



---

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**DESARROLLO FARMACÉUTICO DEL CLORHIDRATO DE  
ENROFLOXACINA, SOLUCIÓN OFTÁLMICA PRODUCTO DE USO  
VETERINARIO**

***TESIS***

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA**

**PRESENTA**

**NALLELY ARENAS MARTÍNEZ.**

**Director de Tesis:**

**Dr. Jorge Esteban Miranda Calderón**



**Ciudad Universitaria, CD. MX.**

**2017**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

---

## **JURADO ASIGNADO:**

**PRESIDENTE:**           **Profesor: M. en C. María Eugenia Ivette Gómez Sánchez**

**VOCAL:**                   **Profesor: Dr. Jorge Esteban Miranda Calderón**

**SECRETARIO:**       **Profesor: Q.F.B David Bravo Leal**

**1er. SUPLENTE:**       **Profesor: M. en C. María Del Rosario López García**

**2° SUPLENTE:**       **Profesor: M. en C. Sergio Alberto Bernal Chávez**

## **SITIOS DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:**

**LABORATORIO 2317, DEPARTAMENTO DE FISIOLOGÍA Y FARMACOLOGÍA DE LA FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA, CIUDAD UNIVERSITARIA, UNAM Y LABORATORIO N-106, DEPARTAMENTO DE SISTEMAS BIOLÓGICOS UAM-XOCHIMILCO.**

## **ASESOR DEL TEMA:**

\_\_\_\_\_

**DR. JORGE E. MIRANDA CALDERÓN**

## **SUPERVISOR TÉCNICO:**

\_\_\_\_\_

**DR. HÉCTOR S. SUMANO LÓPEZ**

## **SUSTENTANTE:**

\_\_\_\_\_

**NALLELY ARENAS MARTÍNEZ**

---

ÍNDICE:

<b>1. Introducción.....</b>	<b>1</b>
1.1 Planteamiento del problema:.....	2
<b>2. Objetivos .....</b>	<b>4</b>
<b>3. Hipótesis .....</b>	<b>4</b>
<b>4. Antecedentes .....</b>	<b>5</b>
4.1 Salud animal.....	5
4.2 Anatomía ocular.....	5
4.2.1 Infecciones oculares .....	7
4.2.2 Conjuntiva y conjuntivitis .....	8
4.2.3 Etiología y microorganismos patógenos asociados .....	9
4.2.4 Aspectos clínicos de la conjuntivitis.....	10
4.2.5 Tratamiento farmacológico.....	11
4.3 Enrofloxacin y clorhidrato de enrofloxacin.....	12
4.3.1 Descubrimiento .....	14
4.3.2 Sinónimos .....	15
4.3.3 Formula molecular y estructura.....	15
4.3.4 Peso molecular .....	16
4.3.5 Solubilidad .....	16
4.3.6 Mecanismo de acción .....	17
4.3.7 Farmacocinética.....	18
4.3.8 Indicación terapéutica .....	19
4.3.9 Interacción con otros medicamentos y efectos adversos .....	20
4.4 Desarrollo de formas farmacéuticas oftálmicas .....	22

---

4.4.1 Solución oftálmica .....	23
4.4.2 Ventajas y desventajas de las soluciones oftálmicas .....	23
4.4.3 Formulación (Principio activo y excipientes) .....	24
4.5 Aspectos normativos nacionales (México) para la regulación de productos de uso y consumo veterinario.....	25
4.5.1 Registro de medicamentos de uso animal .....	27
4.5.2 Expediente de registro sanitario.....	28
<b>5. Desarrollo experimental .....</b>	<b>30</b>
5.1 Preformulación .....	31
5.1.1 Apariencia del fármaco .....	31
5.1.2 pH.....	31
5.1.3 Solubilidad .....	31
5.1.4 Reología (Densidad aparente y compactada, velocidad de flujo y ángulo de reposo) .....	32
5.1.5 Análisis térmicos.....	34
5.2 Formulación .....	35
5.3 Producción de una solución oftálmica con clorhidrato de enrofloxacin .....	36
5.4 Evaluación de la Solución Oftálmica de Clorhidrato de Enrofloxacin .....	37
5.4.1 Apariencia.....	37
5.4.2 pH.....	37
5.4.3 Reología.....	37
5.4.4 Viscosidad .....	38
5.4.5 Valoración.....	38
5.5 Etiquetado y acondicionamiento. ....	39
5.6 Evaluación de la estabilidad.....	39

---

5.6.1 Apariencia .....	40
5.6.2 Valoración .....	40
5.6.3 Análisis por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) .....	40
5.7 Actividad antimicrobiana <i>in vitro</i> de la solución oftálmica con clorhidrato de enrofloxacin .....	41
5.8 Capacidad antimicrobiana <i>in vivo</i> de la solución oftálmica con clorhidrato de enrofloxacin .....	43
<b>6. Resultados y discusión de resultados .....</b>	<b>44</b>
6.1 Preformulación .....	44
6.1.1 Apariencia del principio activo .....	44
6.1.2 pH .....	45
6.1.3 Solubilidad .....	45
6.1.4 Reología (Densidad aparente y compactada, velocidad de flujo y ángulo de reposo) .....	46
6.1.5 Análisis térmico .....	47
6.2 Formulación .....	52
6.3 Fabricación de una solución oftálmica con clorhidrato de enrofloxacin .....	54
6.4 Evaluación de la solución oftálmica de clorhidrato de enrofloxacin .....	56
6.4.1 Apariencia .....	56
6.4.2 pH .....	57
6.4.3 Reología de la solución oftálmica de clorhidrato de enrofloxacin .....	57
6.4.4 Viscosidad .....	59
6.4.5 Valoración .....	59
6.5 Etiquetado y acondicionamiento .....	61
6.6 Estudios de estabilidad .....	62

---

6.6.1 Apariencia .....	63
6.6.3 Análisis por cromatografía líquida de alta resolución (CLAR) .....	65
6.7 Actividad antimicrobiana in vitro de la solución oftálmica con clorhidrato de enrofloxacin .....	68
6.8 Capacidad antimicrobiana <i>in vivo</i> de la solución oftálmica con clorhidrato de enrofloxacin .....	70
<b>7. Conclusiones .....</b>	<b>73</b>
<b>8. Perspectivas .....</b>	<b>74</b>
<b>9. Bibliografía.....</b>	<b>75</b>
<b>10. Apéndices .....</b>	<b>82</b>
Apéndice I Termogramas y Calorimetría Diferencial de Barrido.....	82
Apéndice II Elaboración de solución oftálmica con clorhidrato de enrofloxacin.....	89
Apéndice III Especificaciones PT para solución oftálmica de clorhidrato de enrofloxacin .....	94
Apéndice IV Certificado de producto terminado .....	95
Apéndice V Procedimiento de acondicionamiento.....	96
Apéndice VI Marbete- Etiqueta .....	98
Apéndice VII Protocolo de estabilidad acelerada.....	100

---

## ÍNDICE DE CUADROS

	<b>Título:</b>	<b>Página</b>
<b>Cuadro 1</b>	Aspectos clínicos en los dos grados de conjuntivitis, aguda y grave.	10
<b>Cuadro 2</b>	Efectos adversos presentes en algunos pacientes tratados con quinolonas y su frecuencia de incidencia.	21
<b>Cuadro 3</b>	Ventajas y desventajas del uso de soluciones oftálmicas.	24
<b>Cuadro 4</b>	Capacidad de la solubilidad	31
<b>Cuadro 5</b>	Índice de compresibilidad e Índice de Hausner	32
<b>Cuadro 6</b>	Aptitud de deslizamiento, Capacidad de flujo de polvos	33
<b>Cuadro 7</b>	Identificación de las muestras de análisis termogravimétrico TGA y Calorimetría diferencial de barrido DSC.	34
<b>Cuadro 8</b>	Formulación de la solución oftálmica de clorhidrato de enrofloxacin, componentes y función de cada uno.	35
<b>Cuadro 9</b>	Identificación de las soluciones preparadas para la curva estándar y sus respectivas concentraciones.	42
<b>Cuadro 10</b>	Solubilidad del clorhidrato de enrofloxacin	46
<b>Cuadro 11</b>	Reología del clorhidrato de enrofloxacin.	46
<b>Cuadro 12</b>	Apariencia de los tres lotes de solución oftálmica de clorhidrato de enrofloxacin.	56

---

	<b>Título:</b>	<b>Página</b>
<b>Cuadro 13</b>	Determinación del pH de 3 soluciones oftálmicas de clorhidrato de enrofloxacin a una temperatura de 25°C.	57
<b>Cuadro 14</b>	Viscosidad de tres lotes de solución oftálmica de clorhidrato de enrofloxacin.	59
<b>Cuadro 15</b>	Reporte del estudio de estabilidad acelerada de la Solución oftálmica de clorhidrato de enrofloxacin	63
<b>Cuadro 16</b>	Valores de las absorbancias de los espectros de las soluciones oftálmicas a diferentes tiempos	65
<b>Cuadro 17</b>	<i>Tiempos de retención, Áreas Bajo la Curva del análisis de la referencia y de dos muestras tras el sometimiento a estabilidades. Concentración y porcentaje.</i>	68
<b>Cuadro 18</b>	Valores de los halos de inhibición de crecimiento bacteriano para la Curva estándar con enrofloxacin	69
<b>Cuadro 19</b>	Valores de los Halos de inhibición de crecimiento bacteriano de la solución oftálmica de clorhidrato de enrofloxacin.	69

---

---

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Título:	Página
Figura 1	Anatomía del ojo de perro.	6
Figura 2	Estructura química del ácido nalidíxico.	13
Figura 3	Estructura química de las fluoroquinolonas.	13
Figura 4	Estructura química de la enrofloxacin.	15
Figura 5	Estructura química del clorhidrato de enrofloxacin.	16
Figura 6	Mecanismo de acción de las fluoroquinolonas.	18
Figura 7	Imagen de los cristales de clorhidrato de enrofloxacin por microscopia electrónica de barrido	44
Figura 8	Termograma que posee una mezcla de clorhidrato de enrofloxacin y Manitol (CMA-I).	48
Figura 9	Termograma que contiene clorhidrato de enrofloxacin disuelto en agua (CENR-II).	48
Figura 10	Termograma de una mezcla de clorhidrato de enrofloxacin y polivinilpirrolidona PVP (CPY-I).	49
Figura 11	Termograma que posee una mezcla de agua, clorhidrato de enrofloxacin y propilenglicol (ACPG-I).	50
Figura 12	Termograma de la mezcla de clorhidrato de enrofloxacin disuelto en agua (CRIE-II).	51

---

---

	<b>Título:</b>	<b>Página</b>
Figura 13	Termograma de clorhidrato de enrofloxacin, agua, PVP K-30 y propilenglicol mezclados (SOLOFT).	51
Figura 14	Espectro ultravioleta de agua -PVP K-30	53
Figura 15	Espectro UV de agua-propilenglicol	53
Figura 16	Espectro Ultravioleta de la solución oftálmica de clorhidrato de enrofloxacin	54
Figura 17	Diagrama del proceso de fabricación de la solución oftálmica de clorhidrato de enrofloxacin.	55
Figura 18	Curvas de viscosidad de la solución oftálmica de clorhidrato de enrofloxacin.25° y 37°C	58
Figura 19	Curva estándar de la enrofloxacin a 278 nm	59
Figura 20	Espectro UV de la solución oftálmica de clorhidrato de enrofloxacin en estabilidades 1	60
Figura 21	Proyecto de etiqueta de la solución oftálmica de clorhidrato de enrofloxacin.	62
Figura 22	Espectro UV de la solución oftálmica de clorhidrato de enrofloxacin en estabilidades 2	64
Figura 23	Cromatograma de la solución Oftálmica de clorhidrato de enrofloxacin	66
Figura 24	Cromatograma de la solución oftálmica de clorhidrato de enrofloxacin	66

---

---

	<b>Título:</b>	<b>Página</b>
Figura 25	Cromatograma de la solución de referencia de clorhidrato de enrofloxacin	67
Figura 26	Cromatograma de la solución de referencia de clorhidrato de enrofloxacin	67
Figura 27	Fotografía de los caninos candidatos a tratamiento con las gotas oftálmicas de clorhidrato de enrofloxacin.	71
Figura 28	Fotografía de los caninos tratados con las gotas oftálmicas de clorhidrato de enrofloxacin.	72

---

---

## ISTA DE ABREVIATURAS

---

<b>ABREVIATURA</b>	<b>SIGNIFICADO</b>
OIE	Organización Mundial de Sanidad Animal
HPLC	Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución
UV	Ultravioleta
$\lambda$	Longitud de onda
NOM	Norma Oficial Mexicana
pH	Potencial de Hidrogeno
ADN	Ácido Desoxiribonucleico
ATP	Adenosin trifosfato
CAS	Chemical Abstracts Service
pKa	Constante de disociación ácida
N <sub>2</sub>	Nitrógeno
AcN	Acetonitrilo
MeOH	Metanol
H <sub>2</sub> O	Agua
PVP	Polivinilpirrolidona

---

<b>ABREVIATURA</b>	<b>SIGNIFICADO</b>
PG	Propilenglicol
HCl	Ácido Clorhídrico
PA	Principio activo
IFA	Ingrediente Farmacéutico Activo
FF	Forma Farmacéutica
Nm	Nanómetro
µm	Micrómetro
cm	Centímetro
µg	Microgramo
mg	Miligramo
Kg	Kilogramo
µL	Microlitro
mL	Mililitro
L	Litro
s	Segundo
min	Minuto
Hr	Hora
°C	Grados Celsius /Centígrados

<b>ABREVIATURA</b>	<b>SIGNIFICADO</b>
%	Por ciento
$\bar{x}$	Promedio
S	Desviación estándar
CV	Coeficiente de variación
BPF	Buenas Prácticas de Fabricación
$t_R$	Tiempo de retención
ABC	Área Bajo la Curva
Stdr	Estándar
MPa	Megapascales
rpm	Revoluciones por minuto
ATCC	American Type Culture Collection
Abs	Absorbancia
cbp	Cuanto baste para
Cps	Centipoise
HR	Humedad relativa
m/v	Masa en volumen
MGA	Método General de Análisis
MM	Masa molecular

---

<b>ABREVIATURA</b>	<b>SIGNIFICADO</b>
SAGARPA	Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación
SENASICA	Servicio Nacional de Sanidad Inocuidad y Calidad Agroalimentaria

---

---

## 1. Introducción

El bienestar animal es un tema complejo y multifacético en el que intervienen aspectos científicos, éticos, económicos, culturales, sociales, religiosos y políticos, y en el que la sociedad cada vez se interesa más, por ello, es un ámbito que resulta prioritario para la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE, por sus siglas en inglés).<sup>1</sup>

Las enfermedades oculares se presentan en los perros con gran frecuencia y van desde ligeras infecciones que son fáciles de tratar, hasta complicaciones graves que podrían conducir a la pérdida total y permanente de la vista.<sup>6</sup> Es por ello, que se necesita la asistencia veterinaria oportuna y un producto farmacéutico de acción inmediata desde el primer momento para evitar daños irreparables.

Un compuesto puede atravesar una membrana biológica mediante difusión simple, sin embargo, se requiere que esté se encuentre disuelto en el medio acuoso que rodea a las células. Para la elaboración de medicamentos es muy importante considerar la solubilidad acuosa del o de los principios activos, ya que el entendimiento completo de sus propiedades es esencial para el desarrollo de una formulación.

La pobre o baja solubilidad de algunos fármacos dificulta su manejo, dosificación y/o administración, así como su absorción y biodisponibilidad. La mejora de la biodisponibilidad de fármacos de baja solubilidad en agua sigue siendo uno de los aspectos que presentan mayores desafíos para el desarrollo farmacéutico. Se reconoce que más del 90% de los fármacos mencionados en la Farmacopea estadounidense (USP, por sus siglas en inglés) vigente<sup>7</sup> presentan mala solubilidad y esta complicación no es exclusiva de medicamentos de uso humano. El incremento de la solubilidad acuosa de fármacos se ha estudiado mediante diferentes enfoques, tales como: la conversión de una molécula cristalina a su

---

estado amorfo, formación de sales, el uso de cosolventes o tensoactivos, preparación de pro-fármacos o la formación de complejos de inclusión.

