no presentaron segregación del agente humectante, se tomó la decisión de trabajar solo los sistemas

flotantes que son los que aportan un mayor impacto tecnológico, basado en un sistema de liberación prolongado flotante.

Bajo este criterio se seleccionaron los lotes 004F, 007F, 010F y el lote 013F, los cuales tienen como característica ser los que presentan mayor porcentaje de polímero en el diseño de experimentos, y la composición que tienen estos lotes es para cada lote: Carbomero, HPMC K100M, HPMC K4M y alginato de sodio y la mayor proporción de bicarbonato de sodio, para aumentar el tiempo de flotación.

Como se puede observar en la Fig. 18, la formulación correspondiente al lote 004F, que utiliza el carbomero como polímero, presenta un proceso de degradación que ya se conocía mediante la evaluación con el NIR (color café-marrón), por este motivo este polímero fue eliminado, del conjunto de formulaciones que se continuo analizando, y fue importante darse cuenta de esta incompatibilidad antes de que se fabricar inútilmente lotes más grandes, por este motivo se prepararon lotes pequeños de 60 g equivalente a 10 dosis de pasta y se modificó como ya se mencionó el agente humectante (agua) por propilenglicol.

H. Llenado del dispensador oral de la pasta

Para el llenado de las jeringas precargadas en la industria, se usa un sistema de llenado por presión mecánica, usando émbolos de alta presión, y como un similar para tratar de simular la operación unitaria de llenado, se trabajó con un sistema de pistón a presión mecánica de acero inoxidable, (véase Fig. 42) para dispensar los 1.2 kg de pasta y llenar las 200 muestras de cada uno de los lotes que se iban a administrar. Esta técnica permitió evitar pérdida al momento de llenar las jeringas precargadas. Y el dato más importante de este punto es que aproximadamente la densidad de la pasta equivale a 0.5 g de pasta / cm lineal de manguera. Y el sello mantiene el contenido libre de comunicación con el exterior. (Fig. 19).



Fig. 41. Sistema de engrasado industrial (nuevo) que emplea un pistón a presión mecánica de acero inoxidable y una manga plástica interior, para dispensar la pasta dentro de la manguera.

I. Evaluación de la flotabilidad

La flotabilidad de las pasta se evaluó utilizando como medio ácido clorhídrico 0.1 M, pH = 1.5; se comenzó a desarrollar esta técnica basado en la literatura, que evaluó sistemas de sólidos orales flotantes, se consideraron 2 formas para evaluar la flotabilidad; la primera en modo estático determinando el tiempo en que la formulación se mantiene a flote sin agitación Fig.20, la segunda en modo dinámico con agitación utilizando un agitador magnético Fig. 21.

Para la evaluación del tiempo de flotación se seleccionó el modo estático en un vaso de precipitado de 500 ml con fluido gástrico simulado a 37° C, porque permitía evaluar mejor el desempeño real de las pastas y este se realizó para los lotes 007F, 010F y 013F, en donde se observó que los lotes, presentaron un tiempo de flotación superior a 3 h, aunque en algunos de los casos fue superior a 5 h, tal es el caso del lote 007F a base de HPMC K100M, el cual tiene una alta viscosidad y alta adherencia a las paredes del vaso Fig. 43 (A y D), en comparación con los otros lotes en los que no es tan notoria la flotación de la pasta Fig. 43 (C, D, E y F). Para determinar el tiempo total de flotación se considera cuando la pasta comienza a flotar, evaluando el tiempo en minutos que lleva observar que no exista pasta en la parte superior del vaso de precipitados.

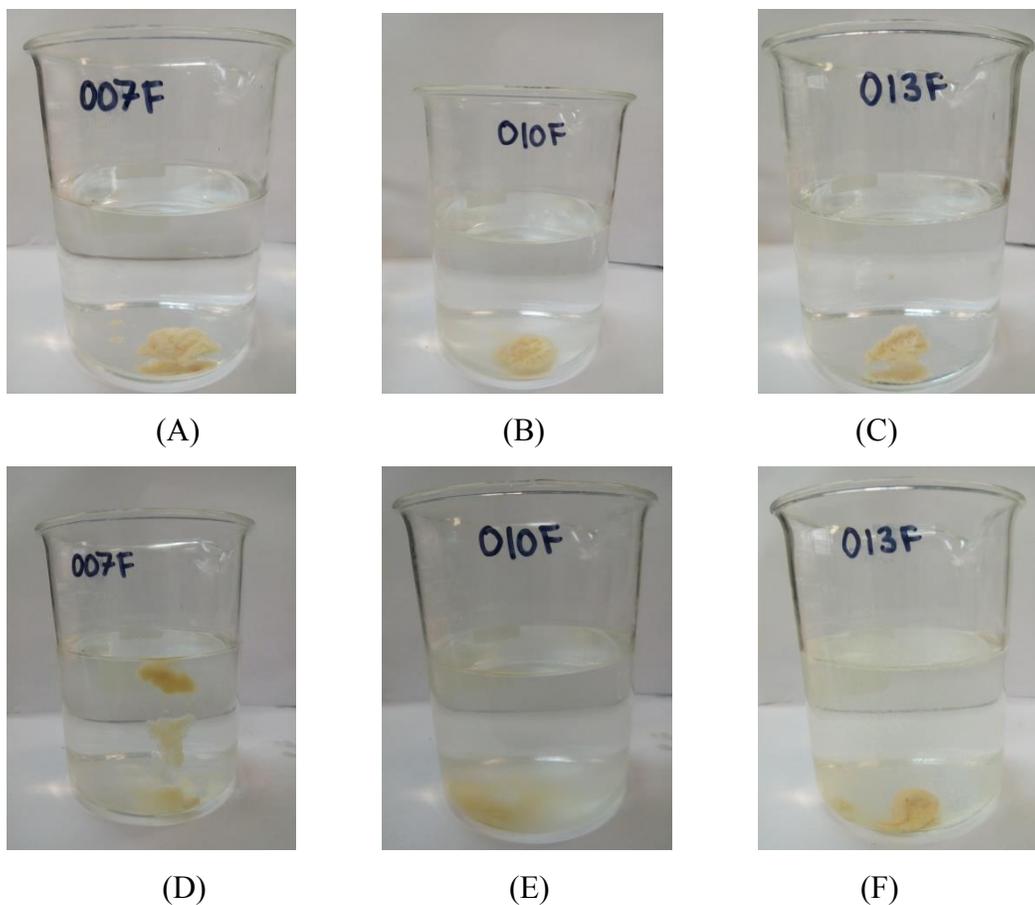


Fig. 42. Desarrollo de la prueba de tiempo de flotación sin agitación, inicial (inicial A, B y C) y 10 min después de comenzar la prueba (abajo D, E y F).

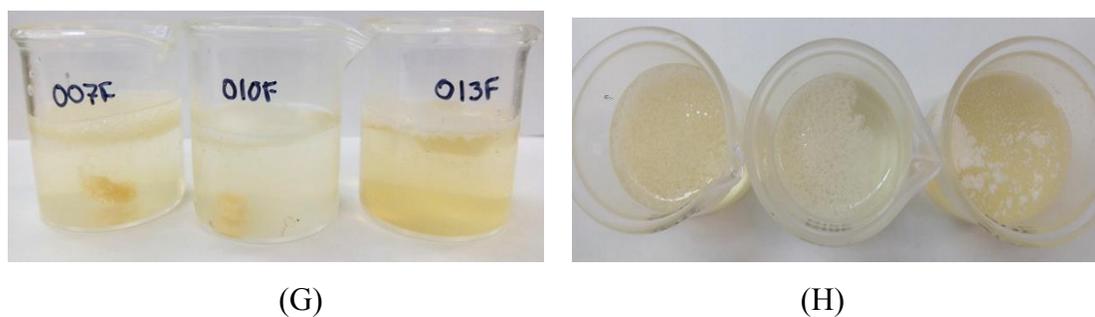


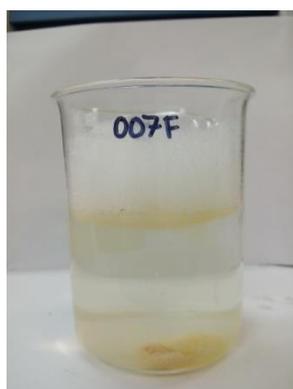
Fig. 43. Desarrollo de la prueba de tiempo de flotación sin agitación después de 3 h de iniciada la prueba, vista lateral (G) y vista superior (H).

Este tiempo es observado simultáneamente para determinar el efecto de boyeo, que puede darse en fases no necesariamente toda la pasta administrada logra flotar esto es debido a las propiedades del polímero que se está usando, como se observa en la Fig. 44 (G) vista lateral y (H) superior, después de 3 h de tiempo de flotación.

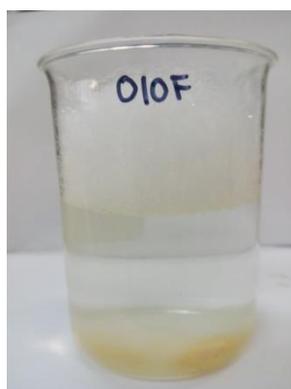
2. Evaluación del poder antiespumante

Para la determinación de la propiedad antiespumante de la Simeticona se siguió un proceso sencillo, en donde se evaluó *in vitro*, la capacidad para eliminar la espuma formada por un agente detergente en ácido clorhídrico, tratando de imitar las condiciones estomacales con agitación magnética a fin de eliminar la acumulación de gas (metano, azufrados, etc.) en el interior del estómago del equino a fin de prevenir la inflamación y la acumulación de espuma con gas en los equinos.

Esta prueba se realizó en un vaso de precipitados con ácido clorhídrico, y como se puede observar en la Fig. 45, la formulación que presento una mejor eliminación en el mismo periodo de tiempo es la 013F (C y F) a base de alginato, seguida de la formulación del lote 007F (A y D) a base de HPMC K100M.



(A)



(B)



(C)

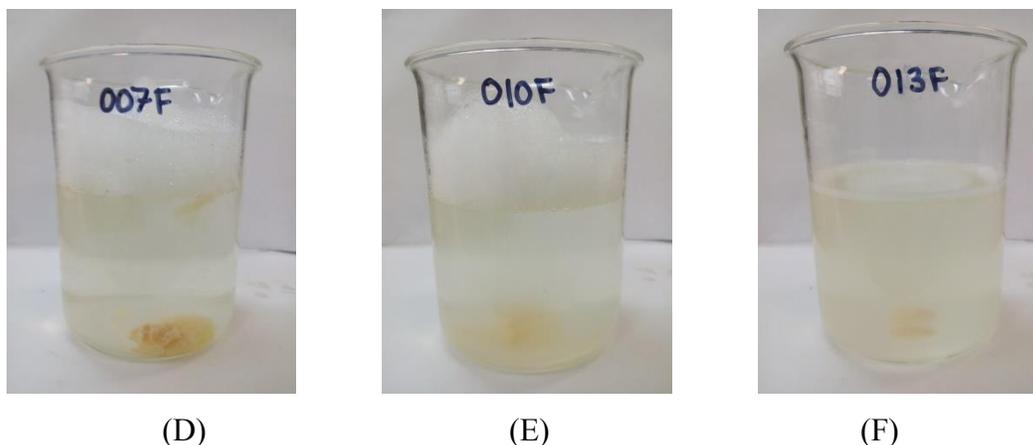


Fig. 44. Desarrollo de la prueba de eliminación de la espuma o poder antiespumante, inicial (inicial A, B y C) y 20 min. después de comenzar la prueba (abajo D, E y F).

J. Estabilidad en el empaque primario

Para la evaluación del empaque, en donde se aloja directamente la pasta flotante, se realizó de forma física mediante la evaluación del contenido de Ranitidina por un periodo de 1 mes y las propiedades organolépticas de color, ya que la Ranitidina es muy sensible a la temperatura ambiental y a la luz ambiental.

La evaluación del contenido se realizó llevando a cabo la técnica analítica de valoración entre el día de fabricación (día 0) y un periodo de 30 días (1 mes), a fin de determinar si no hay un cambio mayor del 5% en el contenido de Ranitidina presente en la forma farmacéutica.

Para evaluar las propiedades organolépticas, de estabilidad física visual se realizó contra un control, el cual se coloca en las condiciones ideales de almacenaje de la forma farmacéutica, simulando las condiciones que un laboratorio farmacéutico veterinario utilizaría para mantener la estabilidad de la formulación. (Imran Ahmed, 2002)

Para la estabilidad se identificaron con colores los diferente lotes, utilizando los siguiente colores, como se indica para el 007F (amarillo), 010F (rojo) y 013F (verde); estos lotes no presento ningún problema de estabilidad física, derivado de la fabricación, aunque en el caso del lote 010F se tuvo que aumentar la cantidad de propilenglicol para mejorar la fluidez de la pasta al llenar los sistemas precargados de dosificación.

K. Validación del método analítico para la cuantificación de Ranitidina

La guía de validación de métodos analíticos ed. 2002 que publicó el colegio nacional de químicos farmacéuticos biólogos y la guía International cooperation on harmonization of technical requirements for registration of medicinal veterinary products. VICH GL2 Oct 1998 validation of analytical procedures: methodology. Sirvieron como base para establecer las pruebas y las especificaciones estadísticas que se requieren para asegurar que la validación del método espectrofotométrico, lo que nos aseguró que el método es repetible y reproducible, para garantizar que las determinaciones que se obtienen son confiables y se pueden utilizar en la industria para asegurar la calidad del producto después de su fabricación.

Los parámetros y las especificaciones que marca la guía de validación del colegio nacional de QFB, que marca como parámetros de desempeño para la aplicación analítica del método una serie de pruebas que se tienen que realizar, en la siguiente tabla se indican los parámetros a determinar ver tabla 26.

Tabla 26. Criterios de aceptación para realizar la validación espectrofotométrica, de la Ranitidina (para la valoración y la uniformidad de contenido), tomando como base la guía del Colegio Nacional de QFB.

Parámetro de desempeño	Valoración/ Uniformidad de contenido/ Disolución	Criterio de aceptación	Descripción de la prueba
Adecuabilidad del sistema	✓	$CV \leq 2\%$	Sextuplicado de una muestra
Precisión del sistema	✓	$CV \leq 3\%$	Sextuplicado 100%
Linealidad del sistema	✓	$r^2 \geq 0.98$ IC (b_1) no debe incluir el 0	5 niveles por triplicado, 100% incluido en el nivel 3 o 4 de la curva
Especificidad	✓	Respuesta debida al	Blanco, muestra

		analito	100%, STD, Placebo
Exactitud y repetibilidad	✓	IC debe incluir el 100 % IC 97 – 103 % CV ≤ 3%	Placebo adicionado 100% vs STD 100%
Linealidad del método	Val: 80 – 120% UC: 60 – 140% Disol: 20 – 120%	Adicionada vs recuperada $r^2 \geq 0.98$ IC (b ₁) debe incluir el 1 IC (b ₀) debe incluir el 0 CV ≤ 3% Porcentaje de recobro IC 97 – 103 % CV ≤ 3%	3 niveles de análisis con muestras por triplicado, en central equivalente al 100% junto con la cantidad equivalente de placebo, los otros dos uno por encima y el otro por debajo. Disolución: curva de calibración mínimo 5 niveles por triplicado incluido el 100% con la cantidad se placebo equivalente.
Precisión del método	✓	CV ≤ 3%	Triplicado de 100% la cual debe estar incluida en la linealidad del método
Estabilidad analítica de la muestra	✓	$ d_1 \leq 3\%$	Triplicado de una muestra a 2 tiempos inicial y final.
Robustez	*	determinación ≤ 3%	Cambios en
Tolerancia	*	$ d_1 \leq 3\%$	

* Puede ser requerido dependiendo de la naturaleza del método.