La enrofloxacin es uno de los antimicrobianos más potentes y uno de los más utilizados en la medicina veterinaria, tanto para los animales de compañía como para los animales productores de alimentos. La enrofloxacin tiene la desventaja de poseer baja solubilidad, lo que impide su uso en sistemas acuosos. En la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM, se concibió la modificación de la enrofloxacin (solicitud de patente en México No.MX/a/2013/014603) donde se logró la formación de la sal de clorhidrato de enrofloxacin. Esta sal es 20 veces más soluble que su precursor enrofloxacin base y llega a presentar de 3-5 veces más biodisponibilidad.<sup>23</sup>

Las implicaciones clínicas que a este antibiótico conciernen se encuentran la reducción de generación de cepas resistentes de bacterias en el ámbito veterinario, así como el alcance de concentraciones terapéuticas con mayor facilidad para enfermedades en las que habitualmente no se elegía enrofloxacin.

#### 1.1 Planteamiento del problema:

Actualmente se presenta una alta incidencia en enfermedades oculares, la conjuntivitis es la número uno. Teniendo en cuenta también la creciente resistencia a antibióticos aminoglucósidos. Se decide preparar una solución oftálmica con clorhidrato de enrofloxacin. Dada la mejor solubilidad del clorhidrato de enrofloxacin, se decidió llevar a cabo el desarrollo farmacéutico de una solución oftálmica con clorhidrato de enrofloxacin para atender conjuntivitis de etiología bacteriana presente en perros.

Para cumplir este objetivo, se realizó el proyecto teniendo en cuenta la regulación nacional aplicable en la República mexicana actualmente y colocando en este trabajo parte de la documentación necesaria para la conformación un expediente de registro sanitario para un producto farmacéutico de uso veterinario.

---

Se considero la siguiente legislación: la Ley Federal de Sanidad Animal, el Reglamento de la Ley Federal de Sanidad Animal, la NOM- 012-ZOO-1993 Especificaciones para la regulación de productos químicos, farmacéuticos, biológicos y alimenticios, la NOM- 022-ZOO-1995 Características y especificaciones zoosanitarias para las instalaciones, equipo y operación de establecimientos que comercializan productos químicos, farmacéuticos, biológicos y alimenticios para uso en animales o consumo por estos, la NOM- 059-ZOO-1997 Especificaciones de productos químicos, farmacéuticos, biológicos y alimenticios para uso en animales o consumo por éstos. Manejo técnico del material publicitario y la NOM-064-ZOO-2000 Lineamientos para la clasificación y prescripción de los productos farmacéuticos veterinarios por el nivel de riesgo de sus ingredientes activos.

---

## **2. Objetivos**

### 2.1 Objetivo General

1. Diseñar y desarrollar una solución oftálmica de Clorhidrato de enrofloxacin de uso veterinario para el tratamiento de una conjuntivitis canina de etiología bacteriana.

### 2.2 Objetivos Específicos

1. Determinar la compatibilidad de los excipientes propuestos en la formulación de la solución oftálmica por análisis térmicos.
2. Diseñar y desarrollar la formulación y el proceso de elaboración de una solución oftálmica de uso veterinario.
3. Evaluar la estabilidad de la solución oftálmica con clorhidrato de enrofloxacin después de la exposición a condiciones extremas.
4. Conformar parte de un expediente de registro sanitario de un producto farmacéutico veterinario.

## **3. Hipótesis**

El desarrollo de una solución oftálmica con clorhidrato de enrofloxacin permitirá contar con una buena opción terapéutica para el tratamiento de caninos con conjuntivitis canina de etiología bacteriana.

---

## **4. Antecedentes**

### **4.1 Salud animal**

El bienestar animal es un tema complejo y multifacético en el que intervienen aspectos científicos, éticos, económicos, culturales, sociales, religiosos y políticos, y en el que la sociedad cada vez se interesa más, por ello, es un ámbito que resulta prioritario para la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE, World Organisation for Animal Health). Según el Código Sanitario para los Animales Terrestres de la OIE, el bienestar animal es el modo en que un animal afronta las condiciones en las que vive.<sup>1</sup>

Las mascotas proporcionan estabilidad emocional, afecto, entretenimiento y otras ventajas, se menciona en diversas referencias las ventajas de estas en la vida de las personas; tal es el caso que existen aquellos que los consideran un integrante más de la familia.<sup>2</sup> La mayoría de la gente tiene perros (más del 70%). El cuidado de estas mascotas está influenciado por la importancia y atención que las personas presten a ellos.<sup>3</sup>

El éxito en la supervivencia de los seres vivos es el adecuado desarrollo de sus órganos de los sentidos. La visión es uno de ellos. Actualmente existen estudios aislados sobre el campo oftalmológico en medicina veterinaria y esta se ha direccionado en mayor medida a los animales de compañía, en especial los perros, los gatos y los caballos.

### **4.2 Anatomía ocular**

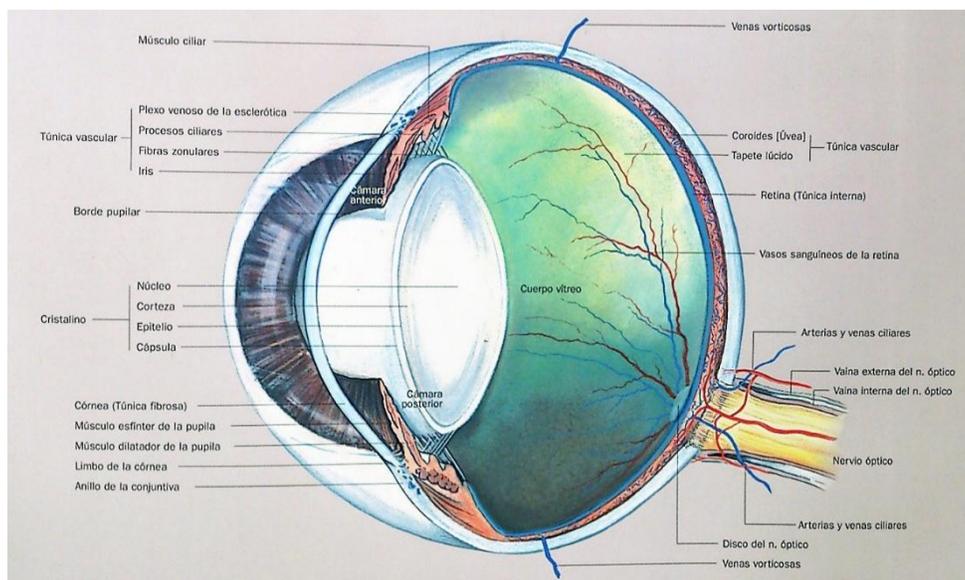
Es conveniente mencionar que las estructuras que conforman el ojo son muy delicadas, éstas representan una prolongación del cerebro y como tal son susceptibles a cualquier agente químico. “Una sola gota de cualquier sustancia en

---

el ojo, es capaz de modificar la película lagrimal y propiciar cambios en alguna de sus estructuras” .<sup>4</sup>

Los ojos son los órganos del sentido de la visión y se encuentran inervados por venas y delgados vasos sanguíneos. En el ojo se encuentran también las siguientes estructuras: cristalino, iris y retina. La estructura funcional de los órganos de la visión consiste en: párpados, globo ocular, conjuntiva, sistema lagrimal, película precorneana y cornea.

En la Figura 1 se pueden observar todas las estructuras que componen el ojo.



**Figura 1.** Anatomía del ojo de perro. Corte vertical en donde se puede ver las estructuras que componen al ojo.

La función protectora de los párpados y del sistema lagrimal es tal que elimina rápidamente el material instalado en el ojo, al menos que este material sea convenientemente pequeño en cuanto a su volumen. Los párpados sirven de protección mecánica del globo ocular y para crear un medio óptico para la córnea. El globo ocular aloja un apartado óptico que produce que se formen en la retina (fina

---

membrana traslucida) imágenes invertidas y reducidas del mundo exterior. La pupila, un orificio central redondo dentro de una división membranosa contráctil (iris) actúa como la apertura variable del sistema. El cristalino es el elemento de refracción con poder variable controlado y sustentado por un músculo.

La membrana conjuntival cubre la superficie externa de la porción blanca del ojo y la cara interna de los párpados. Esta fija laxamente por lo que se le permite el libre movimiento del globo ocular. La conjuntiva es la porción más expuesta del ojo, solo con excepción de la córnea.

La cornea consiste principalmente en las siguientes estructuras: epitelio corneano, estroma y endotelio corneano. La cornea es transparente a la luz difusa común, cuando se nubla puede deberse a presión ocular excesiva como el glaucoma, tejido cicatrizal por lesiones, infecciones o deficiencia de oxígeno o hidratación excesiva.

El epitelio de la córnea provee una barrera eficiente frente a la invasión bacteriana. Las bacterias pueden asentarse, sólo si la continuidad del epitelio ha sido interrumpida por una abrasión.<sup>5, 6</sup>

Las enfermedades oculares que se presentan en los perros con más frecuencia y van desde ligeras infecciones que son fáciles de tratar, hasta complicaciones graves que podrían conducir a la pérdida total y permanente de la vista.<sup>6</sup> Es por ello, que se necesita la asistencia veterinaria oportuna y un producto farmacéutico de acción inmediata desde el primer momento para evitar daños irreparables.

#### 4.2.1 Infecciones oculares

Los traumatismos desempeñan un papel importante en la mayoría de las enfermedades infecciosas oculares que tienen origen exógeno. Todo cuerpo extraño que raspe, se aloje o quede enclavado es significativo, debido a que permite la entrada y proliferación de bacterias patógenas al ojo.

---

En la medicina veterinaria, la morbilidad asociada a enfermedades infecciosas entre los animales de compañía todavía representa un número significativo de los animales remitidos a consulta. La complicación de estas enfermedades se debe al hecho de que los organismos patógenos no son estáticos.<sup>7</sup>

El diagnóstico de dichas enfermedades se debe realizar por un médico veterinario zootecnista, con detenimiento y debe ser integral. Siempre que se sospeche de una etiología bacteriana primaria o secundaria, deben emplearse antibióticos tópicos de amplio espectro.

El desarrollo de resistencias antimicrobianas, la aparición de nuevas cepas de virus y el aumento de la susceptibilidad a la enfermedad infecciosa justifican que se debe realizar una constante vigilancia en infecciones.

#### 4.2.2 Conjuntiva y conjuntivitis

La conjuntiva es una membrana mucosa delgada y de pigmentación variable que participa en el movimiento lagrimal, en la protección inmunológica del ojo, en el movimiento ocular y en la cicatrización corneal. La conjuntiva es rica en suministro vascular.

La conjuntiva está compuesta, histológicamente, por escamas epiteliales estratificadas y no queratinizada y una sustancia propia subyacente (superficial y profunda).<sup>8</sup> Las células globulares están presentes en la capa epitelial de la conjuntiva. Estas producen un gel mucilaginoso. Esta mucina protege la superficie ocular atrapando restos de bacterias y proporcionando un medio para la adherencia de inmunoglobulinas y las lisozimas microbicidas.

Entre la lista de los problemas oculares más comunes se localiza a la conjuntivitis.<sup>6</sup> La conjuntivitis es un problema encontrado en la mayoría de las especies, que consiste en la inflamación de la mucosa que recubre la fosa o mucosa ocular lo que

---

hace que los ojos se enrojezcan, se hinchen y tengan una descarga excesiva.<sup>11</sup> Este problema se trata fácilmente con antibióticos.

La conjuntiva posee un epitelio cilíndrico estratificado que absorbe fácilmente los fármacos, de tal modo que la instilación en el fondo del saco conjuntival puede ir seguido de efectos sistémicos. La vía de absorción conjuntival es equivalente a una administración endovenosa<sup>10</sup>, existiendo una absorción no productiva cuando el fármaco pasa a través de la membrana conjuntiva y se incorpora a la circulación general disminuyendo la biodisponibilidad del mismo.

La penetración de fármacos en la cámara anterior a través de la conjuntiva es poco significativa. Su tejido puede captar fármacos de las lágrimas que se almacena en las células y los devuelve otra vez a las lágrimas.

#### 4.2.3 Etiología y microorganismos patógenos asociados

La conjuntivitis infecciosa indica la asociación con patógenos y es poco común en los perros.<sup>12</sup>

Aunque existe un rango de posibles patógenos, los más frecuentes son por predisposición debido a anomalías en el párpado e infecciones por lesiones traumáticas. Las bacterias patógenas más comunes son Gram positivas, los microorganismos causales de mayor incidencia son: *Staphylococcus* (*S. epidermidis*, *S. aureus*), y en menor proporción *Streptococcus* (*S. pneumoniae*) *Pneumococcus* y *Haemophilus*. Múltiples perros han presentado *Chlamydiaceae*. La conjuntivitis puede ser provocada por microorganismos parásitos, alérgenos, cuerpos extraños, toxinas o por falta de película lagrimal.

Se menciona en otras fuentes bibliográficas a *Mycoplasma*, *Chlamydia*, *Yersinia*, *Moraxella*, *Acinetobacter* y *Pasteurella multocida* como agentes que producen conjuntivitis.<sup>26</sup> Pero también se pueden encontrar infecciones por bacterias Gram negativas.

---

#### 4.2.4 Aspectos clínicos de la conjuntivitis

A la conjuntivitis bacteriana se le considera como el síndrome clínico que comienza con lagrimeo, irritación e hiperemia de las conjuntivas palpebral y bulbar de uno o ambos ojos, seguidos de edema y exudado mucopurulento.<sup>25</sup> En la tabla 1 se muestran los signos clínicos característicos de los dos grados de conjuntivitis: aguda y crónica.

**Tabla 1.** Aspectos clínicos en la conjuntivitis; grave y aguda; los cuales permiten diferenciar y conocer el avance de la patología.

Tipo:	Signos clínicos:
Conjuntivitis Aguda.	<ul style="list-style-type: none"><li data-bbox="610 848 1308 884">• Malestar conjuntival (probablemente picazón).</li><li data-bbox="610 940 1383 1192">• Hiperemia activa (dilatación) de los vasos conjuntivales (enrojecimiento difuso de la conjuntiva) generalmente están involucradas todas las superficies conjuntivales (palpebral, nictitante y bulba).</li><li data-bbox="610 1249 1166 1285">• Quemosis (edema de la conjuntiva).</li><li data-bbox="610 1341 1383 1423">• Secreción ocular (serosa, mucoide, purulenta, hemorrágica o combinaciones de éstas).</li></ul>
Conjuntivitis Crónica	<ul style="list-style-type: none"><li data-bbox="610 1480 1383 1562">• Formación de un folículo, ocasionalmente los folículos pueden estar localizados.</li><li data-bbox="610 1619 1154 1654">• Aumenta el grosor de la conjuntiva.</li><li data-bbox="610 1711 1019 1747">• Secreciones persistentes.</li></ul>

---

Fuente: 25

---

En los casos graves puede haber equimosis (hematoma) en la conjuntiva e infiltración marginal en la córnea. El curso clínico de la conjuntivitis puede durar de dos días hasta dos o tres semanas.

#### 4.2.5 Tratamiento farmacológico

El éxito de los tratamientos depende de estabilizar y remover la causa subyacente. La medicación oftálmica se lleva a cabo generalmente por la instilación de gotas, aplicación de ungüentos, inyecciones subconjuntivales, subvalvulares o por vía sistémica.

En patologías de las superficies conjuntivales y del segmento anterior, se recomiendan gotas por su semipermeabilidad principalmente en la córnea. Para segmentos posteriores, se recomiendan medicamentos sistémicos.

Los fármacos administrados por goteo deben penetrar en el ojo y estos lo hacen principalmente a través de la córnea. Una sola gota en el ojo de cualquier sustancia, es factible de modificar la película lagrimal y propiciar cambios fisiológicos en alguna de sus estructuras. La administración tópica es la ruta más común o usual asociada a medicamentos oftálmicos.<sup>13</sup>

Cuando el agente infeccioso es desconocido, un agente de amplio espectro es utilizado. Una selección preliminar de antibióticos está basada en la morfología de bacterias presentes, combinado con la experiencia de estudios de sensibilidad publicados. Las infecciones oculares graves requieren un antibiótico bactericida para detener la infección tan rápido como sea posible.