1.1 Especificidad

Para la especificidad del método analítico (Fig. 23) se realiza un barrido y la lectura de una solución blanco, un placebo con los excipientes que contiene la formulación, un placebo adicionado al 100% de Ranitidina y Simeticona, y una solución STD de Ranitidina y Simeticona (24 µg / ml) ver Fig. 46.

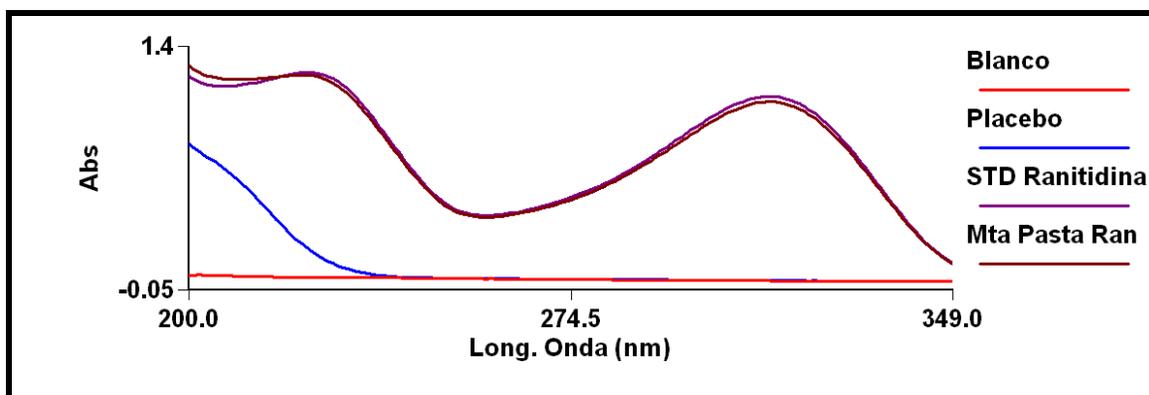


Fig. 45. Gráfico que muestra los espectrogramas de la especificidad del método.

En el grupo de espectrogramas anterior, se puede observar la especificidad del método, lo que se demuestra observando que ni el blanco ni los excipientes, en solución acuosa muestran a la longitud de onda de 313 nm respuesta alguna; lo que confirma que las condiciones elegidas funcionaron para la cuantificación de la Ranitidina, que en esta prueba es el analito de interés.

1.2 Adecuabilidad del sistema

Esta prueba se realiza cada vez que se utiliza el espectrofotómetro, para asegurar que el sistema Cary 100 conc se encuentra en condiciones adecuadas de trabajo y que no existen cambios significativos en los resultados que ocasionen un aumento en la desviación de los datos, y esta prueba se evaluó leyendo en un sextuplicado una solución acuosa el equivalente a 6 µg / ml, el nivel más bajo de la curva de calibración de Ranitidina a 313 nm. Tabla 11.

1.3 Precisión del sistema

La precisión del sistema se realizó leyendo por sextuplicado diferentes concentraciones del analito de interés, tratando de abarcar un rango amplio para evaluar la variación que pueden presentar estos porcentajes y determinar si cumplen con los límites de variación establecidos.

Con base en los resultados anteriores se puede decir que el sistema presentó un desempeño aceptable ya que el CV de la absorbancia de la muestra vs. concentración, se encuentra dentro de los límite del CV establecido para esta prueba, que es de $< 1.5 \%$, y para el analito de interés el coeficiente fue de 1.3543 los coeficientes obtenidos fueron menores. Ver Tabla 12.

1.4 Linealidad del sistema

Esta prueba se realiza para ver el comportamiento que presentan los analitos a diversas concentraciones, y esto se prepara a partir de una solución Stock, a partir de la cual se preparan los niveles de concentración a evaluar en este caso fueron 5, cada uno se realiza por triplicado y de forma independiente (véase Tabla. 13), para tener más datos y poder evaluar estadísticamente la información que se genera y determinar los parámetros que se evalúan de esta prueba. Los resultados se muestran a continuación:

En las fig. 47 se muestran los datos de la regresión lineal, en los diversos niveles de concentración, y la ecuación que permite calcular la concentración de los analitos, dentro del rango de trabajo.

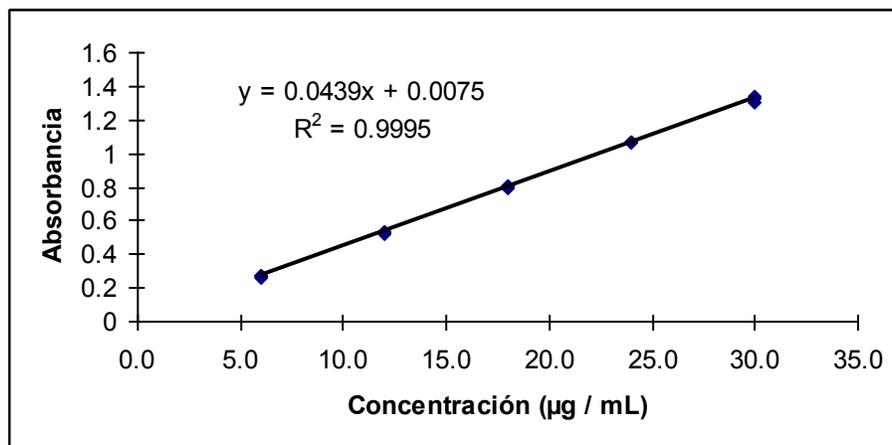


Fig. 46. Gráfico de la linealidad del sistema para la Ranitidina, la ecuación de la recta y el coeficiente de determinación.

En las Fig.48 se muestra el error que presento el analito, debido a la variación al momento de preparar las soluciones, y también demuestran que no existen tendencias, es decir, que existe aleatoriedad en los datos; se observó que el nivel inferior y el mayor son lo que presentaron mayor dispersión, esto se puede deber a que el uso de pipetas de distintos volúmenes lo generan variabilidad, y el cuarto nivel presenta menor error, y aun con esa variabilidad los resultados están dentro de los criterios de aceptación, que indican que el error debe ser $< 3\%$.

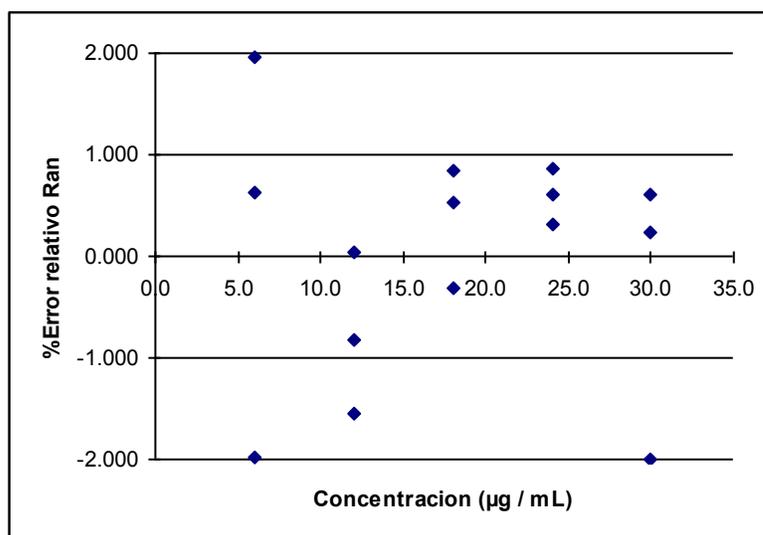


Fig. 47. Gráfico del error relativo para la Ranitidina vs. la concentración del analito para la curva del sistema, usando análisis de datos de Excel[®].

Al realizó el análisis de los datos, para obtener el valor de F_{cal} , el cual debe ser comparado contra un valor crítico de F , y se espera que el valor de F_{cal} es mayor para que se acepte la hipótesis alterna. Para esto se redactan dos hipótesis, una nula y la otra alterna, es decir:

H_0 : No existe una relación de linealidad entre la concentración y de la absorbancia obtenida.

H_a : Existe una relación de linealidad entre la concentración y la absorbancia obtenida.

Para elegir se realiza a los datos una ANOVA o análisis de varianza, y se establecen los criterios de aceptación para la prueba, los cuales son los siguientes:

Si F_{cal} es menor que F_{crit} no se rechaza H_0 , o bien, si $F_{cal} < F_{crit}$ no se rechaza H_0

Si F_{cal} es mayor que $F_{crítica}$ se rechaza H_0 , o bien, si $F_{cal} > F_{crítica}$ se rechaza H_0

Tabla 27. Resultados del ANOVA realizado a la regresión de la linealidad del sistema para la Ranitidina.

Datos	g . l	Suma de cuadrados	Prom. cuadrados	F_{cal}	Valor crít de F
Ranitidina, Clorhidrato de					
Regresión	1	2.0854	2.085	23773.47	1.35E-22
Residuos	13	0.0011	8.7E-05		
Total	14	2.0865			

De acuerdo a los valores mostrados en la Tabla 27. se obtuvo que los valores de F_{cal} para la Ranitidina es mayor que el valor de F_{crit} , por lo tanto, se rechaza la hipótesis H_0 , entonces se puede decir, que existe una relación lineal entre la concentración del analito y la absorbancia obtenida, con un nivel de significancia del 0.05.

En la tabla no. 14 se muestran los datos obtenidos de la curva de Ranitidina y la regresión realizada, en la cual se observa que el coeficiente de correlación (R) y de determinación (R^2) cumplen con el criterio de aceptación incluido en la misma tabla, y establecen los valores de la ecuación de la recta ($y = m x + b$), los cuales cumplen también con los criterios de aceptación.

1.5 Precisión del método (precisión intermedia).

Se prepararon los sistemas como se indica en la tabla no. 15, y solo se trabajó con los que involucraban condiciones contrarias, lo que nos permite demostrar que no existe colinealidad entre los analitos, es decir, que la presencia de un analito no modifica el área del otro.

Se trabajó para evaluar si la presencia de la simeticona afecta la cuantificación de la Ranitidina con los sistemas 1, 2 y 4; se realizó el ensayo por triplicado a las muestras como se describe en el procedimiento experimental.

Se calculó la cantidad recuperada para todos los sistemas, pero solo se reporta el que comprende el 100 %, para determinar la precisión intermedia, la cual se muestra en la Tabla 16, y en la cual se demuestra que la Ranitidina no ve afectada su cuantificación por la presencia de la Simeticona, en la forma farmacéutica ya que se cumplió con los criterios establecidos al presentar un CV menor a 2 % en la cantidad recuperada.

1.6 Exactitud del método

Se prepararon como indica la tabla No. 17, los sistemas 1, 3 y 4 para la evaluación de la exactitud del método, y se realizó el ensayo por sextuplicado a las muestras como se describe en el procedimiento experimental, y se calculó el porcentaje de recobro como sigue:

$$\% \text{ Recobro} = \left(\frac{\text{Concentracion. adicionada}}{\text{Concentracion. recuperada}} \right) * 100$$

En la tabla no. 18 se muestran los resultados obtenidos para la Ranitidina, reportando el CV del porcentaje recuperado, para los tres niveles que fueron evaluados, el CV aceptado para la exactitud de método es de 3 % tanto para las evaluaciones parciales como para el CV global, este último es el que tiene mayor importancia porque demuestra que el método, es exacto a las concentraciones experimentales, siempre y cuando se encuentre dentro del rango examinado; para este analito la variación fue de 0.6572.

Posteriormente se procedió a calcular los intervalos de confianza (IC) que se encuentran relacionados de manera directa con la desviación estándar de los datos, estos IC toman la media de los datos como base para calcular los sesgos que podrían presentar los datos y determinar si son confiables, y se obtienen mediante la siguiente fórmula:

$$IC = t_{\alpha/2, n-1} \cdot \frac{S}{\sqrt{n}}$$

El IC se calcula obteniendo un valor de t , en base a tablas considerando un $\alpha = 0.05$ y el número de observaciones (n) que es multiplicado por la desviación estándar dividida por la raíz del número de observaciones (n), y este intervalo considera que la muestra tiene una distribución t y por tanto considera las dos colas de la distribución como zonas de rechazo.

En la tabla no. 28 se pueden observar los datos de la Ranitidina, a los cuales se les calculó la media, se les sumó y restó el intervalo de confianza calculado, para determinar el valor que presentan de t_{calc} y compararla con la t_{crit} , se calcula como sigue:

$$t.calc = \frac{(\%Recuperado - 100\%)}{S / \sqrt{n}}$$

Tabla 28. Prueba estadística de t usando Excel[®] para la Ranitidina y los intervalos de confianza calculados.

Fármaco	Nivel	LIC	LSC	Promedio	IC	t calc	t crit
RAN	75	100.39	101.26	100.83	0.4374	3.6990	2.57
	100	100.41	101.78	101.09	0.6829	3.1417	
	125	99.25	100.11	99.68	0.4317	-1.4530	
	Global	100.02	101.05	100.53	0.5174	1.7959	2.109

Por medio de la prueba de t , se determinó la exactitud del método para la Ranitidina, que cumple con lo que se encuentra reportado como aceptable, ya que para un método espectrofotométrico existen dos opciones para el porcentaje de recobro; la primera que el IC debe incluir el 100% o que el promedio aritmético se incluya en el intervalo entre 97 – 103 %, y debido que los porcentajes de recobro cumplen con este criterio, para este método los 3 niveles incluyen al 100% en su intervalo.

En la figura no. 49 se observa el % recuperado de Ranitidina, y se hizo evidente al incluir el 100%, se cumple con la prueba de t , debido a que los intervalos de confianza incluyen el 100%, y los datos de los 3 niveles los datos presentan varianzas iguales.