Los medicamentos oftálmicos disponibles en el mercado se pueden encontrar como soluciones, emulsiones y ungüentos. La mayoría de estos medicamentos aplicados vía tópica penetran la córnea por un proceso de difusión pasiva, el cual depende del gradiente de concentración, las características de solubilidad, la ionización de la(s) molécula(s) y la(s) constante(s) de disociación (pKa's). Un fármaco destinado a

---

administrarse por vía tópica debe tener diferente solubilidad en agua y en lípidos para penetrar la córnea intacta. Los antibióticos de uso oftálmico son principalmente solubles en agua, con excepción del cloranfenicol y las sulfonamidas.

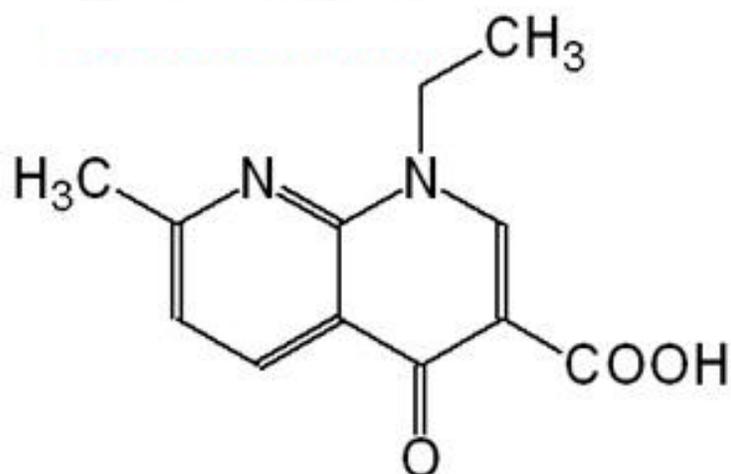
Es importante mencionar que, el uso de los antibióticos potentes de manera profiláctica en infecciones ligeras no debe realizarse ya que fomentan la resistencia a medicamentos. Por esto, actualmente existe el problema del desarrollo de resistencia a antibióticos aminoglucósidos. El número de antibióticos comercializados es limitado, particularmente por la resistencia de microorganismos Gram positivos.

La selección del antibiótico para el tratamiento de infecciones depende de la sensibilidad (conocida o sospechada) del organismo y del sitio donde se necesita que actúe el fármaco. Es importante conocer los aspectos antes mencionados en la determinación del tratamiento farmacológico.

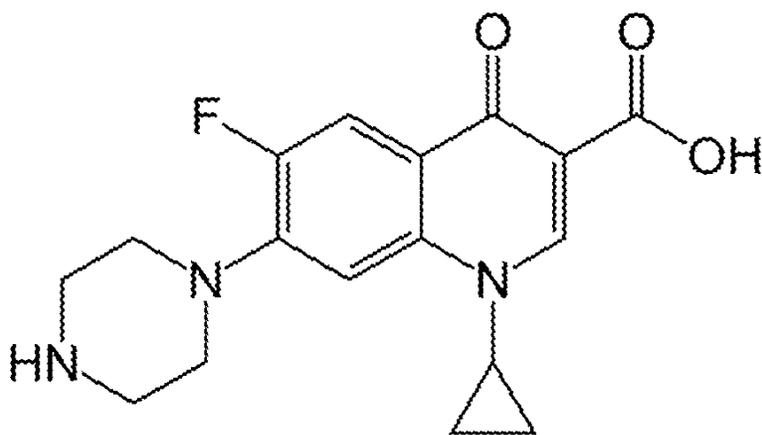
#### **4.3 Enrofloxacin y clorhidrato de enrofloxacin**

Las quinolonas son compuestos químicos que constituyen una familia de agentes antibacterianos. Su desarrollo comenzó en la década de los 60, con las síntesis del ácido nalidíxico. (Ácido 1-etil-1, 4 dihidro—7-metil-4-oxo-1,8-naftiridina-3-carboxílico). Esta estructura química se muestra en la Figura 2.

A la estructura base de las quinolonas se le realizaron modificaciones; una de ellas fue la de introducir un átomo de flúor en la posición 6, un Nitrógeno (N) en lugar del grupo CH en la posición 8, así como introducir un anillo de piperazina en posición 7, lo que da lugar a las fluoroquinolonas. En la figura 3 se puede observar la estructura base de las fluoroquinolonas.



**Figura 2.** Estructura química del ácido nalidíxico (1962).



**Figura 3** Estructura química de las fluoroquinolonas.

Estas modificaciones han ampliado sus aplicaciones clínicas, además los cambios estructurales han conducido al aumento de la potencia y la mejora de la farmacocinética.

El desarrollo de la familia de estos quimioterapéuticos es importante, porque las quinolonas se han situado a la cabeza en el tratamiento antimicrobiano de las enfermedades infecciosas, siendo consideradas en la actualidad dentro del grupo

---

de antimicrobianos de élite para enfrentar las sepsis causadas por microorganismos con alta virulencia y resistencia.

Las fluoroquinolonas son altamente liposolubles y se comportan como bases débiles. Una de las fluoroquinolonas de mayor uso en la medicina veterinaria es la enrofloxacin.

#### 4.3.1 Descubrimiento

El desarrollo de quinolonas fluoradas se llevó a cabo para mejorar el espectro de actividad, farmacocinética y disminuir efectos adversos y la aparición de resistencia bacteriana. Este nuevo grupo llamado fluoroquinolonas son antibacterianos que se han vuelto populares por su amplio espectro bactericida son por eso ampliamente utilizados de manera tópica o sistémica. Estas fueron generadas durante la década de los 80.

La enrofloxacin es una fluoroquinolona que tiene un espectro contra bacterias Gram positivas y Gram negativo, así como contra *Mycoplasma*. Se ha reportado que es eficaz contra *E. coli*, *Klebsiella sp.*, *Bordetella sp.*, *Staphylococcus*, *Proteus*, *P. aeruginosa*.

La enrofloxacin es el antimicrobiano más potente y uno de los más utilizados en medicina veterinaria. No obstante, la necesidad de generar nuevas opciones antibacterianas continúa. Investigadores de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) concibieron el rediseño de la enrofloxacin para recristalizarla y hacerla un cristal clorhidrato-dihidrato. Con esta modificación se logró mejorar su biodisponibilidad de 3 a 6 veces más que la enrofloxacin base.<sup>25, 66</sup>

---

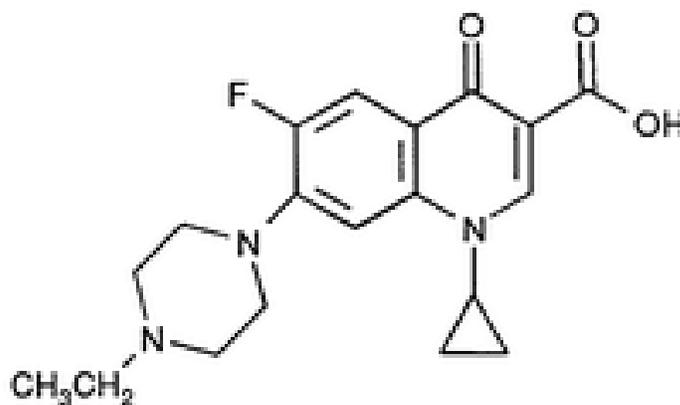
### 4.3.2 Sinónimos

La enrofloxacin es también conocida como 1-ciclopropil-7-(4-etil-1-piperazinil)-6-fluor-1,4-dihidro-4-oxoquinolona-3-ácido carboxílico o como 1,4-dihidro-1-ciclopropil-7-(4-etil-1-piperazinil)-6-fluoro-4-oxo-3-ácido carboxílico quinolona con número CAS: 93106-60-6.

### 4.3.3 Formula molecular y estructura

La enrofloxacin tiene en su estructura base una quinolona fluorada. Posee un núcleo químico básico llamado "dihidroquinolina". La fórmula molecular de la enrofloxacin es:  $C_{19}H_{22}FN_3O_3$ .

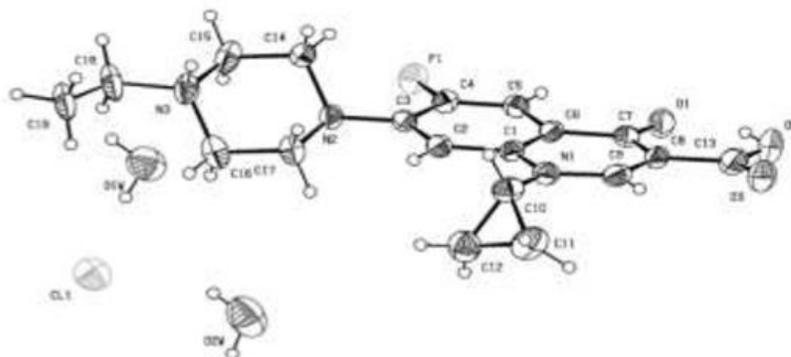
La enrofloxacin es un quimioterapéutico de amplio espectro de uso veterinario. El metabolismo de este fármaco por los animales genera como principal metabolito activo la ciprofloxacina. En la figura 4 se muestra la estructura de la enrofloxacin.



**Figura 4** Estructura química de la enrofloxacin.

El clorhidrato de enrofloxacin es la sal formada por combinación del ácido clorhídrico con enrofloxacin, su fórmula molecular es  $C_{19}H_{23}FN_3O_2Cl$ .

La estructura química del clorhidrato de enrofloxacin se muestra en la Figura 5.



**Figura 5** Estructura química del clorhidrato de enrofloxacin.

#### 4.3.4 Peso molecular

El peso molecular de la enrofloxacin es de 359.165 g/ mol y el peso molecular del clorhidrato de enrofloxacin es 395.626 g/ mol.

#### 4.3.5 Solubilidad

La enrofloxacin presenta dos constantes de disociación;  $pK_{a1}=5.74$  y  $pK_{a2}= 8.70$ . La enrofloxacin posee una baja solubilidad en agua (0.60 mg/mL), es ligeramente soluble en etanol y ácido clorhídrico 0.1N, es bastante soluble en hidróxido de sodio 1N, es ligeramente soluble en cloroformo, es soluble en dimetilsulfoxido (DMSO) y soluble en dimetilformamida (DMF) caliente. La solubilidad máxima en agua se logra a un pH de 5.02.<sup>67</sup>

La solubilidad al equilibrio del clorhidrato de enrofloxacin a 25°C en agua es de 11.44 mg/mL. El clorhidrato de enrofloxacin es altamente soluble en agua y etanol; es ligeramente soluble en polietilenglicol.<sup>23</sup>

---

#### 4.3.6 Mecanismo de acción

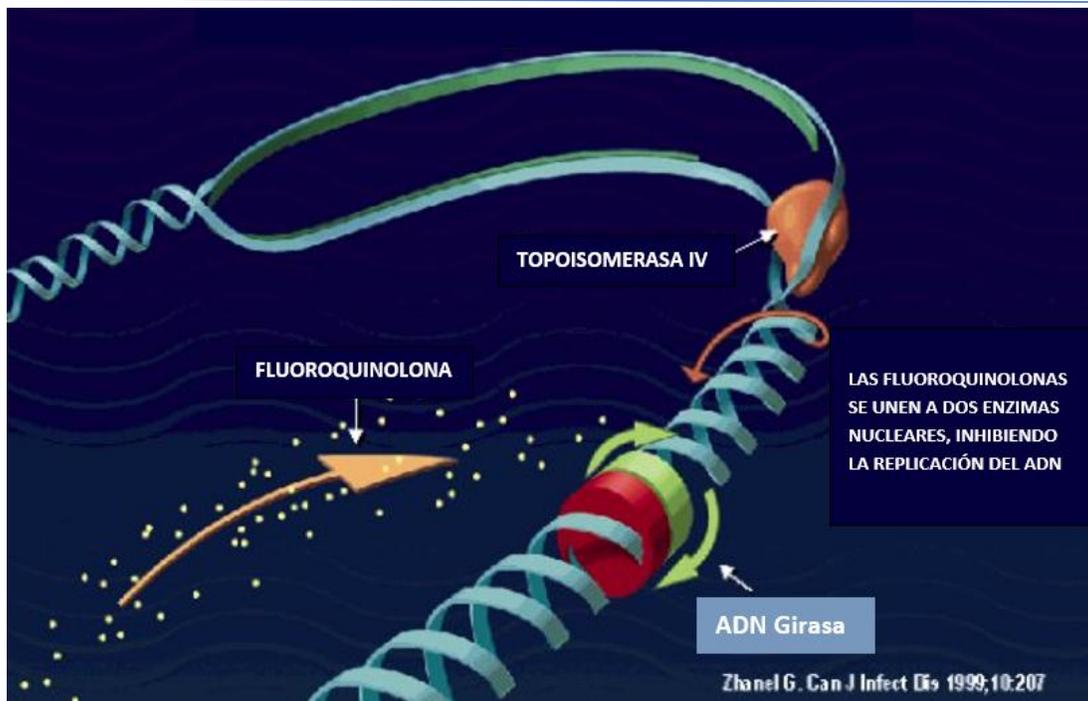
Las quinolonas son bactericidas y afectan el funcionamiento normal del ADN bacteriano. Estos penetran en la bacteria a través de las porinas. Una vez dentro, actúan sobre la enzima ADN-girasa.

El blanco específico de las quinolonas es interferir en la síntesis del ADN, conduciendo a la muerte celular bacteriana mediante la inhibición directa de la replicación bacteriana al interactuar con dos enzimas; ADN girasa (proteína tetramérica compuesta de dos pares de subunidades A y B, codificadas por los genes *Gyr A* y *Gyr B*) y topoisomerasa IV (proteína tetramérica compuesta por dos pares de subunidades A y B, codificadas por los genes *ParC* y *ParE*), las cuales son necesarias para realizar el superenrollamiento del ADN.

Las quinolonas producen en la bacteria una reacción de alarma, la cual consiste en la inducción de la síntesis no replicante del ADN e inhibición de la división celular sobre la filamentación, que determina la destrucción de la célula, debido a la concentración y al tiempo de exposición del ADN al agente tóxico. Este mecanismo justifica aún más su efectiva acción bactericida.

Las fluorquinolonas tienen un mecanismo de acción único, que las convierte en uno de los grupos de antibacterianos más promisorios en medicina veterinaria.<sup>32</sup>

En la figura 6 se puede observar una imagen representativa del mecanismo de acción de las fluoroquinolonas. Se muestra en la ilustración la inhibición de la topoisomerasa en el proceso de enrollamiento de ADN.



**Figura 6.** Mecanismo de acción de las fluoroquinolonas.

#### 4.3.7 Farmacocinética

Las fluoroquinolonas tienen una biodisponibilidad que supera el 50 % en todos los compuestos, y algunas se acercan al 100 %.<sup>33</sup>

Las fluoroquinolonas en general tienen semividas de eliminación relativamente largas; gran volumen de distribución y excelente penetración tisular; en la mayoría de las especies animales las fluoroquinolonas tienen un volumen de distribución mayor que el alcanzado por los betalactámicos y aminoglucósidos. Estos compuestos alcanzan altas concentraciones en saliva y secreción nasal; en mucosa y epitelio, penetran bien en fluidos de revestimiento resultando en concentraciones mayores a las séricas.

Las fluoroquinolonas penetran y alcanzan concentraciones intracelulares muy elevadas tanto en células fagocíticas como en las no fagocíticas, con una gran actividad intracelular frente a un amplio rango de microorganismos.

---

Las características del comportamiento farmacocinético de la enrofloxacin en perros es una alta biodisponibilidad, amplia distribución y penetración en tejidos; concentraciones tisulares mayores y por encima de las concentraciones mínimas inhibitorias (CIM's) para los patógenos más comunes y semivida de eliminación relativamente prolongada.<sup>34, 35, 36</sup>

Las fluoroquinolonas se eliminan fundamentalmente por excreción renal y metabolismo hepático.<sup>33</sup> Por lo general son parcialmente metabolizadas en el hígado y excretadas en bilis y orina a altas concentraciones de molécula activa (sustancia inalterada y metabolito activo). El grado de ionización de las fluoroquinolonas es bajo y se comportan como moléculas altamente liposolubles.

La enrofloxacin se metaboliza parcialmente a ciprofloxacina, la cual es responsable de una considerable parte de la actividad antimicrobiana; esta se lleva a cabo en el hígado.

#### 4.3.8 Indicación terapéutica

Las fluoroquinolonas se utilizan en infecciones urinarias, intestinales; y pueden, además, usarse en múltiples procesos infecciosos.

Entre las indicaciones para el uso de quinolonas se encuentran las siguientes; infecciones del tracto urinario (ITU) no complicadas (principalmente cuando existe resistencia contra el tratamiento de primera línea), ITU complicadas, prostatitis bacteriana crónica, infecciones de transmisión sexual (ITS) e infecciones pélvicas. También se ha documentado su eficacia para el manejo de infecciones cutáneas, osteoarticulares y del tracto gastrointestinal o respiratorias. Además, son consideradas como alternativa a los agentes de primera línea para el manejo de infecciones bacterianas del tracto respiratorio, como sinusitis, neumonía adquirida en la comunidad y bronquitis crónica complicada en pacientes inmunocomprometidos.

---

La enrofloxacin está indicada para infecciones producidas por bacterias sensibles a la enrofloxacin en caninos. Entre los agentes etiológicos encontramos: *Staphylococcus intermedius*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas spp.*, *Salmonellas spp.*, *Mycoplasmas spp.*, *Ehrlichia canis*, *Chlamydia spp.*

El uso de la enrofloxacin debe restringirse a aquellos casos en los que las bacterias se muestren resistentes a otros antibióticos; se debe realizar una confirmación bacteriológica del diagnóstico y un test de sensibilidad de la bacteria causante.

#### 4.3.9 Interacción con otros medicamentos y efectos adversos

La concentración de las quinolonas puede disminuir cuando entre las 2-4 horas de su administración se aplican también productos que contienen sucralfato o sales de calcio, aluminio, magnesio, hierro o zinc, como las que se encuentran en antiácidos, suplementos nutricionales o minerales.<sup>14</sup> El Probenecid (agente uricosúrico, que aumenta la excreción de ácido úrico) puede disminuir el aclaramiento renal de las fluoroquinolonas.<sup>13, 40</sup>

En medicina veterinaria se han descrito alteraciones gastrointestinales, artropatías en animales jóvenes (en los cachorros, la administración prolongada de fluoroquinolonas provoca lesión articular), afecciones dérmicas (eritema, prurito y urticaria).<sup>37</sup>

Las quinolonas pueden incrementar el efecto anticoagulante de la warfarina y el riesgo de convulsiones y de estimulación del sistema nervioso central (SNC) al usarse junto con antiinflamatorios no esteroideos, así como hipoglucemia o hiperglucemia al usarse con insulina u otros hipoglicemiantes. No deben tratarse con enrofloxacin a los animales con historial epiléptico, alteraciones nerviosas o hipersensibilidad al activo.

---

En la Tabla 2 se mencionan los efectos adversos que se pueden presentar tras el tratamiento con quinolonas.

**Tabla 2.** *Efectos adversos presentes en pacientes tratados con quinolonas y la frecuencia. Depende de las propiedades del agente y de las características del paciente.*

Afección	Porcentaje de incidencia
Gastrointestinal (nausea, vómito y diarrea)	2.0 al 10.0%
Dérmica (fototoxicidad, eritema, prurito y urticaria)	2.5 al 10.0%
Condrototoxicidad	1.5%
Tendinitis	0.4%
Afección al SNC	0.2 al 2.0%
Cardiovascular	2.9%
Hepático	2.0 al 3.0%
Hematológico	0.02%

Fuentes: 35, 66

En su mayoría, las manifestaciones son leves y retroceden al suspender el medicamento. Sólo entre el 1.0 -3.0% de los pacientes tratados deben suspender el tratamiento por efectos adversos.<sup>35</sup>

La administración conjunta con anti-inflamatorios no esteroideos (AINE´s) se asocia al desarrollo de toxicidad ocular (perforaciones corneales, neuropatía óptica y hemorragias de retina) y además los pacientes con condiciones médicas pre-

---

existentes o que se encuentren con tratamiento concomitante pueden tener mayor riesgo de presentar reacciones adversas neuropsiquiátricas.<sup>33, 38</sup>

#### 4.4 Desarrollo de formas farmacéuticas oftálmicas

Los preparados oftálmicos son productos estériles esencialmente libres de partículas extrañas y convenientemente envasados para instilar en los ojos; incluyen soluciones, suspensiones y ungüentos. La mayor parte de las soluciones y suspensiones son acuosas. Los ungüentos oftálmicos suelen contener una base blanca de vaselina-aceite mineral.

Los preparados oftálmicos pueden ser prescritos por monodosis o multidosis.

La preparación de soluciones, suspensiones o ungüentos oftálmicos por el farmacéutico debe contar con una cuidadosa documentación. En la Farmacopea de los Estados Unidos de América (USP por sus siglas en inglés) número 39 puede encontrarse una explicación general de la preparación de soluciones oftálmicas.

Uno de los factores característicos de los productos oftálmicos es la especificación de la esterilidad. Todo producto destinado a ser usado en los ojos debe de ser estéril en cualquiera de sus formas, substancia o finalidad.

Alguno de los otros conceptos a considerar es la isotonicidad. Las soluciones isotónicas estériles, debidamente preservadas, son adecuadas para preparar soluciones oftálmicas. En la mayoría de los casos, cuando la concentración de los componentes activos es baja, el fármaco puede ser disuelto directamente en el vehículo isotónico.

La emulsiones y ungüentos, por su composición más densa, permanecerá más tiempo en contacto con los tejidos, y si esta aplicación es por la noche; esto incrementa por el cierre de los párpados en horas de sueño. Aunque esta tiene unas

---

desventajas: dificultad para aplicarlos, incomodidad por visión borrosa, frotamiento e irritación por su oleosidad y grosor molecular.

Las suspensiones son dispersiones de sustancias finamente divididas y relativamente insolubles en un vehículo acuoso que contiene agentes de suspensión y dispersantes adecuados. El vehículo es una solución saturada del fármaco.

Generalmente, en las formas farmacéuticas líquidas el disolvente principal es el agua, por su capacidad disolvente y su biocompatibilidad. Las soluciones acuosas se pueden administrar tras tener en cuenta ciertas características como el pH, la presión osmótica y la esterilidad.

#### 4.4.1 Solución oftálmica

La solución oftálmica es la forma farmacéutica líquida de aplicación en el ojo. Por definición, todos los componentes están completamente en solución, la uniformidad no es un problema y la interferencia física con la visión es escasa.

Las soluciones oftálmicas son formas farmacéuticas de menor tiempo de contacto y por esto se debe aplicarse más frecuentemente. El tiempo de contacto puede estar aumentado en cierta medida con la inclusión de un agente que aumente la viscosidad. Para la comodidad visual del paciente se considera óptima una viscosidad de 15-25 centipoise.

La instilación de gotas oftálmicas sigue siendo uno de los medios de administración tópica de fármacos menos precisos, pero a la vez más aceptados.<sup>41</sup>

#### 4.4.2 Ventajas y desventajas de las soluciones oftálmicas

A continuación, se presenta la Tabla 3 en la que se pueden apreciar las ventajas y las desventajas del uso de las soluciones oftálmicas en caninos.

---

**Tabla 3** *Ventajas y desventajas del uso de las soluciones oftálmicas.*

<b>Ventajas:</b>	<b>Desventajas</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>✓ Menos perturbación de la visión.</li><li>✓ Baja incidencia de contacto en dermatitis.</li><li>✓ Menos toxicidad al interior del ojo si una lesión o una perforación en cornea abierta está presente.</li><li>✓ Puede ser más fácil de aplicar para algunos dueños.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>✗ Tiempo de contacto muy corto (30 segundos), necesarias frecuentes aplicaciones. Importante cuando se considera la participación del dueño, si es más frecuente la aplicación es menos agradable para ser llevada a cabo.</li><li>✗ Frecuentemente más costosos para terapias cortas comparada con ungüentos.</li></ul>

---

Fuente: 10

La solución oftálmica posee atributos que la hacen atractiva para su elección como forma de dosificación, y como cualquier forma farmacéutica ésta también tiene inconvenientes.

#### 4.4.3 Formulación (Principio activo y excipientes)

El vehículo elegido para terapia tópica puede ser solución, suspensión, ungüento o insertos sólidos oculares. Los vehículos son usualmente aceptables y la solución suele ser la más frecuentemente elegida.

Los excipientes en medicaciones son utilizados para regular, mantener tonicidad, esterilidad, prevenir oxidación e incrementar la absorción.

El pH de la preparación debe ser amortiguada por productos como el ácido acético, al ácido bórico, el bicarbonato o los boratos, citratos, y fosfatos para incrementar la

---

forma no ionizada del fármaco y así mejorar la solubilidad en lípidos e incrementar la estabilidad del fármaco y proporcionar confort ocular.

La tonicidad es un término fisiológico utilizado para describir una solución y como ésta afectaría el volumen celular. Si una célula es colocada en una solución acuosa, gana agua y se hincha, se dice que la solución es hipotónica para la célula. Si la célula pierde agua y se encoge cuando se coloca en la solución acuosa, se dice que es una solución hipertónica. Y si la célula no cambia de tamaño en la solución, está es isotónica. Siempre se expresa la tonicidad de una solución con respecto a la célula. La tonicidad describe el volumen celular una vez que la célula ha alcanzado el equilibrio con la solución.

Los agentes como el dextran, la glicerina y el cloruro de sodio son agregados a las soluciones para brindar tonicidad para minimizar molestias oculares.

La viscosidad de la solución puede ser modificada por vehículos como polivinilpirrolidona (PVP) y varias formas de metilcelulosa; en general la meta es incrementar el tiempo de contacto corneal con el medicamento.

#### 4.5 Aspectos normativos nacionales (México) para la regulación de productos de uso y consumo veterinario

En la Ley Federal de Sanidad Animal (LFSA) en el Capítulo II “De los productos y subproductos animales y de los productos biológicos, químicos, farmacéuticos y alimenticios, para uso en los animales o consumo por estos”, se designa a la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA) como encargada de expedir las normas oficiales que establezcan las características que deben reunir los productos farmacéuticos para uso en animales, sus envases, embalajes y la información zoonosanitaria que deben contener las etiquetase instructivos de estos.

---

La actividad del Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA), como órgano administrativo desconcentrado de la SAGARPA, se encuentra regulada en el marco jurídico vigente, su aplicación es de orden público e interés social. Le compete regular y vigilar que los productos que se movilizan en territorio nacional, no pongan en riesgo el bienestar general; constata la calidad e inocuidad de productos en materia agropecuaria, acuícola y pesquera, entre otros.

En el Título Sexto “*Del control de productos para uso o consumo animal, establecimientos, actividades y servicios*” del Reglamento de la Ley Federal de sanidad animal, Capítulo I Del control de productos para uso o consumo animal menciona que, entre los productos farmacéuticos, los antibióticos están sujetos a registro.

Toda persona física o moral que pretenda fabricar y/o comercializar productos para uso o consumo animal dentro del territorio nacional deberá cumplir con el aviso de inicio de funcionamiento, debe cumplir con las disposiciones de sanidad animal. Así como también deben contar con un Médico Veterinario Responsable Autorizado en el área correspondiente (Establecimientos Industriales o Comerciales).

Adicional a lo antes mencionado; para el registro de un producto farmacéutico se debe consultar con lo siguiente: la NOM-012-ZOO-1993. *Especificaciones para la regulación de productos Químicos, Farmacéuticos, Biológicos y Alimenticios para uso en animales o consumo por estos*. La NOM-022-ZOO-1995. *Características y Especificaciones zoosanitarias para las instalaciones, equipo y operación de establecimientos que comercializan productos Químicos, Farmacéuticos, Biológicos y Alimenticios para uso en animales o consumo por estos*. La NOM-059-ZOO-1997. *Especificaciones de Productos Químicos, Farmacéuticos, Biológicos y Alimenticios para uso en animales o consumo por estos. Manejo técnico del material publicitario*. La NOM-064-ZOO-200. *Lineamientos para la clasificación y prescripción de productos farmacéuticos veterinarios por el nivel de riesgo de sus ingredientes activos y su Acuerdo*. Así como la siguiente guía: Guía para el registro y/o

---

autorización de los productos farmacéuticos y químicos para uso en animales. Todos ellos disponibles de manera electrónica en la página de la secretaria.

No se excluye el apoyo de otra regulación nacional aplicable como la NOM-059-SSA1-2015 Buenas Prácticas de Fabricación de Medicamentos o la NOM-073-SSA1-2015 Estabilidad de Fármacos y Medicamentos.

#### 4.5.1 Registro de medicamentos de uso animal

Para obtener el registro de un producto de uso o consumo animal en el territorio nacional que se pretenda comercializar en el país, deberá presentar el o los interesados a la secretaria la solicitud de registro y anexar la siguiente documentación.

- El Formato de tarjetón de registro por duplicado: el cual debe contener nombre, cargo y firma autógrafa del responsable del área de Control de calidad.
- El Proyecto de texto de la etiqueta y empaque del producto por duplicado
- La Ficha técnica del producto de acuerdo al formato, instructivo y guías técnicas que la SAGARPA publique en el Diario Oficial de la Federación (DOF)
- Las Especificaciones del producto
- El Certificado de análisis emitido por la empresa elaboradora: los resultados deben concordar con las especificaciones de producto terminado y con lo señalado en el tarjetón de registro.
- El Dictamen de constatación emitido por un laboratorio autorizado o aprobado u oficial que confirme que el producto se encuentre dentro de especificaciones.

- 
- El Expediente del producto para registro conforme al artículo 156 del Reglamento de la LFSA.
  - El Certificado de buenas prácticas de Manufactura expedido por la secretaría o por un organismo de certificación, con base en las normas oficiales mexicanas (NOM's), lineamientos e instructivos técnicos que emita la secretaria (para productos elaborados en México).
  - Y una copia simple del pago de derechos como se estipula en la Ley Federal de Procedimientos Administrativos.

#### 4.5.2 Expediente de registro sanitario

En el artículo 156 del Reglamento de la Ley Federal de Sanidad Animal se indica cual es el contenido del expediente de producto para registro. Debe contener la siguiente información y documentación.

- Las especificaciones de producto terminado describiendo la fórmula cualitativa y cuantitativa, las características físicas, químicas y biológicas del o de los ingredientes activos presentes en el producto.
- La Descripción del envase primario y secundario.
- El protocolo de fabricación, en el que se indiquen las etapas del proceso de fabricación.
- Las técnicas analíticas empleadas para determinar el o los ingredientes activos del producto terminado.
- Para los productos farmacéuticos se deben indicar los estándares analíticos, procedimientos de prueba, resultados e interpretaciones, así como también debe indicar la fuente de la(s) técnica(s) empleadas.

- 
- Las pruebas de estabilidad, detallando el método analítico utilizado, el desarrollo y conclusiones.
  - La información técnica de usos, dosis y vías de administración, así como especies en las que se pretenda recomendar el producto y la información sobre la toxicidad.

Y para el caso de productos de nuevo desarrollo adicionalmente se deberán presentar las técnicas analíticas para la determinación y cuantificación del principio activo.

La secretaria llevara a cabo la revisión de los expedientes de registro y autorización y determinara si cubren los requisitos documentales señalados para el registro.

Dentro de los 30 días hábiles después del ingreso de la solicitud con la información documental antes mencionada, la secretaria puede prevenir al interesado de la documentación faltante o complementaria. El interesado tendrá el máximo de 30 días hábiles para entregarlo solicitado a partir de haber sido notificado.

Posterior a los treinta días hábiles del ingreso de la solicitud al Servicio Nacional de Sanidad Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. Se emite la resolución por escrito y por una sola vez. En caso de rechazarse se expresan las razones, por mencionar algunas, estas pueden ser documentación faltante o discrepancias.

Cuando a un producto para uso o consumo animal se le otorga el registro, se le identifica con una clave alfanumérica.

---

## **5. Desarrollo experimental**

### **Materiales:**

Enrofloxacin base de pureza 99.97% (Globe Chem, México), Clorhidrato de enrofloxacin (sintetizado en el laboratorio 2317 Depto. Fisiología y Farmacología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM), Agua isotónica y agua grado inyectable, libre de pirógenos (PiSA, México), Polivinilpirrolidona K-30 (Laboratorios Pisa), Propilenglicol USP (México), Etanol y Polietilenglicol (J.T. Baker), Fosfato de sodio y Cloruro de sodio.

Probetas de vidrio graduadas de 250 mL, vaso de precipitados de vidrio de capacidad 1 L, matraz Erlenmeyer 1 L, matraces aforados 10 mL, Cronómetro digital (CASIO), vernier digital (TRUPER), Unidades de filtración Millex no estériles HN Nylon 0.45 y 0.22, 13 mm (Millipore). Agar TSA marca BD.