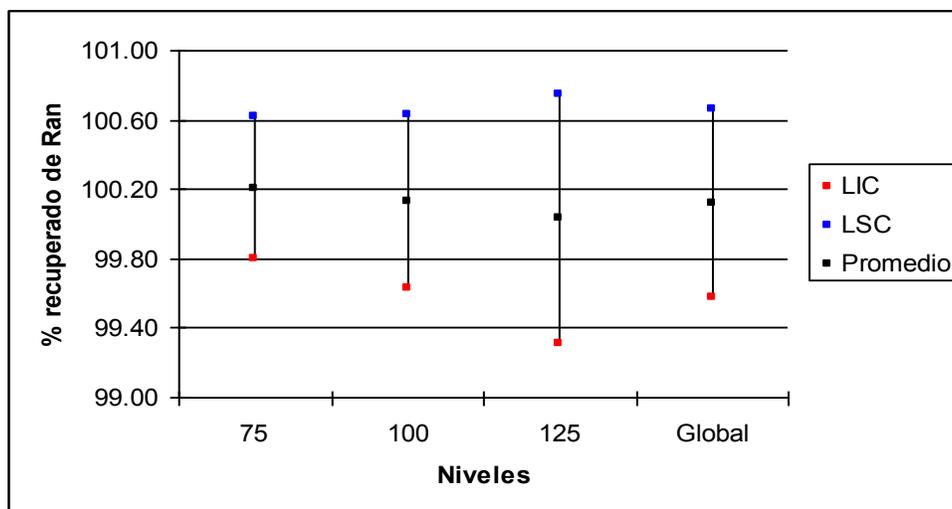


Fig. 48. Gráfico del porcentaje recuperado de los distintos niveles examinados con sus intervalos de confianza obtenidos para Ranitidina.

1.7 Linealidad del método

La linealidad del método se evaluó preparando 5 placebos cargados, en el que se consideró un rango de concentraciones o de porcentajes, en este caso, se trabajó con 25, 50, 75, 100 y 125 % para el clorhidrato de Ranitidina, la preparación de las muestras se realizó por triplicado para cada uno de los niveles.⁸

En la tabla 21 se muestran los datos obtenidos del clorhidrato de Ranitidina, así como la cantidad adicionada y la absorbancia resultante; a partir de estos datos se calculó la ecuación de la recta ($y = mx + b$) (véase Tabla 20); con la ecuación generada se determinó la cantidad recuperada de cada analito, mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Concentración recuperada} = \frac{(\text{Absorbancia obtenida} - \text{Ordenada al origen})}{\text{Pendiente}}$$

En la Tabla 23 se muestran los resultados de la concentración recuperada y el porcentaje de Ranitidina, demostrando que el CV global de todos los datos de la regresión es menor al 2%, es decir, cumple con el límite establecido.

En la Fig. 50 se muestran los datos de la regresión lineal, en los diversos niveles de concentración que se manejaron, y se muestra además la ecuación que permite determinar la concentración recuperada.

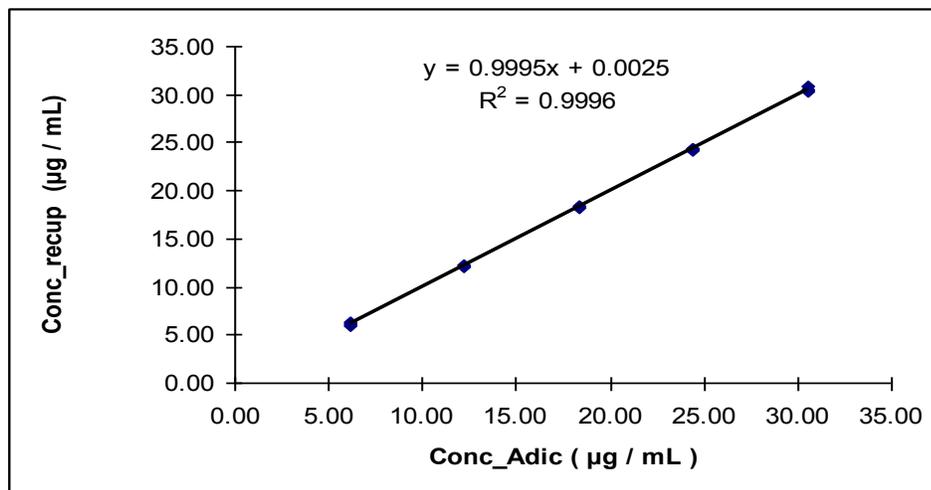


Fig. 49. Gráfico de la linealidad del método para la Ranitidina, y la ecuación de la recta y el coeficiente de determinación.

En la Fig.51 se muestra el error que presenta el analito, el cual es mínimo para la cuantificación de los analitos, y también demuestran que no existen tendencias en los resultados debida a la acumulación del error al analizar.

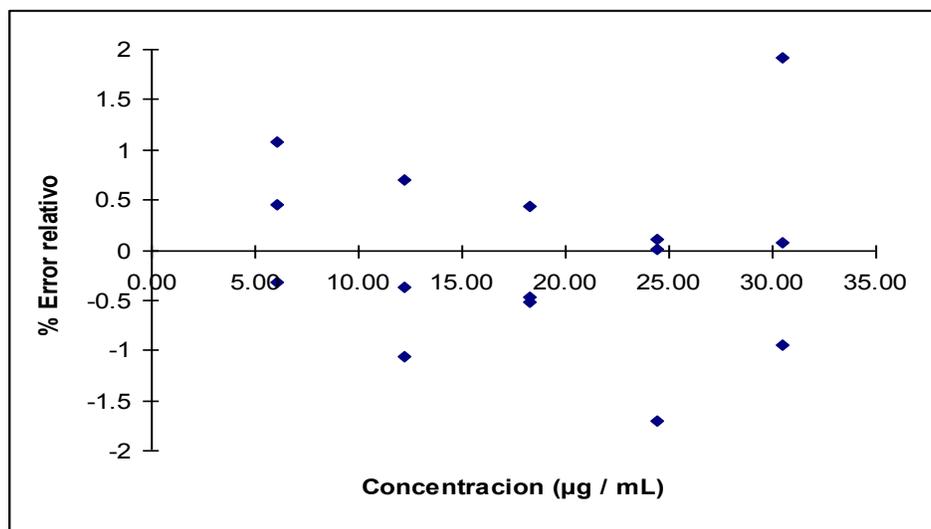


Fig. 50. Gráfico del error relativo para la Ranitidina vs. la concentración del analito para la curva del método, usando análisis de datos de Excel[®].

En la figura No.51 solo el quinto nivel presenta una ligera variación de los datos, pero los resultados están dentro de los límites permitidos que son de $\pm 3\%$. Se realizó el cálculo, para obtener un valor de F_{cal} , el cual debe ser comparado contra un valor crítico de F , y se espera que el valor de F_{cal} sea mayor para que se acepte la hipótesis alterna. Para esto se redactan dos hipótesis, una nula y la otra alterna, es decir:

H_0 : No existe una relación lineal entre la cantidad adicionada y cantidad recuperada.

H_a : Existe una relación de lineal entre la cantidad adicionada y cantidad recuperada.

Para elegir se realiza a los datos una ANOVA o análisis de varianza, y se establecen los criterios de aceptación para la prueba, los cuales son los siguientes:

Si F_{cal} es menor que F_{crit} no se rechaza H_0 , o bien, si $F_{cal} < F_{crit}$ no se rechaza H_0

Si F_{cal} es mayor que $F_{critica}$ se rechaza H_0 , o bien, si $F_{cal} > F_{critica}$ se rechaza H_0

Tabla 29. Resultados del ANOVA realizado a la regresión de la curva de Ranitidina para la determinación de linealidad.

Datos	g.l	Suma de cuadrados	Prom. cuadrados	F_{cal}	Valor crít F
Regresión	1	1115.13	1115.13	33197.6	1.5454E-23
Residuos	13	0.4367	0.0336		
Total	14	1115.6			

De acuerdo a los valores mostrados en la tabla 29, se obtuvo que los valores de F_{cal} para el analito, es mayor que el valores de F_{crit} , por lo tanto, se rechaza la hipótesis H_0 , entonces se puede, decir que existe una relación lineal entre la concentración adicionada y la concentración recuperada, con un nivel de significancia del 0.05.²⁹

En la tabla 22 se muestran los datos de la regresión de la curva de Ranitidina realizada por el programa Excel 2003, en la cual se observa que el coeficiente de correlación (R) y de determinación (R^2) cumplen con el criterio de aceptación incluido en la misma tabla, y establecen los valores de la ecuación de la recta ($y = m x + b$), en el caso

de la pendiente (m o b_1) debe incluir el número uno en su intervalo, mientras que la ordenada al origen (b o b_0) tiene que pasar por el cero en su intervalo para que sean parámetros aceptables.

Para evaluar los datos de la regresión es necesario realizar una prueba de t , para determinar si la pendiente (m o b_1) y el intercepto (b o b_0) cumplen con los criterios de aceptación, antes mencionados, los datos obtenidos se muestran a continuación en la tabla no. 30.

Tabla 30. Prueba de t para la Ranitidina y la probabilidad para la comprobación de las hipótesis

Fármaco	Parámetro	LIC	LSC	Probabilidad	t calc	t crit
RAN	Pendiente	0.9876	1.0113	1.54537E-23	182.20	2.145
	Intercepto	- 0.2373	0.2422	0.9826	0.0222	2.145

Para la pendiente que tiene que incluir al número 1 en su intervalo, se observa que cumple con este parámetro, y se demuestra con las siguientes hipótesis:

H_0 : La pendiente o b_1 es igual a cero

H_a : La pendiente al origen o b_1 es diferente de cero

Si t_{cal} es menor que t_{crit} no se rechaza H_0 , o bien, si $t_{cal} < t_{crit}$ no se rechaza H_0

Si t_{cal} es mayor que $t_{crítica}$ se rechaza H_0 , o bien, si $t_{cal} > t_{crítica}$ se rechaza H_0

Como se observa en la tabla 30, el valor de t_{cal} para la pendiente de Ranitidina es de 182.20, por lo que se rechazó H_0 , lo que indica que la pendiente resultó ser diferente de 0, y al observar la misma tabla se observó que el intervalo fue de 0.9876 a 1.0113, por lo cual el parámetro se consideró aceptable y cumplió con la prueba.

Para el intercepto u ordenada al origen este debe incluir al 0 en su intervalo, se observa que cumple con este parámetro, y se demuestra con las siguientes hipótesis:

H_0 : La ordenada al origen o b_0 es igual a cero

H_a : La ordenada al origen o b_0 es diferente de cero

Si t_{cal} es menor que t_{crit} no se rechaza H_0 , o bien, si $t_{cal} < t_{crit}$ no se rechaza H_0

Si t_{cal} es mayor que $t_{crítica}$ se rechaza H_0 , o bien, si $t_{cal} > t_{crítica}$ se rechaza H_0

Como se observó en la tabla no. 30, el valor de t_{cal} para la ordenada al origen de Ranitidina es de 0.0222, por lo que no se rechaza H_0 , lo que indica que la ordenada al origen es igual a 0, y al observar la misma tabla se observa que el intervalo es de -0.2373, 0.2422, por lo cual el parámetro es aceptable y cumplen con la prueba.

1.8 Reproducibilidad y repetibilidad del método

La repetibilidad del método, se evaluó la variación que presenta el analista y que determino cuáles son los puntos clave, para reducir el error al realizar el ensayo, para esto se necesitaron tres niveles de concentración y se trabajó dos días diferentes para demostrar que el método puede realizarse en cualquier momento.

Para la reproducibilidad se necesitan dos analistas, los cuales deben de conocer exactamente como se realiza el ensayo a las muestras, para que exista independencia en las determinaciones que va a realizar, y solo presentar el error asociado al analista y no existan tendencias; para esto se realizó la preparación de tres placebos cargados con tres niveles de concentración, y también se trabaja dos días diferentes.

Como se observa en la tabla no. 23, la Ranitidina cumplió con el criterio establecido, para la repetibilidad del método, en cual el CV parcial y el global no debía ser superior de 2 %, para el día 1 el CV fue de 0.9212, mientras que para el segundo día el CV fue 0.6572, y el CV global el más importante para demostrar que no hay diferencia entre los días fue de 0.7898.

La reproducibilidad es el último parámetro que se evaluó en esta validación, y los resultados mostrados en la tabla no. 23, demostraron que el método para la cuantificación

de la Ranitidina es confiable, porque los CV indicaron que la diferencia que se puede presentar entre los analistas fue de 0.6446 para el día 1 y 0.7489 para el día 2, lo no fue superior al 2 % que es el criterio establecido, por lo tanto se dice que el método es reproducible.⁸

En la figura No. 13 se muestran los Gráficos del porcentaje de recobro obtenido al evaluar la reproducibilidad, en donde se observó el traslape para la Ranitidina, donde se muestra, que los todos los datos presentan un traslape con el resto de los datos, lo cual indica que existe relación entre los puntos, y que estadísticamente se encuentran dentro de los límites establecidos.

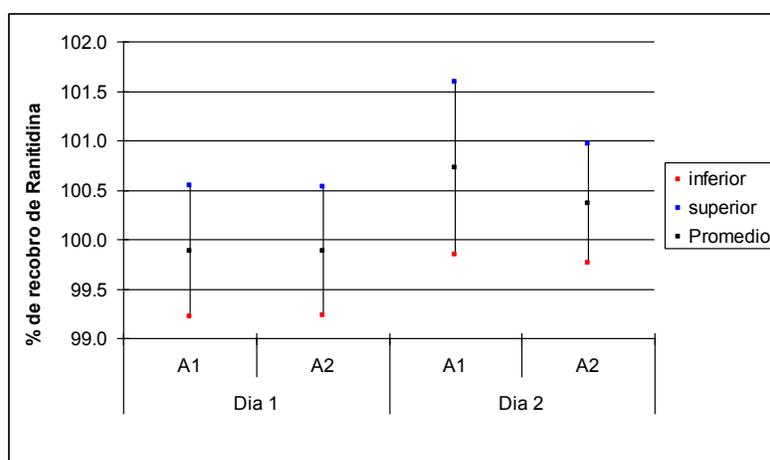


Fig. 51. Porcentajes de recobro de la Ranitidina para la reproducibilidad del método.

L. Valoración y uniformidad de contenido en la forma farmacéutica

Se realizó todo el proceso de validación para asegurar la confiabilidad con la que se determina la valoración, la uniformidad de contenido y los perfiles de disolución, la validación solo se realizó para la Ranitidina porque es el principio activo de mayor interés para tratar la úlcera gástrica en equinos, mientras que la simeticona solo tiene una función profiláctica previniendo *in situ* la formación de espuma y por ende la acumulación de gas en el interior del estómago y la región intestinal.

Como se observó en la tabla 24 los resultados para las valoraciones de los 3 lotes de interés para el desarrollo de este trabajo, se observa que las determinaciones están dentro de los límites permisibles del 90 -110%, y esto demostró que el método es sensible para la determinación de la cantidad de Ranitidina presente en la muestra. Y en la tabla 25 se

muestran los resultados que se obtuvieron para la uniformidad de contenido lo que garantiza que en la muestra que es administrada a los equinos, una vez que es acondicionada en el empaque primario, presenta un buen mezclado, es decir que todos los lotes presentaban potencialmente la misma cantidad de activo y los resultados son similares con la valoración.

M. Perfiles de disolución de la pasta de los lotes

En la Fig. 24 se observó que en los perfiles realizados a 50 RPM, a las pasta flotantes, no alcanzaban una disolución en las canastillas (aparato1), para garantizar que cumplen con el criterio de Q, que se marca en la FEUM para la aceptación, el cual tiene que ser mayor del 80%, por este motivo se realizaron los perfiles de disolución al doble de RPM para garantizar la disolución máxima o el total de la muestra que se está analizando, y por esta razón se obtuvieron los perfiles de las Fig. 53, 54 y 55; en donde visualmente se hace evidente la diferencia entre trabajar a 50 y 100 RPM; y donde se observó que las formulaciones que mejor controlan la liberación son la 007F y la 013F ya que a 50 RPM liberan menos del 80%, por ende actuarán de manera sostenida por mayor tiempo en la región estomacal actuando como antagonistas del receptor H_2 , permitiendo que las células puedan repararse más eficientemente, y evitar tener que administrar cada 8 h, ya que con este modelo se puede administrar solo 2 veces al día o solo en la mañana para que actúe a lo largo del día.

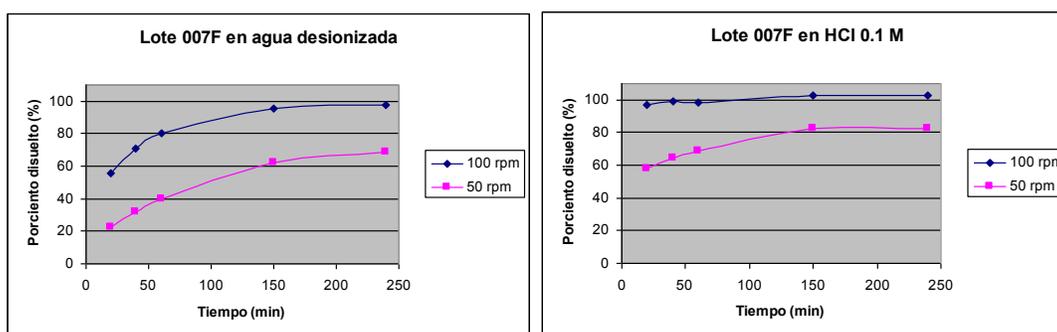


Fig. 52. Porcentajes de recobro de la Ranitidina para la reproducibilidad del método.

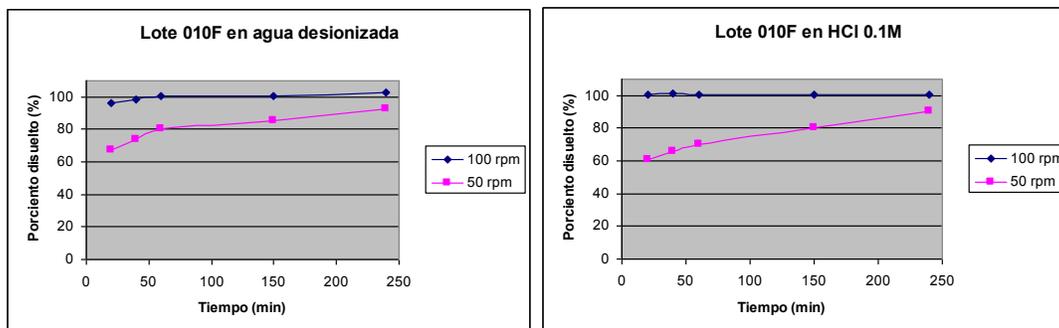


Fig. 53. Porcentajes de recobro de la Ranitidina para la reproducibilidad del método.

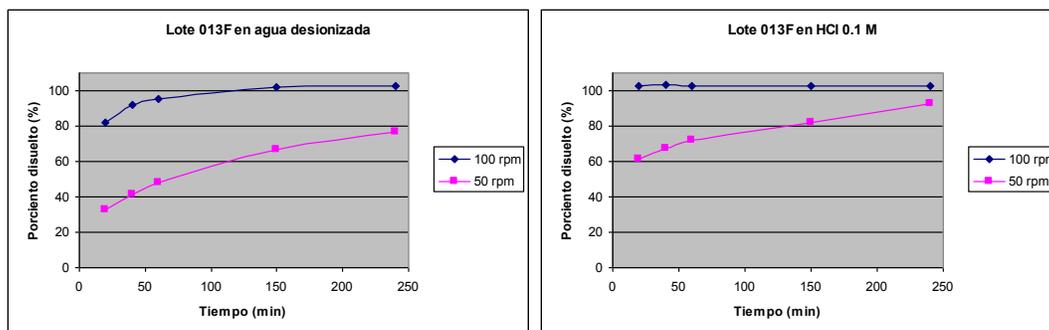


Figura 13: Porcentajes de recobro de la Ranitidina para la reproducibilidad del método.

El resto de los datos de los perfiles de disolución realizados se encuentra en el área de los anexos, ya que para la realización de los perfiles se tiene 36 resultados por lote analizado, 12 en agua a 100 RPM, 12 en HCl 0.1 M, 6 en agua a 50 RPM y 6 en HCl 0.1 M a 50 RPM, con las absorbancias obtenidas.

N. Evaluación de la efectividad terapéutica de la pasta flotante de Ranitidina y Simeticona

Este punto es la evaluación in vivo del desempeño de las pastas flotantes, la cual resultado ser la parte más complicada, ya que involucro la disponibilidad de los sujetos de experimentación y los instrumentos para realizar las endoscopias. La realización de la coordinación de la logística y el tiempo, fue lo más difícil ya que el endoscopio del Hospital de Equinos no estaba disponible por estar descompuesto, se dio un tiempo de 6 meses para esperar a que fuese reparado pero por el costo y falta de proveedores no se pudo reparar.

Por este motivo se procedió a cambiar esta última fase del estudio, ya que solo se podía solicitar un endoscopio cada determinado tiempo. Por este motivo se procedió a realizar la administración de la pasta a los 4 equinos que pertenecen al Hospital de Equinos de la FESC, esperando encontrar lesiones de úlcera en algún grado o bien probar con ellos el efecto profiláctico de la administración, durante un periodo de 15 días; para evaluar que los componentes de la formulación no cambien o modifiquen el equilibrio gastrointestinal de los equinos.

1.1 Endoscopias del estómago de los equinos del Hospital de la FESC.

Los equinos del Hospital de la FESC tienen su historial veterinario y su nombre de identificación, en general, se consideraron como equinos adultos sanos. Las imágenes Fig.29 (imágenes de la 1 – 8) pertenecen a “Chueco” en donde se añadió un agente de contraste a la formulación para evidenciar el paso de la pasta sobre el tracto GI ya que antes se realizó en “Magia” una endoscopia y no se pudo observar la presencia de la pasta ya que el color amarillo-beige que presenta es muy similar al del contenido estomacal y gracias a la agente de contraste de color azul hace evidente la presencia y el paso de la pasta en el tracto GI, en imágenes 1-4 se puede ver coloración del tránsito por la región del esófago, en la imágenes 4 – 8 muestra el interior del estómago y del contenido presente, haciendo evidente el *Margo plicatus* y la integridad de la región no glandular y la coloración uniforme de la región glandular.

Posteriormente en la Fig. 30 (imágenes de la 9 – 16) pertenecen a “Comanche” se mostró con mayor claridad el interior del estómago del equino, en donde, se observó una coloración más roja de la región no glandular, lo que indicaba una evidente aunque leve irritación, mayor presencia de moco amarillo y falta de continuidad en este revestimiento, en las imágenes de la 9 – 12 se empezó a hacer evidente el efecto de la simeticona sobre la espuma y el gas contenido, por cambio en la presencia de espuma, imágenes de la 15 y 16.

La Fig. 31 (imágenes de la 17 – 24) pertenecen a “Heidi” o “High D”, en donde con la ayuda del agente de contraste se observó el paso de la pasta, pero sobre todo la eliminación de la espuma a lo largo del tránsito, siguiendo con ayuda del endoscopio espuma acumulada, y el cambio que se da sobre esta cuando la Simeticona actúa, dispersando las burbujas en una mayor extensión lo que permitirá su ruptura y posterior

eliminación del gas contenido dentro de ellas, y en cuestión de úlceras solo se observó en algunas regiones ligeros cambios de tonalidad pero continuidad en el revestimiento.

Y por último se evaluó un video de una endoscopia, que permitió comparar la integridad del tracto GI de los equinos de la FESC, con el equino evaluado en el video, cuyo diagnóstico era una posible ulceración por el uso de AINE's, la Fig. 31 (imágenes de la 25 – 31), en donde, se observaron ulceraciones grado 2, tanto en el cardias, como en la región no glandular, presencia de espuma y pérdida de la continuidad y de la integridad de la mucosa del interior del estómago y una irritación en la región de la tráquea por las diversas endoscopias realizadas en un periodo de tiempo muy corto, ya que esta técnica veterinaria es altamente invasiva, aunque necesaria para evaluar el grado de EGUS.

1.2 Manejo del Sujeto de experimentación

Como se puede observar en la Fig. 32 (imágenes de la 32 – 39) el manejo de los equinos para la realización de la endoscopia, no es sencillo, y se requiere de personal altamente calificado en diversas áreas de la medicina veterinaria, para la administración de la anestesia, el control del equino durante este procedimiento, el manejo del endoscopio; por este motivo es que solo se evaluaron los tiempos 0 y 15 días después de comenzado el tratamiento, ya que la logística fue muy complicada, por la falta de un endoscopio propio; pero se pudo evaluar claramente que los componentes de la formulación no generan ningún malestar en el tracto GI del equino al cual le son administrados.

1.3 Administración de la pasta flotante

Para la administración de la pasta se procedió, para las primeras ocasiones (Fig. 33, imágenes de la 40 – 45) a la sujeción del animal en la jaula de manejo, pero después que se evidencio la forma correcta de cómo realizarla, solo se sujetaba al animal por la cabeza y se introducía por la región lateral de la boca, en la región más cercana a la base de la lengua, y se dispensaba con 10 ml de agua para generar la necesidad de deglución en el equino sin que exista perdida de la forma farmacéutica, pudiendo utilizar la misma jeringa para suministrar a otros equinos ya que nunca entró en contacto con los sujetos.

1.4 Obtención de muestra estomacal

Para este punto se utilizó a “Magia” a fin de extraer del interior de su estómago la mayor cantidad de líquido, (Fig. 34) para determinar el pH que presentaba el equino al momento de la extracción, encontrando un promedio de 6.5, lo que indica que la saliva está actuando como un agente tampón o búfer, manteniendo las condiciones cercanas a un pH neutro lo que protege de cierta forma la región no glandular; y al mismo tiempo se pudo evaluar el comportamiento que tendrá la pasta in vivo, ya que se preservó el líquido a 36° C, y se adiciono una cantidad determinada de la pasta.

Haciendo evidente que esta no flotaría hasta que se adicionara una cantidad de HCl concentrado para modificar y eliminar el efecto tampón de la saliva, por lo que se le adiciono 10 ml de una solución ácida concentrada y se observó que la pasta comenzó a flotar lentamente (Fig. 35) y además se disminuyó la claridad de la solución esto debido a la liberación de la Ranitidina y de la Simeticona en el líquido estomacal.

VIII. CONCLUSIONES

A. General

➤ Se obtuvieron 2 formulaciones con potencial para la fabricación a una escala industrial para que se utilicen como una opción terapéutica en el tratamiento de la úlcera gástrica en equinos, basados en un sistema flotante de polímero y bicarbonato de sodio, para aumentar el tiempo de permanencia en el estómago y mejorar su acción local.

B. Particulares

➤ Mediante el diseño de experimentos se estableció una formulación para aumentar el tiempo de permanencia en el estómago y garantizan la estabilidad de la formulación cuando menos por 3 meses.

➤ Las formulaciones farmacéuticas 007F, 010F y 013F fueron las más óptimas, y cumplieron con las pruebas de estabilidad, cuantificación y disolución para poder ser administradas a los equinos del Hospital de la FESC.

➤ Se validó el método analítico para cuantificar la cantidad de Ranitidina en la pasta flotante de Ranitidina y Simeticona y determinar la valoración, uniformidad y disolución; y asegurar la calidad del producto.

➤ La administración de forma profiláctica a los equinos del Hospital de la FESC, que la pasta no generó efectos secundarios o adversos, por lo que se puede utilizar como una opción terapéutica para el tratamiento de la úlcera gástrica.

IX. Anexos

A. Procedimientos

1.1 Procedimiento para la identificación de la Ranitidina

1. Pesar cantidades aproximadamente iguales de la materia prima de Ranitidina y el estándar de Ranitidina
2. Transferir cada una de las muestras de MP y STD con ayuda del pesa muestras.
3. A matraz aforado de 100 ml, enjuagar el pesa muestras con agua desionizada.
4. Agitar hasta completar la disolución y llevar a la marca de aforo con agua desionizada.
5. Invertir el matraz aforado, después de taparlo mínimo 3 veces, para asegurar el mezclado.
6. Tomar con ayuda de una pipeta volumétrica 4 ml de la solución de MP y transferir a un matraz aforado de 50 ml y llevar a la marca de aforo con agua desionizada. Tapar y agita 3 veces. **Sol. MP**
7. Tomar con ayuda de una pipeta volumétrica 4 ml de la solución de STD y transferir a un matraz aforado de 50 ml y llevar a la marca de aforo con agua desionizada. Tapar y agita 3 veces. **Sol. STD**
8. Encender el espectrofotómetro y verificar que está conectado al sistema informático de control.
9. Seleccionar Scan como método de análisis instrumental.
10. Establecer la región de análisis de 200 a 350 nm, ajustar a cero con agua desionizada.
11. Leer las diversas muestras usando como blanco agua desionizada, después la solución STD y posteriormente la solución MP.
12. Analizar los espectros obtenidos de las muestras y establecer los valles de los picos máximos para realizar las próximas mediciones.
13. Comparar los espectros obtenidos con la literatura para determinar si corresponden a Ranitidina.

1.2 Procedimiento para la identificación de la Simeticona

1. Colocar cantidades aproximadamente iguales de la materia prima de Simeticona y Ranitidina en 3 viales de vidrio.
2. Encender el NIR FOSS 2 horas antes para que la lámpara se estabilice y se pueda realizar la medición de la simeticona.
3. Iniciar con ayuda del sistema informático la preparación del instrumento para la medición de las muestras.
4. Realizar el ajuste del blanco como lo pide el sistema con la placa de porcelana para que se realice el ajuste a cero automático del instrumento.
5. Compactar las muestras de Simeticona, de forma homogénea para evitar variaciones por aire en las determinaciones.
6. Colocar las muestras en el sistema óptico del NIR, y leer en toda la región del infrarrojo cercano.
7. Comparar el espectro obtenido con la literatura para determinar que se trata de Simeticona.