Columna (SHISEIDO) C18 con tamaño de partícula 5 micrómetros (150 mm de longitud y 4.6 mm de diámetro interno). Todos los solventes usados en HPLC (High Pressure Liquid Chromatography), el Metanol, Acetonitrilo y Agua, utilizados en el análisis fueron Grado Análisis HPLC.

### **Equipos:**

Potenciómetro Corning Pinnacle Modelo 504, Agitador de hélice electrónico IKA. Modelo RW 20, Viscosímetro Brookfield Modelo LV, Reómetro de esfuerzo controlado TA-Instruments Modelo AR-2000, Espectrofotómetro UV-vis Analytik Jena Specord 210 Plus, Baño de agitación Lab Companion, Centrifuga Modelo j600 Solbat, Agitador Vortex Labinco, Cromatógrafo de líquidos JASCO modelo X-LC. Con automuestreador de la misma marca y modelo, bomba cuaternaria de gradiente, horno inteligente para columna y detector inteligente UV/Vis. El equipo está acoplado a un equipo de cómputo. El control del equipo, el procesamiento y la manipulación de los datos se realizaron utilizando el software EZChrome Elite Versión 3.2.1 Chromatography Data System Build 3.2.1.3.1.

---

## Métodos

### 5.1 Preformulación

#### 5.1.1 Apariencia del fármaco

Una muestra de 10 gramos de clorhidrato de enrofloxacin se colocó en un recipiente transparente de vidrio y se evaluó visualmente su apariencia.

Adicionalmente se observó por microscopía electrónica de barrido.

#### 5.1.2 pH

El pH debe ser declarado para soluciones acuosas.

Una solución de clorhidrato de enrofloxacin al 0.5% se le determinó el pH en un potenciómetro CORNING 504 con electrodo Calomel.

#### 5.1.3 Solubilidad

Las pruebas de solubilidad del clorhidrato de enrofloxacin se realizaron en agua, etanol, propilenglicol y polietilenglicol. Una cantidad en exceso se mantuvo en agitación constante durante 48 horas. Posteriormente la cantidad disuelta presente se cuantificó por espectrofotometría ultravioleta a una longitud de onda de 278 nm. Los resultados se relacionaron con la tabla 4.

**Tabla 4.** *Caracterización de la solubilidad por la FEUM 11<sup>a</sup>. Edición.*

Descripción	Partes de disolvente en volumen requeridas por una parte de soluto
Muy soluble	Menos de 1
Fácilmente soluble	Entre 1 y 10
Soluble	Entre 10 y 30
Bastante soluble	Entre 30 y 100
Poco soluble	Entre 100 y 1 000
Muy poco soluble	Entre 1 000 y 10 000
Prácticamente insoluble	Más de 10 000

---

#### 5.1.4 Reología (Densidad aparente y compactada, velocidad de flujo y ángulo de reposo)

##### *Densidad aparente*

A 100 gramos de clorhidrato de enrofloxacin a temperatura, se le determino su densidad aparente ambiente de acuerdo al Método I fármacopeico, se realizó en 3 ocasiones y se calculó el promedio.

Con estos datos se calculó la densidad aparente en gramos por mililitro utilizando la siguiente fórmula:  $M/V_0$  donde M es el peso del polvo y  $V_0$  es el volumen inicial.

##### *Densidad compactada*

Utilizando el mismo método, se calculó 3 veces la densidad compactada en gramos por mililitro (g/mL) utilizando la fórmula  $m/V_f$  en donde  $V_f$  es el volumen final por asentamiento.

Se efectuaron de manera simultánea la prueba de ángulo de reposo y velocidad de flujo conforme lo menciona la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM) 11va Ed. Se efectuaron 3 determinaciones y se calculó el promedio.

Los valores obtenidos se compararon con la tabla 5 ubicando su propiedad de flujo.

**Tabla 5.** Índice de compresibilidad e Índice de Hausner.

Índice de compresibilidad	Propiedades de Flujo	Índice de Hausner
5 a 11	Excelentes	1.00 a 1.11
12 a 17	Buenas	1.12 a 1.18
18 a 22	Aceptables	1.19 a 1.34
26 a 31	Pobres	1.35 <sup>a</sup> 1.45
35 a 38	Muy pobres	1.46 <sup>a</sup> 1.59
>38	Extremadamente malas	>1.60

Fuente: 22

---

### Ángulo de reposo

La altura (h) del lecho de polvo y el diámetro (D) de la base del cono del lecho del polvo se midieron para calcular el ángulo de reposo (AR) en grados (°). Se utilizó la siguiente fórmula:

$$AR = \tan^{-1} (2 h) / D$$

Donde:

AR= ángulo de reposo

h= altura del lecho del polvo

D= diámetro del lecho de polvo.

Se tomó el valor promedio si estos no se desviaron más de 10%

Para calcular la velocidad de flujo (Vf) se utilizó la siguiente fórmula:

$$Vf = P / t$$

Donde:

Vf= Velocidad de flujo

P= peso en gramos

t= tiempo

El resultado obtenido se relacionó a los mostrados en la tabla 6.

**Tabla 6:** Capacidad de flujo de los polvos, aptitud de deslizamiento.

Ángulo de reposo (°)	Capacidad de flujo
25° a 30°	Excelente
31° a 35°	Buena
36° a 40°	Adecuada (no necesita ayuda)
41° a 45°	Aceptable (puede demorarse)
46° a 55°	Pobre (es necesario someter a vibración)
56° a 65°	Muy pobre
>66°	Extremadamente pobre

Fuente: 22

---

### 5.1.5 Análisis térmicos

El análisis térmico se realizó a 5 muestras. Cada una de estas fue identificada con una clave, en la tabla 7 se muestra la composición de cada una, así como los estudios que se le realizaron de Calorimetría diferencial de barrido (DSC) y/o termogravimetría (TGA).

**Tabla 7.** *Identificación de las muestras en análisis termogravimétrico (TGA) y Calorimetría diferencial de barrido (DSC).*

Clave de muestra:	de	Contenido:	TGA	DSC
CMA-I	Cristales de	clorhidrato de enrofloxacin+ manitol (1:1)	Si	Si
CENR-II	Cristales de	clorhidrato de enrofloxacin + Agua (1:1)	Si	Si
CPY-I	Cristales de	clorhidrato de enrofloxacin + PVP (1:1)	Si	Si
ACPG-I	Agua + Cristales de	clorhidrato de enrofloxacin + Propilenglicol	Si	No
SOFT-I	Agua + clorhidrato de	enrofloxacin + PVP + Propilenglicol	Si	Si

El análisis se efectuó en atmósfera de nitrógeno donde las 6 muestras fueron colocadas en un crisol de aluminio, de 5 mm de diámetro, sellados y con orificio en la tapa. El intervalo de temperatura fue de 25°C a 500 °C bajo atmósfera de nitrógeno con flujo dinámico de 50 mL/min.

Posteriormente, el análisis térmico se llevó a cabo bajo atmósfera de Nitrógeno. La curva fue realizada con una rapidez de calentamiento de 10 °C por minuto (1 Ciclo) entre 25.0°C y 300.0°C en una atmósfera controlada de N<sub>2</sub> como prueba preliminar para posteriormente realizar dos ciclos de calentamiento con helio.

---

### Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)

Las muestras se colocaron en dos ciclos de calentamiento de la siguiente manera: primer calentamiento-enfriamiento- segundo calentamiento.

En la tabla 7 se puede ver la identificación de las muestras que fueron analizadas por DSC.

### 5.2 Formulación

La formulación consistió en integrar el clorhidrato de enrofloxacin, en un vehículo acuoso con el mejor agente espesante tras las pruebas de preformula y un agente conservador. Los tres lotes de solución oftálmica de clorhidrato de enrofloxacin se realizaron tomando en cuenta la formula mencionada en la Tabla 8.

**Tabla 8:** *Fórmula de la solución oftálmica de clorhidrato de enrofloxacin y la función de cada componente en la solución.*

Formula:		Función
PVP K-30.....	5 g	Modificador de la viscosidad/ espesante
Propilenglicol.....	5 mL	Co-solvente
Clorhidrato de enrofloxacin..	0.56 g	Principio activo
Equivalente a.....	0.50 g	
De enrofloxacin base		
Agua inyectable.....	c.b.p. 100 mL	Vehículo

---

### 5.3 Producción de una solución oftálmica con clorhidrato de enrofloxacin

La producción de los tres lotes de la solución oftálmica se llevó a cabo de acuerdo al Procedimiento Normalizado de Operación PNO que se encuentra en el Anexo II.

#### *Resumen de la elaboración:*

Se preparó un lote de 500 mL de solución oftálmica conforme a lo siguiente:

En un área limpia y aséptica se colocó el material requerido para la preparación de la solución oftálmica.

En un vaso de precipitados se vertieron 250 mL de agua inyectable y se encendió el sistema de agitación. Se adicionó cuidadosamente y poco a poco la PVP y se agitó de manera constante evitando la formación de grumos y se continuó hasta completa disolución. Se agregó el propilenglicol poco a poco y finalmente se añadió el principio activo hasta completa homogenización. Se revisó el pH de la solución. No fue necesario ajustar pH.

Finalmente se esterilizó la solución por filtración (0.22 micrometros) y se envaso en condiciones de esterilidad.

#### *Acondicionamiento:*

El acondicionamiento de los tres lotes de solución oftálmica se llevó a cabo de acuerdo al Procedimiento Normalizado de Operación PNO que se encuentra en el Anexo III.

#### *Etiquetado:*

El proyecto de etiqueta se realizó tomando como base los datos mencionados por el SENASICA en la página electrónica de la entidad regulatoria. También se consideró la NOM-072-SSA1-2012. Etiquetado de medicamentos y remedios herbolarios.

---

## 5.4 Evaluación de la Solución Oftálmica de Clorhidrato de Enrofloxacin

### 5.4.1 Apariencia

Se debe hacer una completa descripción de la solución oftálmica, que incluya aspecto, color, olor.

La descripción de la apariencia es un ensayo general aplicable a todas las formas farmacéuticas. Se debe hacer una completa descripción cualitativa que incluye aspecto, dimensiones, forma, color, olor u otros.<sup>69</sup>

El contenido de un frasco de solución oftálmica de clorhidrato de enrofloxacin recién preparada, se colocó en un vaso de precipitados de vidrio transparente para observar su aspecto, color, aroma, homogeneidad y la ausencia de partículas extrañas visibles. Esta evaluación se les realizó a 5 frascos de capacidad 25 mL por cada lote de 500 mL de solución oftálmica elaborado.

Especificación de aspecto: Solución transparente ligeramente amarilla, libre de partículas visibles, turbiedad o decoloración.

### 5.4.2 pH

El pH debe declararse para soluciones acuosas y expresarse en rango de pH aceptado.

La determinación del pH de los frascos de solución oftálmica se realizó potenciométricamente conforme al punto 4.1.2.

Criterio de aceptación: 3.5-7.0.

### 5.4.3 Reología

Las características reológicas son importantes para la producción, embalaje, llenado y almacenamiento.<sup>70</sup>

Las mediciones reológicas de la solución oftálmica se llevaron a cabo en un reómetro de esfuerzo controlado usando una geometría de doubles cilindros

---

concéntricos a temperatura controlada de 25 y 37 °C. Se usó un flujo unidireccional con esfuerzos de 0.1 a 1000 s<sup>-1</sup>. Todas las mediciones se hicieron por duplicado y se promediaron.

#### 5.4.4 Viscosidad

La viscosidad es la forma de medir la resistencia que opone un fluido a moverse a cierta temperatura. A mayor viscosidad, más lento se moverá.

La viscosidad es una propiedad de los fluidos que es de gran importancia en múltiples procesos industriales, además de ser una variable de gran influencia en las mediciones de flujo de fluidos, el valor de viscosidad se usa como punto de referencia en la formulación de nuevos productos, facilitando la reproducción de la consistencia de un lote a otro.<sup>71</sup>

En otro factor por el cual es importante la viscosidad, es para el acondicionamiento de producto en sus envases (empaquete primario) que lo contenga.

La viscosidad de 500 mL de solución oftálmica de clorhidrato de enrofloxacin se determinó usando el viscosímetro Brookfield Modelo LV y la aguja No. 1 a una velocidad de 50 rpm. Se realizaron tres determinaciones del mismo lote a una temperatura de 18°C; posterior a esto, se calculó el promedio.

#### 5.4.5 Valoración

La valoración es el método aplicado para determinar los límites superior e inferior de la sustancia o preparación.

Una curva de concentración de clorhidrato de enrofloxacin contra su respectiva absorbancia, fue desarrollada en las concentraciones: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 y 8 microgramos por mL.

La valoración se llevó a cabo; posteriormente, interpolando el valor de absorbancia de la muestra (A) obtenida en el espectro a una concentración.

Criterio de aceptación: 90-110% de 0.5 mg/ml.

---

## 5.5 Etiquetado y acondicionamiento.

Es obligatorio que todos los medicamentos y materias primas que se utilizan en la fabricación estén etiquetados correctamente, siguiendo lo establecido en las normas correspondientes y/o disposiciones emitidas por las autoridades oficiales competentes.

El sistema contenedor cierre se encuentra definido en la NOM-059-SSA1-2015 Buenas prácticas de fabricación de medicamentos y la NOM-073-SSA1-2015 Estabilidad de fármacos y medicamentos, así como de remedios herbolarios, como el conjunto de materiales de empaque que contienen y protegen a la forma farmacéutica. Incluye tanto el envase primario como el secundario, si este último cumple la función de proporcionar protección adicional al producto.

Los estudios deben llevarse a cabo en el mismo sistema contenedor-cierre al propuesto para su almacenamiento y distribución.

A una muestra de 500 mL de solución oftálmica de clorhidrato de enrofloxacin se le colocó en frascos, se etiquetó con una etiqueta autoadherible con los siguientes datos: Nombre del principio activo, Presentación, Cantidad. Posteriormente se trasvasó en una zona aséptica en pequeños frascos de vidrio color ámbar de 120 mL, llenando a 100 mL y se cerraron con tapón de goma y retapa de aluminio.

Para medicamentos contenidos en envases impermeables, como frascos de vidrio, frascos ampula o ampolletas de vidrio selladas, los cuales proveen una barrera a la pérdida de peso; se evalúan los puntos mencionados en el punto 10.1.3 de la NOM-073-SSA1-201 aplicables.

Un proyecto de etiqueta se realizó colocando la información requerida por la entidad reguladora nacional.

## 5.6 Evaluación de la estabilidad

El estudio de estabilidad se realizó posterior a la fabricación de 3 lotes de solución oftálmica de clorhidrato de enrofloxacin. Las soluciones se

---

colocaron en frascos de vidrio color ámbar (120 mL). A cada lote se le asignó una condición de temperatura ya establecida.

1.- Temperatura ambiente

2.-  $40.0 \pm 2.0^{\circ}\text{C}$  y

3.- Temperatura ambiente y  $40.0^{\circ}\text{C}$ . (Ciclado térmico)

Fueron evaluadas a los: 15, 30, 45, 60, 90, 120 y 180 días.

#### 5.6.1 Apariencia

Se realizó una inspección visual de los frascos con solución oftálmica de clorhidrato de enrofloxacin a los tiempos antes mencionados. Se evaluó conforme al punto 4.4.1.

#### 5.6.2 Valoración

La concentración de clorhidrato de enrofloxacin presente en una muestra de la solución oftálmica se determinó tras extrapolar en la curva de absorbancia vs concentración de enrofloxacin que se elaboró anteriormente.

#### 5.6.3 Análisis por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC)

El análisis por cromatografía de líquidos de alta resolución se realizó tomando como base las condiciones mencionadas en la tesis “Desarrollo y validación de un método analítico por cromatografía de líquidos de alta resolución para cuantificar el contenido de ciprofloxacino y enrofloxacin en plasma sanguíneo y leche de vaca”<sup>51</sup> y se acogieron las siguientes condiciones: misma fase móvil: Acetonitrilo: Metanol: Agua, en mismas proporciones: (170:30:800), velocidad de flujo: 1.0 mL/min, temperatura:  $25^{\circ}\text{C}$  y longitud de onda: 278 nm.

El análisis se realizó con un tiempo de corrida de 8 minutos, El volumen de inyección utilizado fue de 50 microlitros.

---

Los cromatogramas de las muestras en almacenamiento a 1, 3 y 6 meses se registraron.