1.3 Procedimiento para la identificación de los excipientes

1. Colocar cantidades aproximadamente iguales de los excipientes de las distintas formulaciones en 3 viales de vidrio.
2. Encender el NIR FOSS 2 horas antes para que la lámpara se estabilice y se pueda realizar la medición de la simeticona.
3. Iniciar con ayuda del sistema informático la preparación del instrumento para la medición de las muestras.
4. Realizar el ajuste del blanco como lo pide el sistema con la placa de porcelana para que se realice el ajuste a cero automático del instrumento.
5. Compactar las muestras de los excipientes, de forma homogénea para evitar variaciones por aire en las determinaciones.
6. Colocar las muestras en el sistema óptico del NIR, y leer en toda la región del infrarrojo cercano.
7. Comparar el espectro obtenido con la literatura para determinar que se trata del excipiente de interés.

1.4 Procedimiento para prueba de estabilidad del clorhidrato de Ranitidina en condiciones de estrés

1. Preparar una solución acuosa de concentración conocida de clorhidrato de Ranitidina.
2. Dispensar aproximadamente 25 ml de esta solución en los frascos de color ámbar y transparentes
3. Sellar con tapón de hule y retapa de aluminio para evitar evaporación y contaminación por microorganismos.
4. Etiquetar la muestra, y adicionar como corresponda cada uno de los agentes químicos de estrés (HCl 1 M, NaOH 1M y el H₂O₂ al 30%) y dejar una muestra como control.
5. Para la evaluación del efecto de la temperatura someter muestras iguales a temperatura ambiente (aprox. 20° C) y a 60° C.
6. Para evaluar el efecto de la luz colocar una muestra de clorhidrato de Ranitidina en viales transparentes con tapón de hule y retapa de aluminio, expuestos a la luz de laboratorio
7. Esta prueba se realiza por un periodo de tiempo de 1 mes.
8. Evaluar como respondió el clorhidrato de Ranitidina en solución a las pruebas a las que fue sometido.

1.5 Procedimiento para prueba de incompatibilidades entre los activos y los excipientes propuestos para el desarrollo de la forma farmacéutica.

1. Pesar en la balanza analítica cantidades iguales (aproximadamente 500 mg) de los activos y los excipientes a evaluar por infrarrojo cercano.
2. Mezclar todas las posibles combinaciones entre fármaco vs. excipientes estableciendo una mezcla 1:1 partes
3. Dejar por un periodo de 1 mes en condiciones ambientales, la mezcla física a evaluar.
4. Después del periodo de tiempo, colocar una muestra de la mezcla en un vial de vidrio para evaluar en el infrarrojo cercano
5. Compactar la muestra y leer en el NIR hasta obtener las lecturas de reflectancia de todas las combinaciones y evaluar si existe un cambio en la huella química inicial.

6. Comparar las respuestas iniciales y finales de este estudio en caso de sospechar de una interacción proceder a determinar la segunda derivada que proporciona el equipo y determinar si hay cambios en la respuesta.

1.6 Determinación de las estabilidades visuales de las formulaciones flotantes y densas, humectadas con propilenglicol y agua purificada.

1. Separar por lotes y agrupar las seis fórmulas que componen cada paquete de formulaciones, una semana después de haberlas fabricado.
2. Ordenarlas de forma ascendente en cuanto a cantidad de polímero y presencia de bicarbonato de sodio y humectante utilizado.
3. Evaluar principalmente de forma visual si hay separación entre el agente humectante y el resto de los componentes de la fórmula, contaminación por microorganismos (principalmente hongos), cambios de color.
4. Anotar los cambios físicos que se noten comparando con las fotografías tomadas al momento de la preparación, y volverlas a cerrar en el envase de polipropileno.
5. Pasado un mes de la fabricación separar por lotes y agrupar las seis fórmulas que componen cada paquete de formulaciones.
6. Y evaluar principalmente de forma visual si hay separación entre el agente humectante y el resto de los componentes de la fórmula, contaminación por microorganismos (principalmente hongos), cambios de color.
7. Anotar los cambios físicos que se noten comparando con las fotografías tomadas al momento de la preparación, y volverlas a cerrar en el envase de polipropileno.

1.7 Determinación del contenido químico de Ranitidina en las formulaciones flotantes seleccionadas.

1. De las formulaciones flotantes seleccionadas que pasaron la inspección de estabilidad visual y física una semana después de su fabricación.
2. Se toma una muestra de 1.1 gr de pasta de Ranitidina y Simeticona, y se disuelve en agua desionizada aforando a 100 ml, se filtran 10 ml de esta muestra. Concentración aproximada de 6000 µg / ml de Ranitidina.

3. Se toma 1 ml del filtrado de la solución anterior y se trasfiere a un matraz aforado de 100 ml y se lleva a la marca de aforo con agua desionizada. Concentración aproximada de 60 μg / ml de Ranitidina.
4. Se toman 4 ml de la solución anterior, y se transfieren a un matraz de 10 ml y se lleva a la marca de aforo con agua desionizada. La concentración aproximada es de 24 μg / ml de Ranitidina. **SOL. A**
5. Se prepara un estándar de clorhidrato de Ranitidina, pesando 30 mg de STD de Ranitidina, y transfiriéndolos a un matraz aforado de 100 ml, disolviendo y aforando en agua desionizada. 300 μg / ml de Ranitidina.
6. Se toman 8 ml de la solución anterior, y se transfieren a un matraz de 100 ml y se lleva a la marca de aforo con agua desionizada. La concentración aproximada es de 24 μg / ml de Ranitidina. **SOL. B o STD**
7. Se comparan la absorbancia de la SOL. A contra las de la SOL.B y, tomando en consideración el peso y a la pureza del estándar y el peso de la muestra, para determinar la cantidad real que se adicione a los matraces.
8. Y se determina la cantidad del contenido químico de Ranitidina tomando este resultado como el tiempo 0.
9. Posteriormente se compara con la realización de una nueva determinación siguiendo los pasos 2, 3 y 4 de este procedimiento para el contenido químico, pero con la muestra de la pasta seleccionada 3 meses después de su fabricación para determinar que aun cumple con el contenido químico.

1.8 Procedimiento para el llenado mecánico del sistema dosificador de la pasta flotante de Ranitidina y Simeticona.

1. Cortar 10 trozos de 15 cm de manguera de silicona de calibre 3/8 de pulgada y pesarlas, para obtener un peso promedio.
2. Las restantes 200 mangueras obtenerlas por el corte directo y comprobar con su peso que cumplen con el peso promedio obtenido en el punto anterior.
3. Posteriormente cargar la manga (doble bolsa de plástico) del sistema de llenado mecánico (engrasadora manual) con la formulación correspondiente.
4. Llenar cada una de las mangueras hasta aproximadamente 12 cm. lineales, insertando la boquilla de la engrasadora en uno de los extremos de la manguera

5. Tarar con una manguera vacía cortada cada 20 muestras, para asegurar que se está llenando las mangueras con 6 g de pasta equivalente a una dosis para un equino de 500 Kg.
6. Pesar al llegar aproximadamente a los 12 cm y determinar el peso tratando de que la variación sea $\pm 5\%$ del contenido establecido de 6 g por muestra, es decir, que el peso en la manguera cargada sea entre 5.7 g y no más de 6.3 g.
7. Sellar con silicón caliente los extremos y verificar que no hay fugas, dejando el dispositivo por 1 hora de forma vertical.
8. Marcar los sitios de corte con un plumón indeleble, para ajustar en caso de que sea necesario por peso, basados en que cada centímetro lineal equivale aproximadamente a 0.5 g de muestra de la pasta.
9. Etiquetar con código de color las distintas formulaciones.
 - a. Rojo = Pasta a base de HPMC K4M
 - b. Amarillo = Pasta a base de HPMC K100M
 - c. Verde = Pasta a base de alginato de sodio
10. Colocar los dispositivos dosificadores protegidos de la luz, en un contenedor de color oscuro.

1.9 Procedimiento para la evaluación de la flotabilidad y el boyeo de la pasta de Ranitidina y Simeticona

1. Colocar aproximadamente 500 ml de HCl 0.1 M, a 37° C, en dos vasos de precipitados para evaluar el tiempo de flotación.
2. Adicionar con ayuda de una jeringa de boca ancha el equivalente de 500 mg de la pasta flotante de Ranitidina y Simeticona.
3. Determinar el tiempo en que la pasta tarda en reaccionar con el ácido clorhídrico y formar dióxido de carbono, alrededor de la pasta y comience a flotar.
4. Evaluar este tiempo para cada una de las formulas seleccionadas, en modo estático y dinámico, es decir, sin y agitación usando una barra magnética.
5. Y determinar el tiempo que la pasta flotara (tiempo de boyeo) cuando entre en contacto con la región acidificada del estómago, este tiempo definirá la permanencia de la pasta en la región estomacal.

1.10 Procedimiento para la evaluación de la capacidad antiespumante de la pasta de Ranitidina y Simeticona

1. Colocar aproximadamente 500 ml de HCl 0.1M con espuma por agitación de una solución detergente, en dos vasos de precipitados para evaluar el tiempo en que se elimina la espuma
2. Adicionar con ayuda de una jeringa de boca ancha el equivalente de 500 mg de la pasta flotante de Ranitidina y Simeticona.
3. Determinar de forma cualitativa en 15 min. la cantidad espuma que contiene el vaso de precipitados.
4. Evaluar este tiempo para cada una de las formulas seleccionadas, en modo estático y dinámico, es decir, sin y agitación usando una barra magnética.
5. Y determinar el tiempo que tardara la pasta en eliminar teóricamente la espuma, cuando entre en contacto con la espuma presente en el contenido del estómago del equino.

1.11 Determinación de la valoración de Ranitidina por espectrofotometría UV- Vis en los lotes piloto de la pasta flotante de Ranitidina y Simeticona.

1. Se toman de cada lote a evaluar, tres muestras de 1.1 gr de pasta de Ranitidina y Simeticona, y se disuelve en agua desionizada aforando a 100 ml, se filtran con papel Whatmann aproximadamente 10 ml de muestra. Concentración aproximada de 6000 μg / ml de Ranitidina.
2. Se toma 1 ml del filtrado de la solución anterior y se trasfiere a un matraz aforado de 100 ml y se lleva a la marca de aforo con agua desionizada. Concentración aproximada de 60 μg / ml de Ranitidina.
3. Se toman 4 ml de la solución anterior, y se transfieren a un matraz de 10 ml y se lleva a la marca de aforo con agua desionizada. La concentración aproximada es de 24 μg / ml de Ranitidina. **SOL MTA**
4. Se prepara un estándar de clorhidrato de Ranitidina, pesando 30 mg de STD de Ranitidina, y transfiriéndolos a un matraz aforado de 100 ml, disolviendo y aforando en agua desionizada. 300 μg / ml de Ranitidina.

5. Se toman 8 ml de la solución anterior, y se transfieren a un matraz de 100 mL y se lleva a la marca de aforo con agua desionizada. La concentración aproximada es de 24 μg / ml de Ranitidina. **SOL. STD**
6. Se comparan la absorbancia de la SOL MTA contra las de la SOL. STD y, tomando en consideración el peso y a la pureza del estándar y el peso de la muestra, para determinar la cantidad real que se adicione a los matraces.
7. Y se determina la cantidad promedio del triplicado de muestras de Ranitidina y compara contra el STD, convirtiendo el resultado a porcentaje para expresar la valoración y su conversión a mg Ranitidina por gr de pasta, el criterio de aceptación indica según la guía de validación que la valoración se debe encontrar entre el 90 - 110 % de la cantidad indicada en el marbete de la pasta.

1.12 Determinación de la uniformidad de contenido en los lotes piloto de la pasta flotante de Ranitidina y Simeticona.

1. Se toman de cada lote a evaluar, 10 muestras de 1.1 gr de pasta de Ranitidina y Simeticona, y se disuelve en agua desionizada aforando a 100 ml, se filtran con papel Whatmann aproximadamente 10 ml de muestra. Concentración aproximada de 6000 μg / ml de Ranitidina.
2. Se toma 1 ml del filtrado de la solución anterior y se transfiere a un matraz aforado de 100 ml y se lleva a la marca de aforo con agua desionizada. Concentración aproximada de 24 μg / ml de Ranitidina.
3. Se toman 4 ml de la solución anterior, y se transfieren a un matraz de 10 ml y se lleva a la marca de aforo con agua desionizada. La concentración aproximada es de 24 μg / ml de Ranitidina. **MTA UC**
4. Se comparan la absorbancia de la MTA UC contra en promedio de todas las muestras obtenidas estableciendo los criterios que marca la FEUM undécima edición utilizando la ecuación $|M - X| + ks$, donde K es 2.4 y s es la desviación estándar de la muestra.
5. El criterio de aceptación indica según la guía de validación que la valoración se debe encontrar entre el 80 - 120 % con respecto al peso promedio de las muestras y la FEUM indica que dependiendo de la prueba que se realice $L1 = 15$ o menos en porcentaje del valor obtenido.

1.13 Evaluación de la prueba de disolución en ácido clorhídrico de los lotes piloto de la pasta flotante de Ranitidina y Simeticona.

1. Se enciende el disolutor y se programa para que mantenga el baño de recirculación a 37° C, y se calibran los vástagos de las canastillas.
2. Se vierte en cada uno de los vasos del disolutor 900 ml de HCl 01 M, sin enzimas, evitando en la medida de lo posible la introducción de aire en el medio.
3. Se pesa directamente en las canastillas aproximadamente 1.1 g de la pasta de cada uno de los lotes seleccionados, se realizaran 2 perfiles completos de 6 canastillas cada uno, para cumplir con el criterio que indica la FEUM 11^a ed. para la prueba de disolución evaluando $S_2 = 12$ muestras.
4. Se anota el peso que se adiciono en cada una de las canastillas para posteriores aclaraciones en caso de obtener alguna respuesta anómala.
5. Se colocan las canastillas inmediatamente después de pesarlas en la balanza analítica, en orden ascendente de número de lote que presenten como identificación.
6. Se procede a realizar la disolución con una agitación de 100 rpm.
7. Se verifica que no se formen burbujas de aire en la base de las canastillas al momento de introducirlas en el ácido clorhídrico, si existen se retiran con ayuda de una cánula.
8. Se toman muestras de 5 ml del medio de disolución de cada vaso del disolutor a los 20, 40, 60, 150 y 240 minutos, para establecer un perfil de disolución.
9. De las muestras anteriores se toma 1mL de la muestra y se coloca en un matraz aforado de 25 ml, se lleva al volumen de aforo con el mismo medio de disolución (HCl 0.1 M)
10. Se lee la muestra a 223 nm, para determinar el porcentaje disuelto a los diversos intervalos de tiempo evaluados.
11. Se grafican los resultados y se determinan que entre ellos no existan un CV mayor del 20% para la primera muestra y no mayor de 10% para el resto de los puntos.
12. El criterio de aceptación indica que S_2 , el promedio de 12 unidades ($S_1 + S_2$) es igual o mayor que Q y que ninguna unidad es menor a $Q - 15\%$.

1.14 Evaluación de la prueba de disolución en agua desionizada de los lotes piloto de la pasta flotante de Ranitidina y Simeticona.

1. Se enciende el disolutor y se programa para que mantenga el baño de recirculación a 37° C, y se calibran los vástagos de las canastillas.
2. Se vierte en cada uno de los vasos del disolutor 900 ml de agua desionizada, sin enzimas, evitando en la medida de lo posible la introducción de aire en el medio.
3. Se pesa directamente en las canastillas aproximadamente 1.1 g de la pasta de cada uno de los lotes seleccionados, se realizaran 2 perfiles completos de 6 canastillas cada uno, para cumplir con el criterio que indica la FEUM 11^a ed. para la prueba de disolución evaluando $S_2 = 12$ muestras.
4. Se anota el peso que se adiciono en cada una de las canastillas para posteriores aclaraciones en caso de obtener alguna respuesta anómala.
5. Se colocan las canastillas inmediatamente después de pesarlas en la balanza analítica, en orden ascendente de número de lote que presenten como identificación.
6. Se procede a realizar la disolución con una agitación de 100 rpm.
7. Se verifica que no se formen burbujas de aire en la base de las canastillas al momento de introducirlas en el agua desionizada, si existen se retiran con ayuda de una cánula.
8. Se toman muestras de 5 ml del medio de disolución de cada vaso del disolutor a los 20, 40, 60, 150 y 240 minutos, para establecer un perfil de disolución.
9. De las muestras anteriores se toma 1mL de la muestra y se coloca en un matraz aforado de 25 ml, se lleva al volumen de aforo con el mismo medio de disolución (agua desionizada)
10. Se lee la muestra a 313 nm, para determinar el porcentaje disuelto a los diversos intervalos de tiempo evaluados.
11. Se grafican los resultados y se determina que entre ellos no existan un CV mayor del 20% para la primera muestra y no mayor de 10% para el resto de los puntos.
12. El criterio de aceptación indica que S_2 , el promedio de 12 unidades ($S_1 + S_2$) es igual o mayor que Q y que ninguna unidad es menor a $Q - 15\%$.

1.15 Procedimiento para la realización de la endoscopia en equinos del Hospital de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán.

1. Informar al Responsable del Hospital de Equinos el plan de trabajo.
2. Preparar las muestras necesarias suficientes del lote seleccionado de la pasta.
3. Contener las muestras en un recipiente para un mejor control de las mismas.
4. Preparar todo el material necesario para el sondeo, endoscopia, administración y toma de muestras, previa consulta con el experto Veterinario.
5. Ingresar con la indumentaria adecuada según corresponda, siguiendo la normativa de las instalaciones del Hospital de equinos.
6. Solicitar el apoyo del MVZ del área clínica del Hospital de Equinos de la FESC.
7. Verificar y evaluar las condiciones del grupo de sujetos de experimentación (disponibilidad)
8. Evaluar sus expedientes clínicos y seleccionar los sujetos de experimentación (Min. 3 equinos)
9. Establecer el plan de trabajo con el MVZ encargado.
10. Informar y leer el protocolo de experimentación para la administración y toma de muestras.
11. Proceder en el horario diurno para la realización del control y manejo del sujeto de experimentación (paciente), la administración por peso de la pasta, y en caso de ser necesario la toma de muestra por el MVZ encargado de acuerdo al plan de trabajo ya establecido.

1.16 Manejo del Sujeto de experimentación

1. Informar al Responsable del Hospital de Equinos el plan de trabajo.
2. Con el apoyo del MVZ del área clínica del Hospital de Equinos de la FESC, retirar al sujeto de experimentación del establo o cuadra.
3. Ubicarla en el sitio de contención y manejo para realizar el procedimiento. De ser necesario asegurar al sujeto para evitar riesgos al mismo y al personal médico.
4. Preparar el material para la realización del procedimiento de sondeo, endoscopia, administración de la pasta y toma de sangre.

1.17 Obtención de muestra estomacal e imágenes de las úlceras

1. Realizar el procedimiento de sondeo usando un tubo nasogástrico, vía nasal previa lubricación con agua o gel según recomiende le MVZ encargado.
2. Realizar la toma de muestra del contenido estomacal en ayunas para determinar el pH previo al inicio del tratamiento.
 - a. La obtención generalmente se realiza mediante succión por la sonda nasogástrica. La cantidad necesaria es alrededor de 10 ml.
3. Colectar la muestra en un recipiente previamente identificado, tapar.
4. Posteriormente introducir el endoscopio por la sonda y buscar una lesión ulcerosa en la zona escamosa o el límite de la región escamosa-glandular del equino que permita fotografiar, medir y seguir la evolución de esta lesión para evaluar la eficacia del tratamiento. (Los días 1, 15 y 30).
 - a. En caso de encontrar múltiples lesiones seleccionar los casos más extremos (min y máx.) según la escala internacional de clasificación de úlceras, para determinar el potencial cicatrizante y de recuperación.
 - b. En caso de no encontrar en estas áreas una lesión, proceder con el tratamiento para demostrar su efecto profiláctico en el sujeto y tener evidencia de la prevención del padecimiento al final del tratamiento.

1.18 Administración de la pasta flotante de Ranitidina y Simeticona

1. Después retirar la sonda naso-gástrica del sujeto, verificar la cantidad de la pasta a administrar, mediante una jeringa con dosificador en la región profunda de la boca.
2. Administrar al sujeto de experimentación, la cantidad ya determinado de acuerdo a su peso.
 - a. Para evitar que el equino entre en contacto con el sabor amargo de la Ranitidina y se ponga ansioso
 - b. Hacerlo lo mas rápido posible y dejar que el equino vuelva a un estadio de reposo, de ser necesario suministrar agua, o bien, un poco de alimento.
3. Retirar al animal de la jaula de contención y llevarlo a su caballeriza.
4. Dejar que el sujeto continué con su vida cotidiana en el hospital de equinos de la FESC.

B. Formulaciones de las pasta de Ranitidina y Simeticona

Tabla 31. Descripción de los porcentajes de las seis formulaciones de la pasta de Ranitidina y Simeticona utilizando diferentes proporciones de Carbomero, bicarbonato utilizando propilenglicol como agente humectante.

Composición	Porcentaje (%) de los activos y excipientes.					
Lotes	002	002F	003	003F	004	004F
Ranitidina	55.00	55.00	55.00	55.00	55.00	55.00
Simeticona	8.33	8.33	8.33	8.33	8.33	8.33
Carbopol 971P	0.50	0.50	1.00	1.00	2.00	2.00
Propilenglicol	36.15	35.90	35.65	34.65	34.65	32.65
Bicarbonato Na	--	0.25	--	1.00	--	2.00
Optiphen	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02

Tabla 32. Descripción de los porcentajes de las seis formulaciones de la pasta de Ranitidina y Simeticona utilizando diferentes proporciones de HPMC K100M, bicarbonato utilizando propilenglicol como agente humectante.

Composición	Porcentaje (%) de los activos y excipientes.					
Lotes	005	005F	006	006F	007	007F
Ranitidina	55.00	55.00	55.00	55.00	55.00	55.00
Simeticona	8.33	8.33	8.33	8.33	8.33	8.33
HPMC K100M	1.25	1.25	2.50	2.50	5.00	5.00
Propilenglicol	35.40	35.15	34.15	33.15	31.65	29.65
Bicarbonato Na	--	0.25	--	1.00	--	2.00
Optiphen	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02

Tabla 33. Descripción de los porcentajes de las seis formulaciones de la pasta de Ranitidina y Simeticona utilizando diferentes proporciones de HPMC K4M, bicarbonato utilizando propilenglicol como agente humectante.

Composición	Porcentaje (%) de los activos y excipientes.					
Lotes	008	008F	009	009F	010	010F
Ranitidina	55.00	55.00	55.00	55.00	55.00	55.00
Simeticona	8.33	8.33	8.33	8.33	8.33	8.33
HPMC K4M	1.25	1.25	2.50	2.50	5.00	5.00
Propilenglicol	35.40	35.15	34.15	33.15	31.65	29.65
Bicarbonato Na	--	0.25	--	1.00	--	2.00
Optiphen	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02

Tabla 34. Descripción de los porcentajes de las seis formulaciones de la pasta de Ranitidina y Simeticona utilizando diferentes proporciones de Alginato de sodio, bicarbonato utilizando propilenglicol como agente humectante.

Composición	Porcentaje (%) de los activos y excipientes.					
Lotes	011	011F	012	012F	013	013F
Ranitidina	55.00	55.00	55.00	55.00	55.00	55.00
Simeticona	8.33	8.33	8.33	8.33	8.33	8.33
Alginato de Na	1.25	1.25	2.50	2.50	5.00	5.00
Propilenglicol	32.40	32.15	31.15	30.15	28.65	26.65
Bicarbonato	--	0.25	--	1.00	--	2.00
Carbonato Ca	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
Optiphen	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02

C. Disolución

1.19 Resultados de las absorbancias de los perfiles de disolución para los lotes 007F, 010F y 013F en agua y HCl 0.1N

Perfil de disolución de la pasta flotante Lote: 007F en agua					
Muestra	Absorbancia prom/Tiempo (min)				
	20	40	60	150	240
1	0.5856	0.7402	0.8393	1.0322	1.1147
2	0.6353	0.8146	0.9298	1.1177	1.1493
3	0.6135	0.7490	0.8504	1.0690	1.1237
4	0.6641	0.8116	0.8842	1.1308	1.1258
5	0.6976	0.8392	1.0393	1.2164	1.1676
6	0.6656	0.8976	1.0078	1.1417	1.1068
7	0.5856	0.7402	0.8393	1.0322	1.1147
8	0.6353	0.8146	0.9298	1.1177	1.1493
9	0.6135	0.7490	0.8504	1.0690	1.1237
10	0.6641	0.8116	0.8842	1.1308	1.1258
11	0.7976	0.9392	1.0393	1.2164	1.1676
12	0.7656	0.8976	1.0078	1.1417	1.1696

Perfil de disolución de la pasta flotante Lote: 007F en ácido					
Muestra	Absorbancia prom/Tiempo (min)				
	20	40	60	150	240
1	1.5680	1.6007	1.5984	1.5979	1.6089
2	1.4994	1.5217	1.5148	1.5279	1.5519
3	1.5111	1.5500	1.5079	1.5895	1.5793
4	1.5280	1.5727	1.5766	1.5603	1.6179
5	1.5902	1.5630	1.5869	1.5841	1.5616
6	1.5973	1.5898	1.5727	1.5524	1.5263
7	1.5580	1.6007	1.5954	1.5979	1.5989
8	1.4894	1.5237	1.5145	1.5779	1.5819
9	1.5121	1.5525	1.5023	1.5895	1.5793
10	1.5250	1.5707	1.5824	1.5503	1.6179
11	1.5922	1.5605	1.5869	1.5841	1.5661
12	1.5953	1.5860	1.5827	1.5824	1.5936

Perfil de disolución de la pasta flotante Lote: 010F en agua					
Muestra	Absorbancia prom/Tiempo (min)				
	20	40	60	150	240
1	0.8421	0.9768	1.0494	1.1332	1.1286
2	0.8875	1.0044	1.0626	1.1049	1.1364
3	0.9181	1.0109	1.0077	1.1435	1.1764
4	0.9293	1.0465	1.0882	1.137	1.1786
5	0.9987	1.0682	1.0996	1.164	1.1373
6	0.8459	0.9638	0.9971	1.122	1.1235
7	0.8381	0.9712	1.044	1.1298	1.1228
8	0.8696	1.0006	1.0563	1.1272	1.1289
9	0.8996	1.0049	1.0021	1.0992	1.1684
10	0.9125	1.0549	1.0794	1.1378	1.1717
11	0.9836	1.0625	1.0925	1.1568	1.1283
12	0.8377	0.9585	1.0916	1.1567	1.117

Perfil de disolución de la pasta flotante Lote: 010F en ácido					
Muestra	Absorbancia prom/Tiempo (min)				
	20	40	60	150	240
1	1.5680	1.6007	1.5984	1.5979	1.6089
2	1.4994	1.5217	1.5148	1.5279	1.5519
3	1.5111	1.5500	1.5079	1.5895	1.5793
4	1.5280	1.5727	1.5766	1.5603	1.6179
5	1.5902	1.5630	1.5869	1.5841	1.5616
6	1.5973	1.5898	1.5727	1.5524	1.5263
7	1.5580	1.6007	1.5954	1.5979	1.5989
8	1.4894	1.5237	1.5145	1.5779	1.5819
9	1.5121	1.5525	1.5023	1.5895	1.5793
10	1.5250	1.5707	1.5824	1.5503	1.6179
11	1.5922	1.5605	1.5869	1.5841	1.5661
12	1.5953	1.5860	1.5827	1.5824	1.5936

Perfil de disolución de la pasta flotante Lote: 013F en agua					
Muestra	Absorbancia prom/Tiempo (min)				
	20	40	60	150	240
1	0.8421	0.9768	1.0494	1.1332	1.1286
2	0.8875	1.0044	1.0626	1.1049	1.1364
3	0.9181	1.0109	1.0077	1.1435	1.1764
4	0.9293	1.0465	1.0882	1.137	1.1786
5	0.9987	1.0682	1.0996	1.164	1.1373
6	0.8459	0.9638	0.9971	1.122	1.1235
7	0.8381	0.9712	1.044	1.1298	1.1228
8	0.8696	1.0006	1.0563	1.1272	1.1289
9	0.8996	1.0049	1.0021	1.0992	1.1684
10	0.9125	1.0549	1.0794	1.1378	1.1717
11	0.9836	1.0625	1.0925	1.1568	1.1283
12	0.8377	0.9585	1.0916	1.1567	1.117

Perfil de disolución de la pasta flotante Lote: 013F en ácido					
Muestra	Absorbancia prom/Tiempo (min)				
	20	40	60	150	240
1	1.5680	1.6007	1.5984	1.5979	1.6089
2	1.4994	1.5217	1.5148	1.5279	1.5519
3	1.5111	1.5500	1.5079	1.5895	1.5793
4	1.5280	1.5727	1.5766	1.5603	1.6179
5	1.5902	1.5630	1.5869	1.5841	1.5616
6	1.5973	1.5898	1.5727	1.5524	1.5263
7	1.5580	1.6007	1.5954	1.5979	1.5989
8	1.4894	1.5237	1.5145	1.5779	1.5819
9	1.5121	1.5525	1.5023	1.5895	1.5793
10	1.5250	1.5707	1.5824	1.5503	1.6179
11	1.5922	1.5605	1.5869	1.5841	1.5661
12	1.5953	1.5860	1.5827	1.5824	1.5936