#### 5.7 Actividad antimicrobiana *in vitro* de la solución oftálmica con clorhidrato de enrofloxacin

Para los estudios microbiológicos de la solución oftálmica de clorhidrato de enrofloxacin para verificar su eficacia, se eligió como organismo de prueba a *Escherichia coli* ATCC 10536.

##### *Preparación del medio*

Un medio de cultivo con agar TSA (Trypticaseina Soya Agar) fue preparado de la siguiente manera. Cuarenta gramos de polvo deshidratado fueron disueltos en un litro de agua destilada en un matraz Erlenmeyer. Se mezcló y dejó reposando por 5 minutos. Calentar suavemente, agitando y dejando hervir durante 1 o 2 minutos hasta su disolución. Se distribuyó el agar en los refractarios, se colocaron en las placas (refractarios) dejando solidificar. Y se esterilizaron en autoclave durante 15 minutos a 118-121°C.

##### *Preparación del estándar y curva*

La preparación del estándar se realizó con una solución stock de enrofloxacin con concentración 200 µg/mL colocando 20 mg de enrofloxacin en 100 mL de agua destilada.

De la solución de concentración 200 µg/mL se tomaron las alícuotas indicadas en la tabla 9 para aforar a 10 mL. El método fue propuesto en el laboratorio.

En la tabla 9 se encuentran las diluciones realizadas y las concentraciones obtenidas.

**Tabla 9.** *Identificación de las soluciones preparadas con sus respectivas concentraciones para la curva estándar.*

No. de Tubo	Vol. de alícuota	Tomada de	Concentración final
1	10 mL	Solución stock	200 µg/mL
2	5 mL	Tubo #1	100 µg/mL
3	5 mL	Tubo #2	50 µg/mL
4	1 mL	Solución stock	20 µg/mL
5	5 mL	Tubo #4	10 µg/mL
6	5 mL	Tubo #5	5 µg/mL
7	5 mL	Tubo #6	2.5 µg/mL
8	5 mL	Tubo #7	1.25 µg/mL

#### *Preparación de la muestra*

Tomando una alícuota de la solución oftálmica de clorhidrato de enrofloxacin al 0.5%, diluir 2:1. La concentración de la muestra es aproximadamente de 125 microgramos por mililitro.

#### *Siembra*

Se realizó una inoculación directa de 500 microlitros de una disolución al 0.5 de Mc Farland de un cultivo de *E. coli* ATCC 10536, sobre la superficie del medio de cultivo. Tras esta inoculación se procedió a realizar tres líneas de pozos con capacidad de 300 microlitros cada uno. Se identificó cada línea para indicar en que pozo se va a colocar 100 microlitros de cada concentración de la curva estándar.

---

### *Incubación*

Las condiciones de temperatura y tiempo en incubadora fueron las siguientes: 36°C por 24 horas.

Las placas fueron almacenadas hasta tomar medidas de los halos de inhibición y posteriormente esterilizadas y desechadas.

### 5.8 Capacidad antimicrobiana *in vivo* de la solución oftálmica con clorhidrato de enrofloxacin

Un estudio clínico, multicéntrico, longitudinal, aleatorizado y en un entorno no hospitalario se realizó por parte del departamento de Fisiología y Farmacología; en donde se administraron 2 gotas de la solución oftálmica de clorhidrato de enrofloxacin elaborada, en cada ojo a 18 perros dos veces al día por una semana. Esto tras realizar las técnicas de diagnóstico estándar apropiadas para confirmar casos de conjuntivitis infecciosa para poder ser pacientes elegibles y participar.

No se administró ningún otro tratamiento, ni sistémico ni tópico a los sujetos del caso.

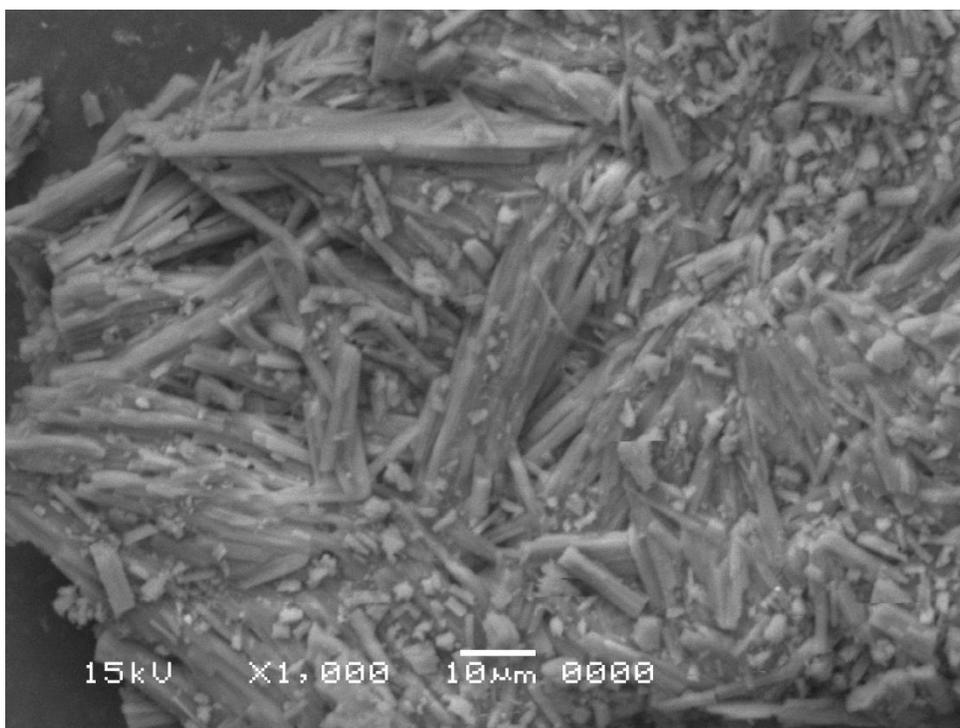
---

## 6. Resultados y discusión de resultados

### 6.1 Preformulación

#### 6.1.1 Apariencia del principio activo

La enrofloxacin base es un polvo de color amarillo y el clorhidrato de enrofloxacin es blanco. La apariencia del clorhidrato de enrofloxacin es claramente diferenciable de la enrofloxacin base. El clorhidrato de enrofloxacin es un polvo fino de color blanquecino que al ser purificado forma finos cristales incoloros. En la Figura 7 se muestra una micrografía del fármaco.



**Figura 7:** *Cristales del clorhidrato de enrofloxacin dihidratado, por Microscopia electrónica de Barrido.*

En la Figura 7 se pueden ver cristales alargados de clorhidrato de enrofloxacin, así como también se puede apreciar una gran distribución de tamaños de partículas. Se pueden observar cristales en forma de agujas de tamaños variados que van

---

desde menores a 10  $\mu\text{m}$  hasta 50  $\mu\text{m}$ . Esto nos indica que se encuentran diferentes tamaños de clorhidrato y que puede variar los tiempos de disolución de la sal.

La propiedad de esta sal al encontrarse en forma cristalina le confiere cualidades físicas de fácil disolución en agua.

Tras ser sintetizado el clorhidrato de enrofloxacin, no se observan partículas extrañas, que indicaran presencia de impurezas; ni partículas de color amarillo que indicaran la presencia de su precursor la enrofloxacin base.

### 6.1.2 pH

El pH del clorhidrato de enrofloxacin en una solución acuosa al 0.1%, es de 4.8. El clorhidrato de enrofloxacin es una sal acidifica el medio acuoso. El pH del clorhidrato de enrofloxacin en una solución al 0.5% (p/v) a 22°C es de 3.53. Podemos atribuir la disminución del pH a la disociación de la sal y a la exposición de la molécula y separación de iones cloruro y de protones.

El pH lagrimal se encuentra alrededor de 7.35- 7.40. Se encuentra reportado en diferentes fuentes que las preparaciones oftálmicas con pH de 4,5 cambian a 7.2 al ser aplicados sobre los ojos.<sup>49</sup>

### 6.1.3 Solubilidad

El clorhidrato de enrofloxacin posee una ventaja farmacéutica al ser soluble en agua. Según la definición y parámetros que maneja la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos en su versión vigente; el clorhidrato de enrofloxacin al tener una solubilidad intrínseca mayor a 11 mg/mL, es altamente soluble.

El estudio de la solubilidad del clorhidrato de enrofloxacin permite conocer otros disolventes, además del agua, en donde se puede colocar este compuesto para incluirlo en alguna formulación y administrarlo por diferentes vías de administración. La disolución de un compuesto le permite estar disperso molecularmente en el medio que lo contiene y facilita la permeabilidad de este; así como define su biodisponibilidad al ingresar al cuerpo de un organismo vivo. Por ejemplo, en el caso de una forma farmacéutica oral, que se encuentre disuelto y sea biodisponible.

En la tabla 10 podemos ver el comportamiento del clorhidrato de enrofloxacin en varios disolventes y la consideración de la tabla 4 de solubilidad.

**Tabla 10** Grado de solubilidad del clorhidrato de enrofloxacin.

<b>Disolvente:</b>	<b>Solubilidad:</b>
Agua	Muy soluble (11.44 mg/mL)
Etanol	Muy soluble
Propilenglicol	Ligeramente soluble
Polietilenglicol	Ligeramente soluble

6.1.4 Reología (Densidad aparente y compactada, velocidad de flujo y ángulo de reposo).

El comportamiento reológico del clorhidrato de enrofloxacin se muestra en la tabla 11.

**Tabla 11** Reología del clorhidrato de enrofloxacin.

<b>Determinación</b>	<b>Valor obtenido</b>	<b>Determinación</b>	<b>Valor obtenido</b>
Densidad	0.3572 g/mL	Densidad	0.4546 g/mL
Aparente	0.3450 g/mL	Compactada	0.4654 g/mL
	0.3390 g/mL		0.4762 g/mL
Promedio: $\bar{x}$	0.3470 g/mL	Promedio: $\bar{x}$	0.4654 g/mL
Índice de Carr	27.27	Índice de Hausner	1.27
$100(V_o - V_f) / V_o$	34.88	$V_o / V_f$	1.34
	40.47		1.40
Promedio: $\bar{x}$	34.20	Promedio: $\bar{x}$	1.33
Consideración	Pobre flujo	Consideración	Pobre flujo

La velocidad de flujo y el ángulo de reposo del clorhidrato no fueron posibles de determinarlos ya que el polvo de la sal no fluyo a través del embudo. Mencionado

---

lo anterior; se indica que esta tiene un pobre ángulo de reposo y una pobre velocidad de flujo.

Lo anterior, se apoya también con los resultados obtenidos en el punto 6.1. La morfología del clorhidrato es una forma equidimensional con bordes afilados, lo que le confiere un flujo menor que el de los compuestos o moléculas con formas esféricas.<sup>51</sup>

#### 6.1.5 Análisis térmico

A continuación, se muestran los termogramas obtenidos para la evaluación de los agentes compatibles con el clorhidrato de enrofloxacin para la solución oftálmica. Se indican las claves de las muestras y las temperatura en grados celcius.

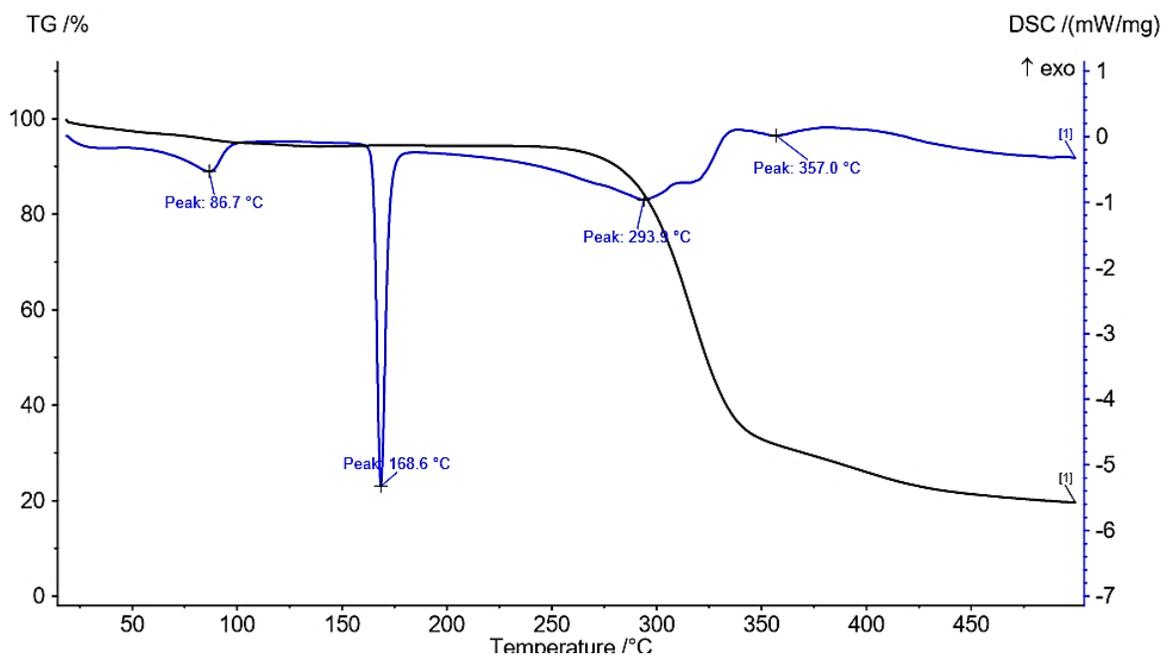
La Termogravimetría (TG) es una técnica que determina el cambio de peso de un material con el incremento de la temperatura o avance del tiempo, haciendo uso de diferentes atmósferas de trabajo (nitrógeno, helio, aire, etc.).

La técnica de Calorimetría de Barrido Diferencial (DSC) proporciona el cambio de calor asociado a cualquier proceso, proveniente ya sea de un cambio físico (como la fusión), o de uno químico, (como la descomposición, oxidación, etc.).

Cuando se obtienen los resultados de ambas técnicas de manera simultánea, se cuenta con una gran cantidad de información respecto a un material, ya que a la vez que se evalúa el proceso de descomposición del material, se puede conocer la cantidad de calor implicada en cada etapa del proceso.

Línea azul termograma (TG). Línea negra calorimetría diferencial de barrido (DSC).

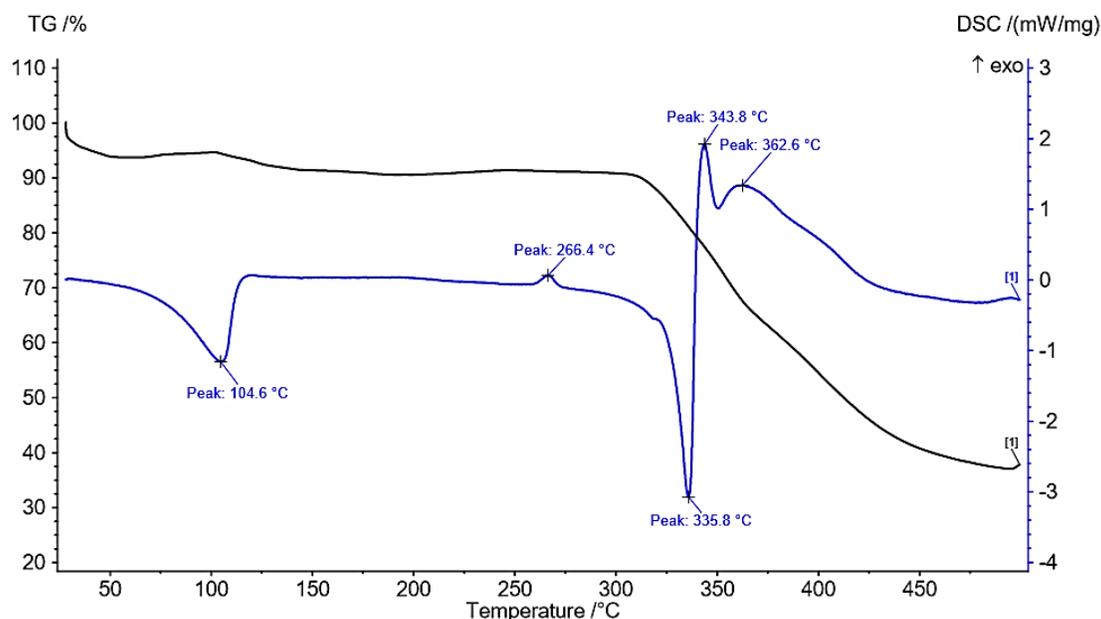
La imagen 8 muestra el termograma y la calorimetria diferencial de barrido para la mezcla solida de Clorhidrato de enrofloxacin con Manitol en proporción 1:1, con clave: CMA-I.



**Imagen 8:** TG y DSC de Clorhidrato de enrofloxacin con Manitol (1:1). CMA-I.

El pronunciado pico hacia abajo que se muestra en la imagen anterior corresponde a la fusión del manitol, El manitol posee un alto punto de fuión (165-169°C).

En la siguiente imagen 9 podemos ver el comportamiento del clorhidrato de enrofloxacina.

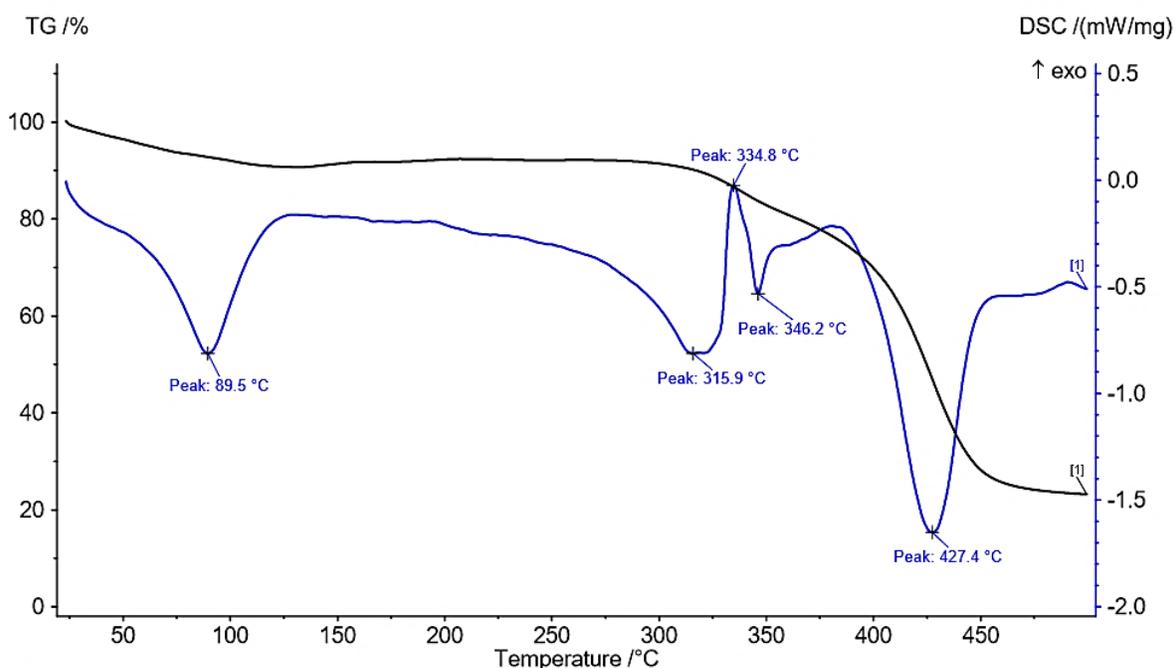


**Imagen 9:** TG y DSC del clorhidrato de enrofloxacina. CENR-II.

En el termograma de la imagen 9 se puede observar un pico hacia abajo a los 104.6°C; esta temperatura es a la cual se evapora el agua, es probable que haya sido captado en el equipo la pérdida de cierta cantidad de agua (aprox. 2 - 4%).

A los 327°C el clorhidrato de enrofloxacin tiene un punto de fusión endotérmico (reportado en la patente de registro) es posterior a esta temperatura que se logra ver una disminución de la masa presente en la muestra, esto debido a la fusión y/o degradación del antibiótico.

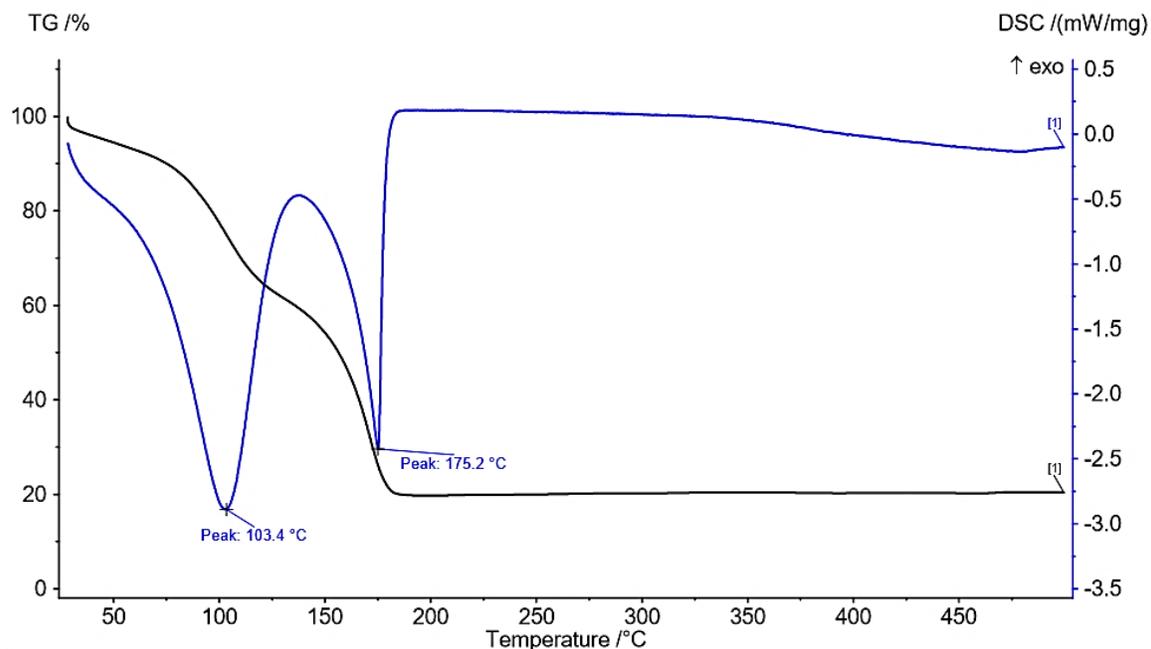
Se puede ver también el cambio de punto de fusión entre la base enrofloxacin y el clorhidrato de enrofloxacin. El punto de fusión del primero era 219-221°C y este no aparece confirmando la presencia de una nueva entidad. La nueva entidad, el clorhidrato al ser una sal posee la característica de aumentar su capacidad térmica (fusión).



**Imagen 10:** TG y DSC de clorhidrato de enrofloxacin y PVP K-30 (1: 1). CPV-I.

En la imagen 10, el termograma contiene una porción 1 a 1 de PVP- K30 y clorhidrato de enrofloxacin.

En la imagen 10 se pueden .ver tres picos en el TG y despues de esto comienza la pérdida de materia. Desde los 305°C comienza a ocurriruna degradación del clorhidrato de enrofloxacina y del PVP K-30.



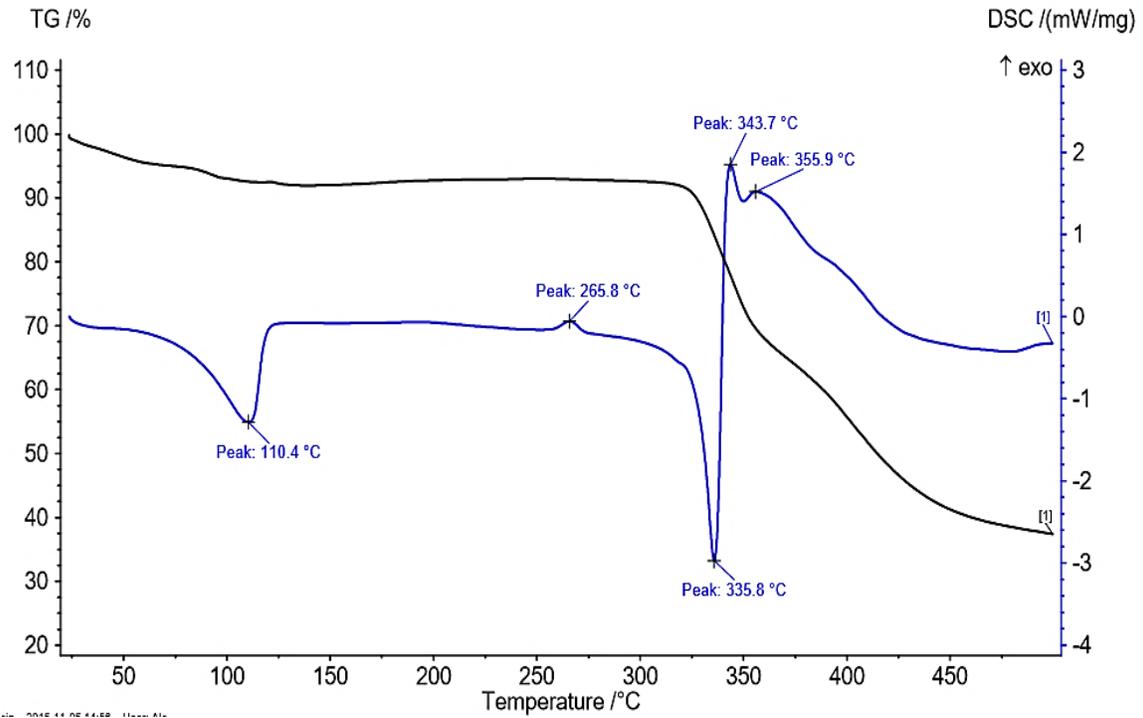
**Imagen 11:** TG y DSC de clorhidrato de enrofloxacino con propilenglicol (1.1). ACPG-I.

En la imagen 11 se puede ver la mezcla liquidade propilenglicol y clorhidrato de enrofloxacina. Aquí con el calentamiento hay una gran perdida demasa en los primeros 150°C.

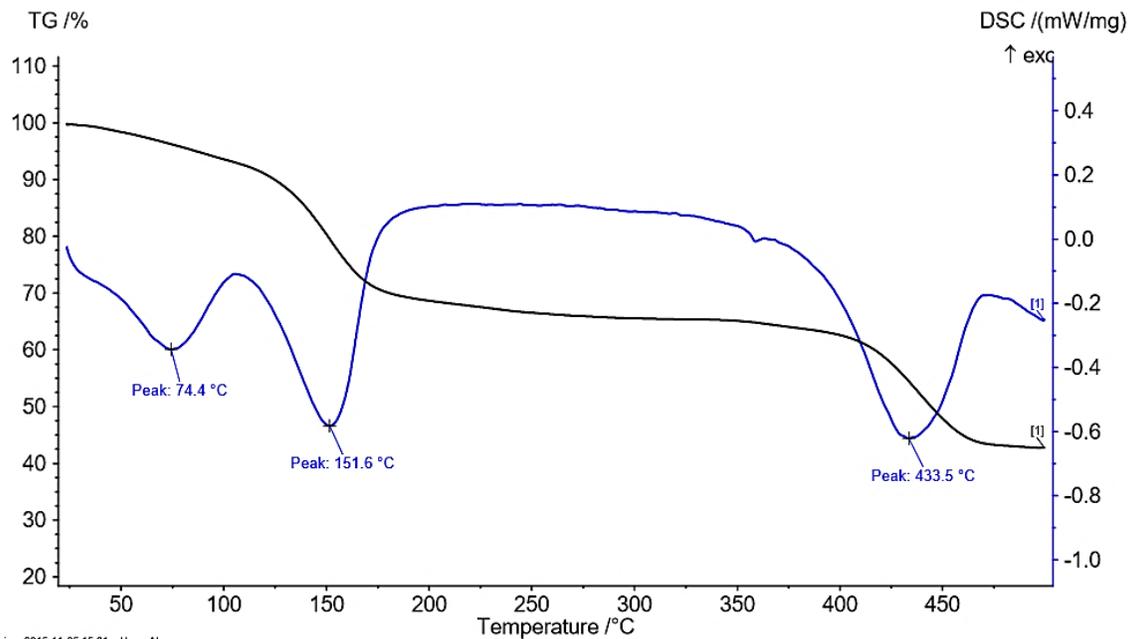
El punto de fusion del propilenglicol es 59°C, esta temperatura no fue marcada en el TG pero desde aproximadamente esa temperatura se puede ver perdida de masa.

La temperatura de ebullición del propilenglicol es de 184°C temperatura muy cercana al siguiente pico o punto marcado en la imagen.

A continuación la imagen 12 que posee otra muestra del clorhidrato de enrofloxacina, se muestra el mismo patrón que la imagen 9. Sólo se confirmaron datos.



**Imagen 12:** TG y DSC de cristales de clorhidrato de enrofloxacina. CRIE-II.



**Imagen 13:** TG y DSC de la solución oftálmica con clorhidrato de enrofloxacina. (PVP K-30, agua, Clorhidrato de enrofloxacina, propilenglicol). SOLOFT-I

---

Los primeros ciclos de calentamiento se realizaron a altas temperaturas para someter a los componentes a cambios drásticos y revelar efectos no comunes. El desarrollo de estas pruebas se llevó a cabo bajo una atmosfera controlada de humedad y de concentración de oxígeno para revelar interacciones del ingrediente activo y de los aditivos.

En el apéndice I se pueden observar los termogramas integrados, así como los DSC en los ciclos de calentamiento- enfriamiento de las muestras anteriores.

En las muestras de clorhidrato de enrofloxacin se puede observar la pérdida de agua a los 100°C, ya que en los termogramas hay una disminución de peso de aproximadamente del 5%; y en la muestra líquida mezcla agua propilenglicol, se pierde el 35% de peso de la muestra a los 100°C.

Las dos muestras de cristales de enrofloxacin muestran el mismo comportamiento; éste no se ve afectado al encontrarse en solución con polivinilpirrolidona ni con propilenglicol.

El no ver estados de transición en el último termograma (Imagen 13) de la solución oftálmica de clorhidrato de enrofloxacin no nos indica la presencia de la formación de nuevos entes o compuestos; por lo que se considera que no hay interacciones entre los compuestos de la fórmula.

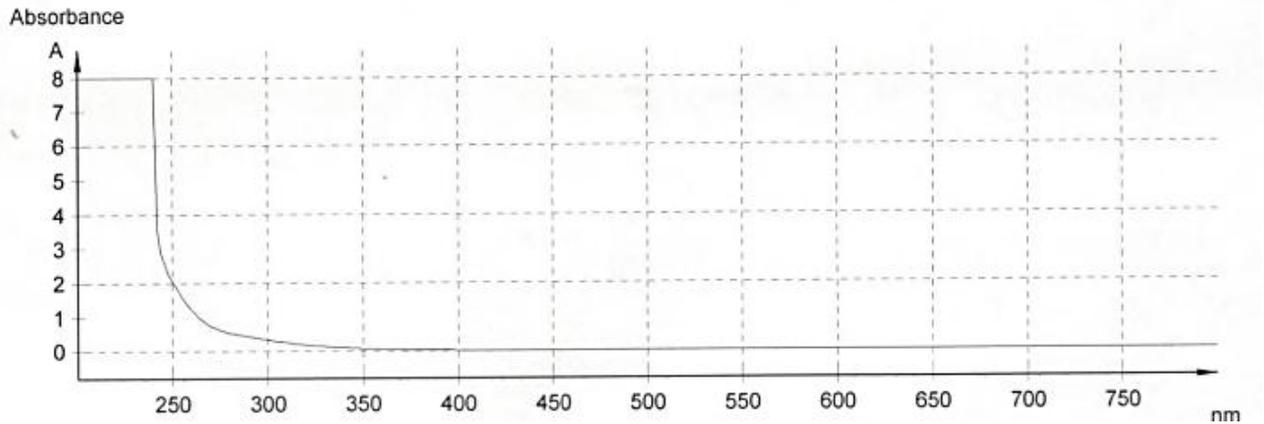
## 6.2 Formulación

Tras realizarse las pruebas de preformulación; se designaron como componentes de la fórmula de la solución oftálmica de clorhidrato de enrofloxacin a: el propilenglicol y la PVP K-30. Estos componentes no muestran interferencia con el principio activo o entre excipientes.