1.20 Resultados de los porcentajes acumulados y su Gráfico correspondiente de los perfiles de disolución para los lotes 007F, 010F y 013F en agua y HCl 0.1N

Perfil de disolución de la pasta flotante Lote: 007F en agua					
Muestra	mg del analito disueltos /Tiempo (min)				
	20	40	60	150	240
1	51.07	64.20	72.39	88.52	95.06
2	55.41	70.65	80.19	95.86	98.01
3	53.51	64.96	73.34	91.68	95.83
4	57.92	70.39	76.26	96.98	96.01
5	60.84	72.78	89.64	104.32	99.57
6	58.05	77.85	86.92	97.91	94.39
7	51.07	64.20	72.39	88.52	95.06
8	55.41	70.65	80.19	95.86	98.01
9	53.51	64.96	73.34	91.68	95.83
10	57.92	70.39	76.26	96.98	96.01
11	69.56	81.46	89.64	104.32	99.57
12	66.77	77.85	86.92	97.91	99.74
Promedio	57.59	70.86	79.79	95.88	96.92
Des.Est	5.77	5.82	6.83	5.19	1.95
C.V	10.02	8.21	8.56	5.42	2.01
Minimo	51.07	64.20	72.39	88.52	94.39
Maximo	69.56	81.46	89.64	104.32	99.74

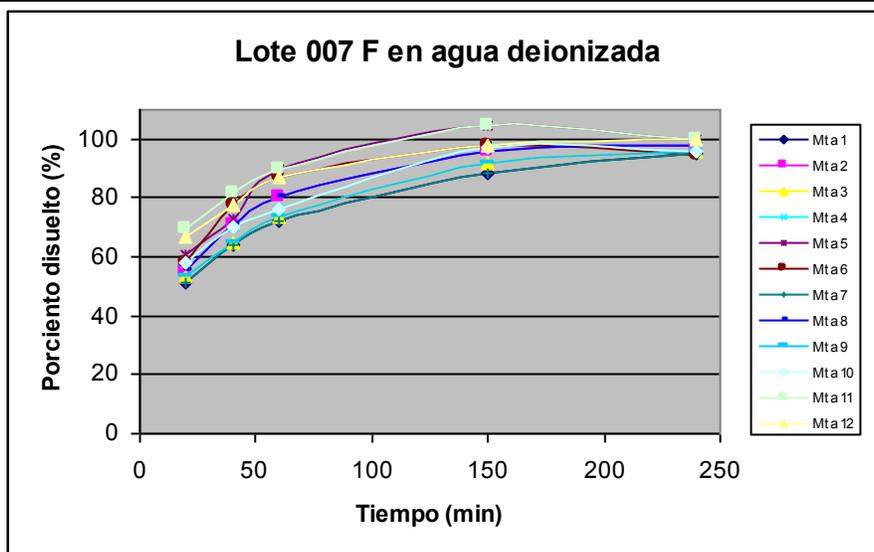


Fig. 54. Resultados de los porcentajes acumulados y su Gráfico correspondiente de los perfiles de disolución para los lotes 007F, 010F y 013F en agua y HCl 0.1N

Perfil de disolución de la pasta flotante Lote: 007F en ácido					
Muestra	mg del analito disueltos /Tiempo (min)				
	20	40	60	150	240
1	102.13	103.69	102.96	102.35	102.47
2	97.67	99.12	98.67	99.52	101.09
3	98.43	100.96	98.22	103.54	102.87
4	99.53	102.44	102.69	101.63	105.39
5	103.58	101.81	103.37	103.18	101.72
6	104.04	103.55	102.44	101.12	99.42
7	101.48	104.26	103.92	104.08	104.15
8	97.02	99.25	98.65	102.78	103.04
9	98.49	101.13	97.86	103.54	102.87
10	99.33	102.31	103.07	100.98	105.39
11	103.71	101.65	103.37	103.18	102.01
12	103.91	103.31	103.09	103.07	103.80
Promedio	100.78	101.96	101.53	102.41	102.85
Des.Est	2.65	1.66	2.38	1.34	1.72
C.V	2.63	1.63	2.35	1.31	1.67
Minimo	97.02	99.12	97.86	99.52	99.42
Maximo	104.04	104.26	103.92	104.08	105.39

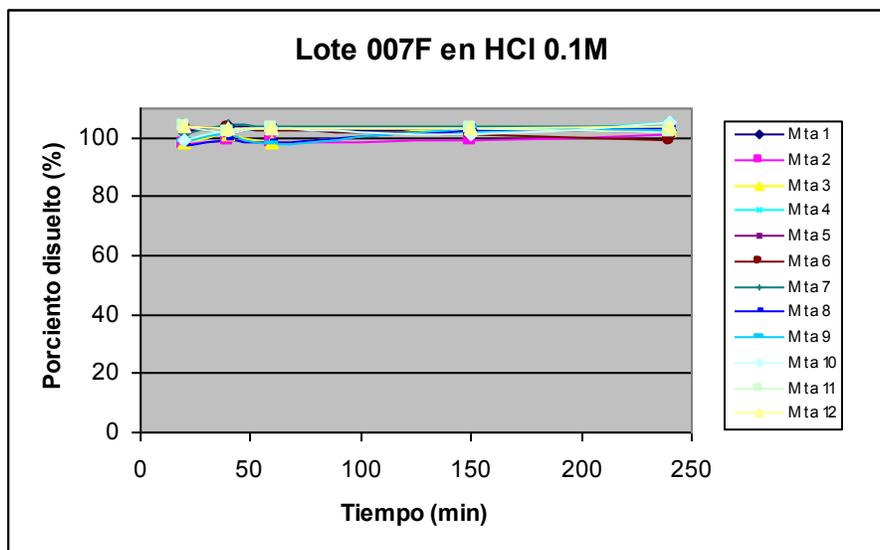


Fig. 55. Resultados de los porcentajes acumulados y su Gráfico correspondiente de los perfiles de disolución para los lotes 007F, 010F y 013F en agua y HCl 0.1N

Perfil de disolución de la pasta flotante Lote: 010F en agua					
Muestra	mg del analito disueltos /Tiempo (min)				
	20	40	60	150	240
1	77.12	88.95	95.03	102.04	101.06
2	81.27	91.47	96.23	99.50	101.75
3	84.08	92.06	91.26	102.97	105.34
4	85.10	95.30	98.55	102.39	105.53
5	91.46	97.28	99.58	104.82	101.84
6	77.46	87.77	90.30	101.04	100.60
7	76.75	88.44	94.54	101.74	100.54
8	79.63	91.12	95.66	101.50	101.08
9	82.38	91.51	90.75	98.98	104.62
10	83.56	96.07	97.75	102.46	104.92
11	90.07	96.76	98.94	104.17	101.03
12	76.71	87.29	98.85	104.16	100.02
Promedio	82.13	92.00	95.62	102.15	102.36
Des.Est	5.02	3.58	3.35	1.78	2.09
C.V	6.11	3.89	3.50	1.75	2.05
Minimo	76.71	87.29	90.30	98.98	100.02
Maximo	91.46	97.28	99.58	104.82	105.53

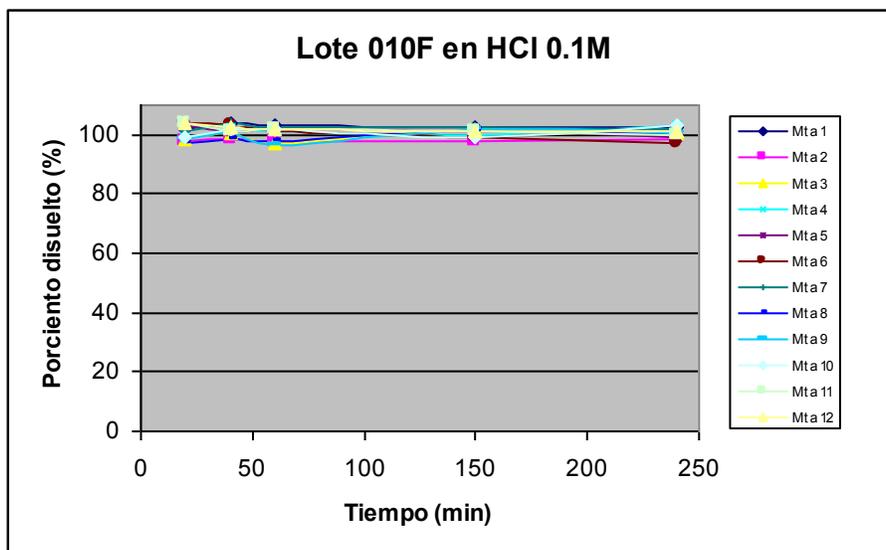


Fig. 56. Resultados de los porcentajes acumulados y su Gráfico correspondiente de los perfiles de disolución para los lotes 007F, 010F y 013F en agua y HCl 0.1N

Perfil de disolución de la pasta flotante Lote: 010F en ácido					
Muestra	mg del analito disueltos /Tiempo (min)				
	20	40	60	150	240
1	104.08	105.66	104.92	104.30	104.42
2	99.53	100.45	99.43	99.73	100.72
3	100.30	102.31	98.98	103.75	102.50
4	101.43	103.81	103.49	101.84	105.01
5	105.55	103.17	104.16	103.40	101.35
6	106.03	104.94	103.23	101.33	99.06
7	103.42	105.66	104.72	104.30	103.77
8	98.86	100.58	99.41	102.99	102.67
9	100.37	102.48	98.61	103.75	102.50
10	101.23	103.68	103.87	101.19	105.01
11	105.69	103.01	104.16	103.40	101.64
12	105.89	104.69	103.89	103.29	103.43
Promedio	102.70	103.37	102.41	102.77	102.67
Des.Est	2.71	1.74	2.49	1.43	1.79
C.V	2.63	1.69	2.43	1.39	1.75
Minimo	98.86	100.45	98.61	99.73	99.06
Maximo	106.03	105.66	104.92	104.30	105.01

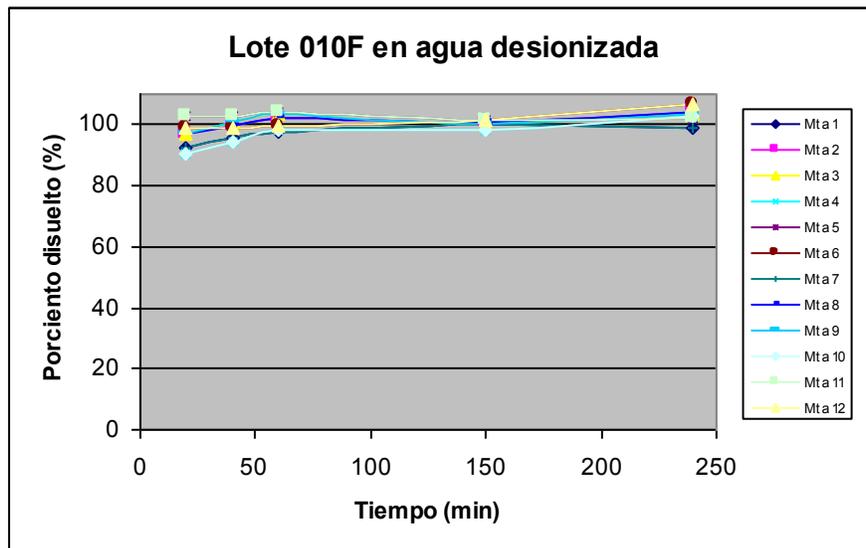


Fig. 57. Resultados de los porcentajes acumulados y su Gráfico correspondiente de los perfiles de disolución para los lotes 007F, 010F y 013F en agua y HCl 0.1N

Perfil de disolución de la pasta flotante Lote: 013F en agua					
Muestra	mg del analito disueltos /Tiempo (min)				
	20	40	60	150	240
1	77.12	88.95	95.03	102.04	101.06
2	81.27	91.47	96.23	99.50	101.75
3	84.08	92.06	91.26	102.97	105.34
4	85.10	95.30	98.55	102.39	105.53
5	91.46	97.28	99.58	104.82	101.84
6	77.46	87.77	90.30	101.04	100.60
7	76.75	88.44	94.54	101.74	100.54
8	79.63	91.12	95.66	101.50	101.08
9	82.38	91.51	90.75	98.98	104.62
10	83.56	96.07	97.75	102.46	104.92
11	90.07	96.76	98.94	104.17	101.03
12	76.71	87.29	98.85	104.16	100.02
Promedio	82.13	92.00	95.62	102.15	102.36
Des.Est	5.02	3.58	3.35	1.78	2.09
C.V	6.11	3.89	3.50	1.75	2.05
Minimo	76.71	87.29	90.30	98.98	100.02
Maximo	91.46	97.28	99.58	104.82	105.53

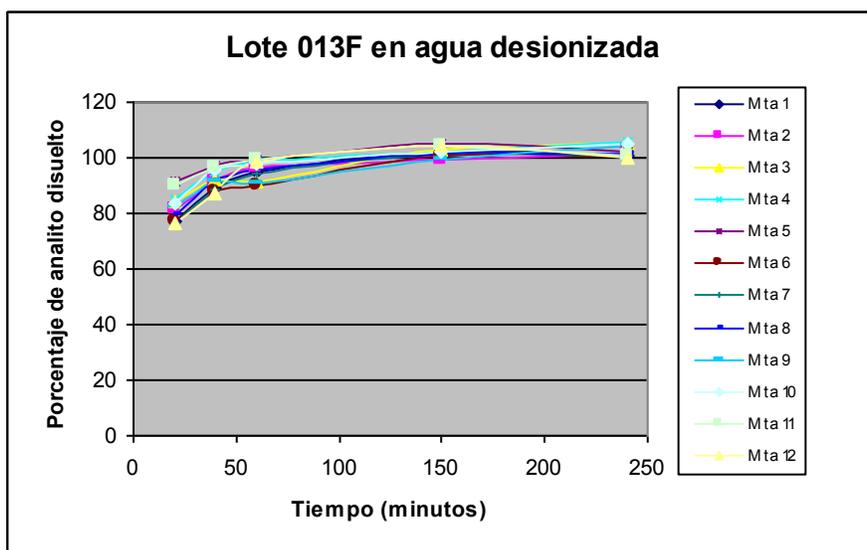


Fig. 58. Resultados de los porcentajes acumulados y su Gráfico correspondiente de los perfiles de disolución para los lotes 007F, 010F y 013F en agua y HCl 0.1N

Perfil de disolución de la pasta flotante Lote: 013F en ácido					
Muestra	mg del analito disueltos /Tiempo (min)				
	20	40	60	150	240
1	104.08	105.66	104.92	104.30	104.42
2	99.53	100.45	99.43	99.73	100.72
3	100.30	102.31	98.98	103.75	102.50
4	101.43	103.81	103.49	101.84	105.01
5	105.55	103.17	104.16	103.40	101.35
6	106.03	104.94	103.23	101.33	99.06
7	103.42	105.66	104.72	104.30	103.77
8	98.86	100.58	99.41	102.99	102.67
9	100.37	102.48	98.61	103.75	102.50
10	101.23	103.68	103.87	101.19	105.01
11	105.69	103.01	104.16	103.40	101.64
12	105.89	104.69	103.89	103.29	103.43
Promedio	102.70	103.37	102.41	102.77	102.67
Des.Est	2.71	1.74	2.49	1.43	1.79
C.V	2.63	1.69	2.43	1.39	1.75
Minimo	98.86	100.45	98.61	99.73	99.06
Maximo	106.03	105.66	104.92	104.30	105.01

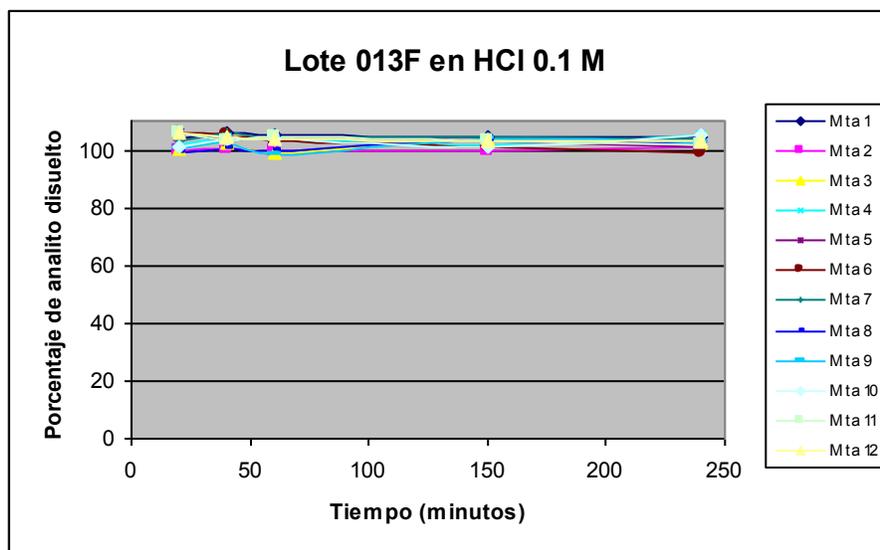


Fig. 59. Resultados de los porcentajes acumulados y su Gráfico correspondiente de los perfiles de disolución para los lotes 007F, 010F y 013F en agua y HCl 0.1N

X. BIBLIOGRAFÍA

Aashima Hoodaa y colab, 2012. Optimization and evaluation of gastroretentive ranitidine HCl microspheres by using design expert software. *International Journal of Biological Macromolecules*, Volumen 51, pp. 691-700.

Abolfazl Aslani, H. J, y colab. 2013. Formulation, Characterization and Physicochemical Evaluation of Ranitidine Effervescent Tablets. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 3(2), pp. 315-322.

Al Jassim R, y colab. 2009. The Bacterial Community of the Horse Gastrointestinal Tract and Its Relation to Fermentative Acidosis, Laminitis, Colic, and Stomach Ulcers. *Veterinary Clinical Equine* , Volumen 25, pp. 199 - 215.

Andrews, y colab. 2002. Comparison of endoscopic, necropsy and histology scoring of equine gastric ulcers. *Equine Veterinary Journal*, 34(5), pp. 475-478.

Andrews, F.M., Bernard, W., Byars, D., Cohen, N., Divers, T., MacAllister, C., McGladdery, A., Merritt, A., Murray, J., Orsini, J., Snyder, J., Vatisas, N., 1999. Recommendations for the diagnosis and treatment of equine gastric ulcer syndrome (EGUS). *Equine Vet. Educ.* 11, 262–272.

Andrews, F.M., Buchanan, B.R., Elliot, S.B., Clariday, N.A., Edwards, L.H., 2005. Gastric ulcers in horses. *J. Anim. Sci.* 83, E18–E21.

Andrews, F.M., Sifferman, R.L., Bernard, W., Hughes, F.H., Holste, J.E., Daurio, C.P., Alva, R. and Cox, J.L., 1999. Efficacy of Omeprazole paste in the treatment and prevention of gastric ulcers in horses. *Equine vet. J., Suppl.* 29, 81-86.

Anon. y colab. 1999. Recommendations for the diagnosis and treatment of equine gastric ulcer syndrome (EGUS). *Equine Vet Educ*;1(2):122–34.

Buchanan B, A. F., 2003. Treatment and prevention of equine gastric ulcer syndrome. *Vet Clin Equine* 19 , Volumen 19, pp. 575 - 597.

Cardinal, J.R. and Witchey-Lakshmann, L.C., 1992.. In Treatise on Controlled Drug Delivery. *Drug delivery in veterinary medicine* (Ch. 10), (A. Kydonieus, ed.), pp. 465–489

Carsten Staszky, H. J. S. G. G., 2001. Mucosal microvasculature of the gastric pars nonglandularis and margo plicatus in the horse: A scanning electron microscopic study on corrosion casts. *ANNALS OF ANATOMY*, Volumen 183, pp. 255-259.

Choi, B.Y., Park, H.J., Hwang, S.J., Park, J.B., 2002. Preparation of alginate beads for floating drug delivery system: effects of CO2 gas-forming agents. *Int. J. Pharm.* 239, 81–91.

Daly K, Stewart CS, Flint HJ, et al., 2001. Bacterial diversity within the equine large intestine as revealed by molecular analysis of cloned 16S rRNA genes. *FEMS Microbiol Ecol* ;38 :141–51.

Daurio CP, Holste JE, Andrews FM, et al.,1999. Effect of omeprazole paste on gastric acid secretion in horses. 29:59–62. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, Volumen 32, pp. 463 - 471.

Dhara Raijada, C. C. J. R., 2013. A high throughput platform for understanding the influence of excipients on physical and chemical stability. *International Journal of Pharmaceutics* , Volumen 483, pp. 285-292.

Dicks L, B. M. D. E. B. M., 2014. The equine gastro-intestinal tract: An overview of the microbiota, disease and treatment. *Livestock Science*, Volumen 160, pp. 69 - 81.

Douglas E Moore, T. X. L. a. W. G. M. A. E. E., 2002. A RP-LC method with evaporative light scattering detection for the assay of simethicone in pharmaceutical formulations. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Volumen 30, pp. 273-278.

Epstein K, S. D. P. E. R. V. S. L., 2008. GASTROINTESTINAL ULTRASONOGRAPHY IN NORMAL ADULT PONIES. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, 49(3), pp. 282-286.

Frances Stops, J. T. F. , J. H. C. , L. G. M., 2008. Floating dosage forms to prolong gastro-retention—The characterisation of calcium alginate beads. *International Journal of Pharmaceutics* , Volumen 350, pp. 301-311.

Gharti KP, T. P. B. U. B. A., 2014. Formulation and in vitro hydroxypropyl methylcellulose and polyethylene oxide using ranitidine hydrochloride as a model drug. *Journal of Young Pharmacists Vol 4*, 4(201), pp. 201-208.

Iannuccelli, V., Coppi, G., Bernabei, M.T., Cameroni, R., 1998. Air compartment multiple-unit system for prolonged gastric residence. Part I. Formulation study. *Int. J. Pharm.* 174, 47–54.

Imran Ahmed, K. K., 2002. Pharmaceutical challenges in veterinary product development. *Advanced Drug Delivery Reviews* , Volumen 54 , pp. 871-882.

Jain S, S. M. N. C. R. S. S. A., 2014. Development of a Floating Dosage Form of Ranitidine Hydrochloride by Statistical Optimization Technique. *Journal of Young Pharmacists* , 2(4), pp. 342-349.

Jens Malmkvista, J. M. P. N. L. R. P. W. C. E. S., 2012. Behaviour and stress responses in horses with gastric ulceration. *Applied Animal Behaviour Science*, Volumen 142, pp. 160-167.

Kitagami K, Y. J., 1990. NSAID induced gastroduodenal lesions in patients with rheumatoid arthritis. *Japan Gastroent*, Volumen 87, pp. 2025-2026.

Kortejarvi H, Y. M. D. J. J. H. M. H. V. B. D., 2005. Biowaiver Monographs for Immediate Release Solid Oral Dosage Forms: Ranitidine Hydrochloride. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 94(8), pp. 1617-1625.

Lee, J. H., Park, T. G., & Cho, H. K., 1999. Development of oral drug delivery system using floating microspheres. *Journal of Microencapsulation*, 16(6), 715–729.

M. Varloud, A. R. , P. B. , V. J., 2007. A technique for the collection and the study of biochemical and microbial characteristics of postprandial gastric contents from conscious horses. *Animal Feed Science and Technology*, Volumen 133, pp. 259-274.

MacAllister CG, Morgan SJ, Borne AT, et al., 1993. Comparison of adverse effects of phenylbutazone, flunixin meglumine, and ketoprofen in horses. *J Am Vet Med Assoc*; 202(1):71–7.

Martindale. 2004. In: Sweetman S, editor. Martindale: The complete drug reference. London UK: Pharmaceutical Press. Electronic version, Thomson MICROMEDEX, Greenwood Village, Colorado.

McGovernin C, H. L. Z. J. S. C. G. K. R. T., 2006. Quantification of binary polymorphic mixtures of ranitidine hydrochloride using NIR spectroscopy. *Vibrational Spectroscopy*, Volumen 46, pp. 225 - 231.

Muniyandy Saravanana, B. A., 2011. Development and evaluation of ethylcellulose floating microspheres loaded with ranitidine hydrochloride by novel solvent evaporation-matrix erosion method. *Carbohydrate Polymers*, Volumen 85, pp. 592-598.

Murata, Y., Sasaki, N., Miyamoto, E., Kawashima, S., 2000. Use of floating alginate gel beads for stomach-specific drug delivery. *Eur. J. Pharm. Sci.* 50, 221–226.

Murray MJ, Eichorn ES. 1996. Effects of intermittent feed deprivation, intermittent feed deprivation with ranitidine administration and stall confinement with ad libitum access to hay on gastric ulceration in horses. *Am J Vet Res*;57(11): 1599–603.

Murray, M.J., Haven, M.L., Eichorn, E.S., Zhang, D., Eagleson, J.S. and Hickey, G.J., 1997. Effects of omeprazole on healing of naturally occurring gastric ulcers in Thoroughbred race horses. *Equine vet. J.* 29, 425-429.

Ninan Ma, L. X. Q. X. Z. Z. Y. L. L. J. S. L., 2008. Development and evaluation of new sustained-release floating microspheres. *International Journal of Pharmaceutics* , Volumen 358 , pp. 82-90.

Orsini JA, Dreyfuss DJ, Vecchione J, et al., 1991. Effects of a histamine type-2 receptor antagonist (BMY-25368) on gastric secretion in horses. *Am J Vet Res*; 53(1): 108–10.

Pallab Roy, A. S., 2009. Statistical optimization of ranitidine HCl floating pulsatile delivery system for chronotherapy of nocturnal acid breakthrough. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, Volumen 37, pp. 363-369.

Rabuffo T, H. E. G. N. R. B. O. J., 2009. Prevalence of Gastric Ulcerations in Horses with Colic. *Equine Veterinary Science* , 29(6), pp. 540 - 546.

Rabuffo TS, Orsini JA, Sullivan E, Engiles J, Norman T, Boston R., 2002. Association between age or sex and prevalence of gastric ulceration in Standardbred racehorses in training. *J Am Vet Med Assoc*; 221(8):1156–9.

Rathbone Michael J, M. M. N., 2002. Modified release drug delivery in veterinary medicine. *Drug Discovery Today*, 7(15), pp. 823-829.

Rathbone, M.J. and Gurny, R. 2000 Controlled Release Veterinary Drug Delivery: Biological and Pharmaceutical Considerations. (Chapters 2–10), pp. 17–309, Elsevier Science Publishers

Rothen-Weinhold A, D. M. R. G., 2000. Formulation and technology aspects of controlled drug delivery in animals. *Pharmaceutical Science & Technology Today*, 3(7), pp. 222-231.

Rothen-Weinhold, A. et al., 2000. Formulation and technology aspects of controlled drug delivery in animals. *Pharm. Sci. Technol. Today* 3, 222–231

Rowe RC; Sheskey PJ; Quinn ME, Handbook of Pharmaceutical Excipients. 6th Edition ed.; Pharmaceutical Press: London, 2009.

Sangalli, M.E., Maroni, A., Zema, L., Buseti, C., 2001. In vitro and in vivo evaluation of an oral system for time and/or site-specific drug delivery. *J. Control. Release* 73, 103–110.

Saranjit Singh, M. J. G. M. H. T. M. K. N. P. S., 2013. Forced degradation studies to assess the stability of drugs and products. *Trends in Analytical chemistry* , Volumen 49 , pp. 71-88.

Sarisuta N, L. P. P. S. S. K., 2006. The Influence of Drug-Excipient and Drug-Polymer Interactions on Butt Adhesive Strength of Ranitidine Hydrochloride Film-Coated Tablets.

Singh, B. N., & Kim, K. H., 2000. Floating drug delivery systems—An approach to oral controlled drug delivery via gastric retention. *Journal of Controlled Release*, 63, 235–259.

Sonali S. Bharate, S. B. B. A. N. B., 2010. Interactions and incompatibilities of pharmaceutical excipients with active pharmaceutical ingredients: a comprehensive review. *Journal Excipients and Food Chem*, 1(3), pp. 3-26.

Soppimath, K.S., 2001. Microspheres as floating drug-delivery systems to increase gastric retention of drugs. *Drug Metab. Rev.* 33, 149–160

Videla R, A. F., 2009. New Perspectives in Equine Gastric Ulcer Syndrome. *Veterinary Clinical Equine* , Volumen 25, pp. 283-301.

Whitehead, L., Fell, J.T., Collett, J.H., Sharma, H.L., Smith, A.M., 1998. Floating dosage forms: an in vivo study demonstrating prolonged gastric retention. *J. Control. Release* 55, 3–12.

Υ Ω 

Α τ8 χη ν7νκα μ3 Ηαζ δ3ξαδ9 υ Ηαβιτασ δεντρ9 δε μ8

Πα_ρα χε ν7νκα σα_λγ_ας α λα λμζ

π9ρ 3λ β8εν δελ μμνδ9 εν ελ χε Ηο6 εξιστ9

υ π9ρ ελ μί9 πρ9π89;

σ3 χε σ8εμπρ3 3ςταρεμ9ς ξμντος 3ν μν δ3λικάδ9 ε1ιλιβ4ιο

3ντ4ε ελ μαλ υ 3λ β83ν

Ηας5α 3λ φ8ναλ δ3 λ9ς δ7ας...

Atte: HCF