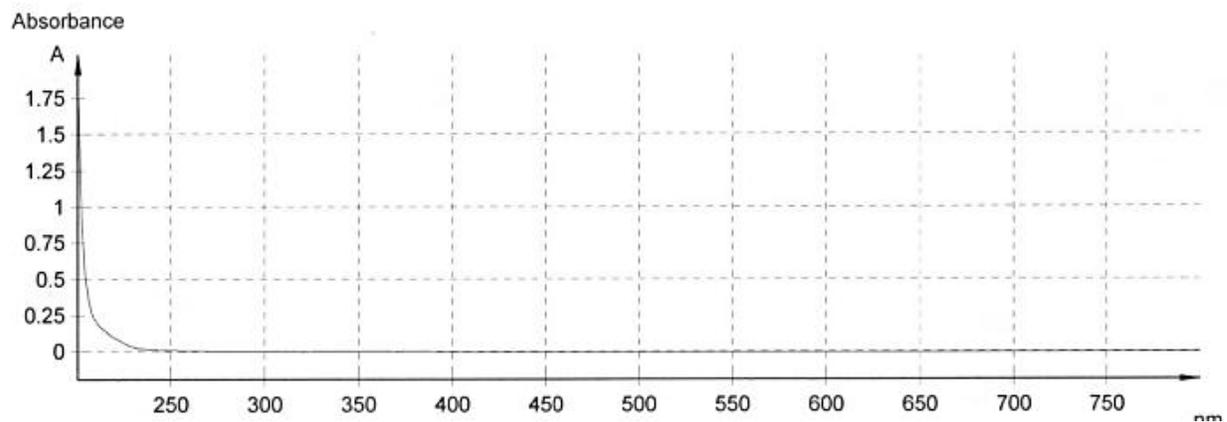
Adicionalmente al análisis térmico, las mezclas de clorhidrato de enrofloxacin con los excipientes elegidos fueron observadas por espectrofotometría ultravioleta para ver si estas interferían con la identificación; resultado no ser así, no interfieren.

---

En las figuras 14 y 15 se observa el espectro ultravioleta de PVP K-30 y del Propilenglicol respectivamente.

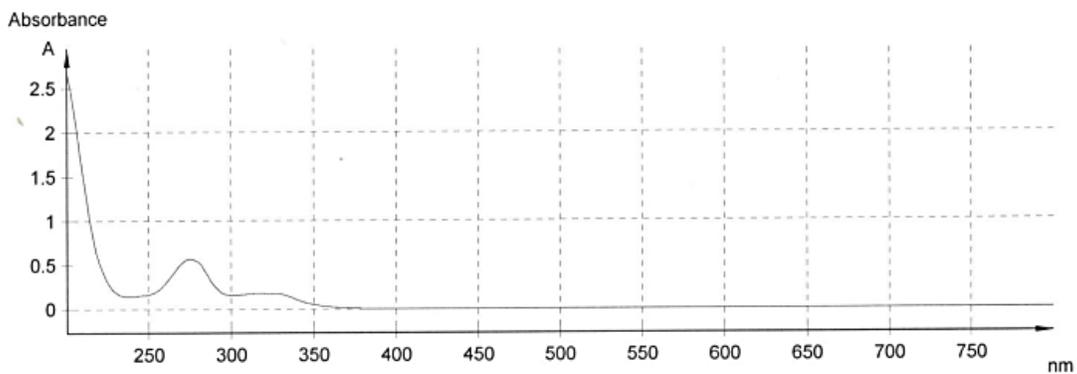


**Figura 14:** Espectro ultravioleta de agua con Polivinilpirrolidona K-30.



**Figura 15:** Espectro ultravioleta de agua con propilenglicol.

En la Imagen 16 se puede ver el espectro ultravioleta de la solución oftálmica diluida.



#### Parameters

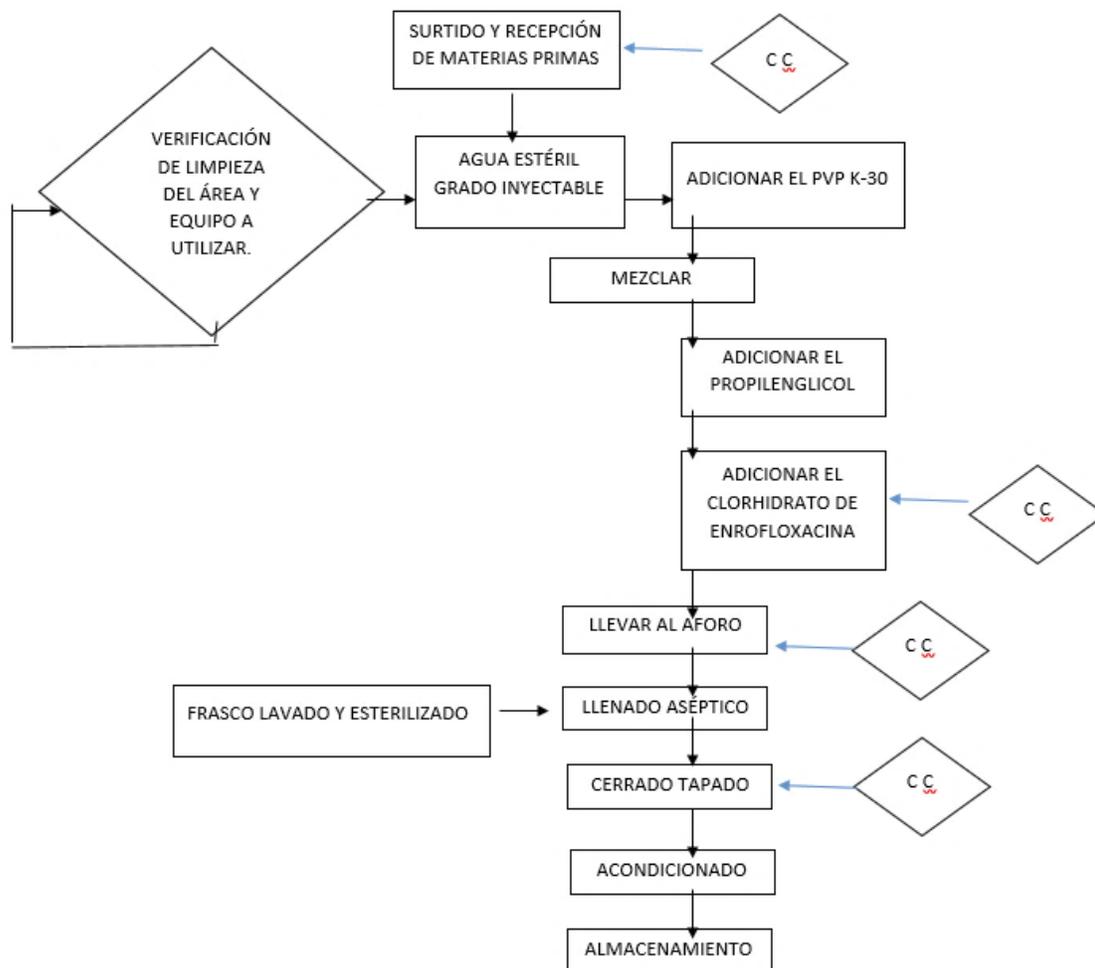
Title	
Operator	
File name	C:\Users\M73z\Documents\NAM\marzo-16\dilucion 10ul-20ml\solo ft10ulen50ml.dat
Designation	SPECORD 210 PLUS - 223F1518
Title	2014_03_31_blanco
Operator	NALLELY
Date/Time	31/03/2016 16:14
Display	Absorbance
Correction	Reference
Slit	1 nm
Lamp change at	320 nm
Meas. mode	Spectral Scan
Range [nm]	200 - 800
Delta lambda [nm]	2
Speed [nm/s]	20

**Figura 16:** *Espectro UV de una muestra diluida de la solución oftálmica de clorhidrato de enrofloxacin.*

En el espectro anterior no se observan otros picos más que el característico de enrofloxacin a 280 nm.

### 6.3 Fabricación de una solución oftálmica con clorhidrato de enrofloxacin

En la Figura 17, se encuentra el diagrama donde se mencionan los puntos en los que pueden hacer los muestreos para control de calidad; ya que estos son puntos críticos.



**Figura 17:** Diagrama del proceso de la elaboración de la solución oftálmica de clorhidrato de enrofloxacin.

El diagrama nos permite rápidamente identificar los pasos a seguir en la fabricación de la solución oftálmica, también nos permite identificar los puntos críticos de control. Es sumamente importante conocer las condiciones del producto para determinar si se continúa con el proceso o si se detiene a fin de corregir el proceso (siempre que sea posible).

El Procedimiento Normalizado de Operación para la fabricación de la solución oftálmica de clorhidrato de enrofloxacin se realizó y se encuentra en el apéndice II.

---

## 6.4 Evaluación de la solución oftálmica de clorhidrato de enrofloxacin

En un certificado de control de calidad se mencionan las características o especificaciones esperadas del producto terminado. Este documento se encuentra en el apéndice III.

### 6.4.1 Apariencia

Las soluciones oftálmicas de clorhidrato de enrofloxacin presentaron una apariencia que entra dentro de la especificación; ligeramente amarilla traslucida sin partículas extrañas visibles.

En la tabla 12 se muestra la tabla en donde se colocaron los valores obtenidos.

**Tabla 12:** *Apariencia de 3 lotes de solución oftálmica fabricados.*

<b>Lote:</b>	<b>Descripción</b>	<b>Especificación</b>	<b>Resultado</b>
1	Solución transparente ligeramente amarilla libre de partículas visibles, turbiedad decoloración.	Solución transparente ligeramente	Cumple
2	Solución transparente ligeramente amarilla libre de partículas visibles, turbiedad decoloración.	amarilla libre de partículas	Cumple
3	Solución transparente ligeramente amarilla libre de partículas visibles, turbiedad decoloración.	visibles, turbiedad decoloración.	Cumple

La apariencia es una característica básica que se debe de cumplir conforme a lo indicado en las especificaciones; esto por el fin de que debe ser agradable a la vista de los usuarios y no causarles dudas sin que quepa la posibilidad de alguna contaminación en el producto.

El cuidado de esta característica organoléptica es esencial, ya que es la característica perceptible muestra en su apariencia su estado inocuo y límpido.

---

### 6.4.2 pH

A continuación, se muestra la tabla 13 donde se mencionan los valores de pH obtenidos de 3 lotes de solución oftálmica fabricada en diferentes días.

**Tabla 13:** *Determinación de pH de la solución oftálmica de clorhidrato de enrofloxacin a 25°C.*

Lote	Fecha de elaboración	pH	Especificación	Resultado
No.1	10 noviembre 2015	4.66	3.5-7.0	Cumple
No.2	3 septiembre 2015	4.70		Cumple
No.3	8 mayo 2016	4.89		Cumple
	Promedio: $\bar{x}$ :	4.75		

En caso de no encontrarse en este rango se ajusta para que estas sean confortables y no provocar ardor, irritación o parpadeo después de su aplicación.

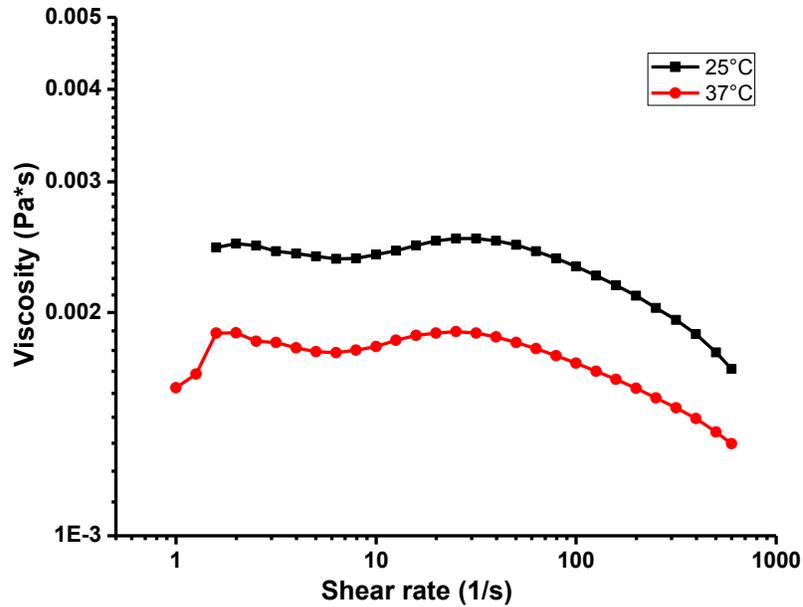
Se puede ver en la tabla 13 que los resultados de pH obtenidos se encuentran dentro de la especificación.

Los valores de pH encontrados en la literatura (4.5-9), comentan que este rango se puede reducir y ser más estricto en el cumplimiento de este importante valor a considerar en la irritabilidad ocular.

En los valores obtenidos de pH se puede ver que es el valor en el que el clorhidrato de enrofloxacin alcanza su mayor solubilidad; esto muy probablemente debido a la disociación de la molécula por su pKa.

### 6.4.3 Reología de la solución oftálmica de clorhidrato de enrofloxacin

En la Figura 18 se puede ver que la viscosidad de la solución oftálmica de clorhidrato de enrofloxacin es menor al aumentar la temperatura, esto se debe a la modificación de la energía cinética presente en las moléculas lo cual disminuye la resistencia a fluir y por eso es menor el valor de viscosidad.



**Figura 18:** *Curvas de la viscosidad de la solución oftálmica de clorhidrato de enrofloxacin en relación a la velocidad de corte, determinación a 25 y 37°C.*

Esta comparación del mismo sistema a diferentes temperaturas, permite mostrar que el producto puede disminuir su viscosidad al encontrarse a temperaturas más altas, pero no cambia el patrón de viscosidad del sistema.

Se puede observar en la Figura 18 que la solución oftálmica a temperatura constante de 25° y de 37°C presenta pseudoplasticidad ya que, al aumentar la velocidad de corte o esfuerzo cortante, disminuye su viscosidad aparente. Esta es una ventaja porque al estar en reposo tiene cierta viscosidad y esta disminuye al agitarla, esta propiedad es benéfica para que al instilarse en el ojo se adhiera mejor al formar una capa más viscosa.

El conocer que la solución es pseudoplástica nos explica su viscosidad y adherencia. Una solución pseudoplástica es de un fluido no newtoniano independiente del tiempo y sin umbral. Las características pseudoplásticas de las soluciones facilitan su bombeo y las operaciones de llenado.<sup>72, 73</sup>

También se puede observar que, a las temperaturas probadas, la solución oftálmica conserva su comportamiento, se podría decir, casi de manera paralela.

#### 6.4.4 Viscosidad

En la tabla 14 se pueden ver los valores de viscosidad que mostraron tres soluciones oftálmicas de clorhidrato de enrofloxacin.

**Tabla 14:** Viscosidad de tres lotes de solución oftálmica de clorhidrato de enrofloxacin.

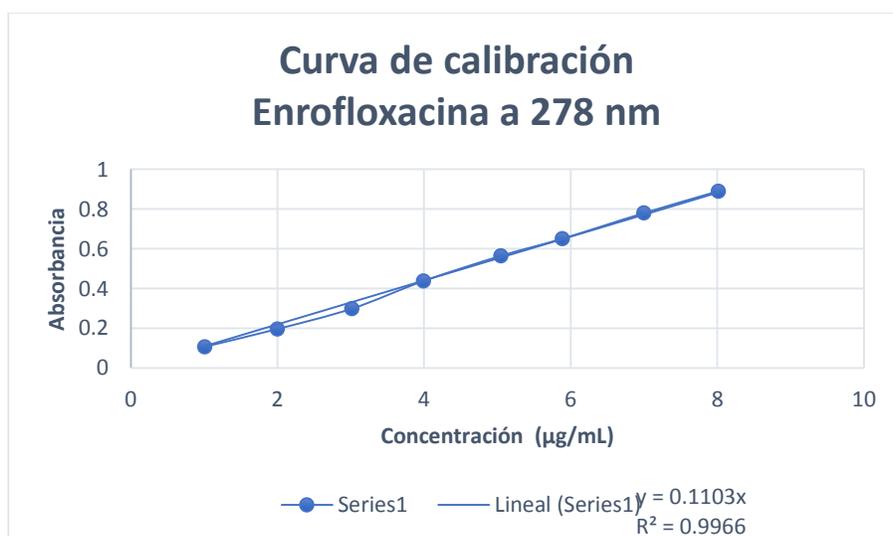
Lote	Viscosidad	Especificación	Resultado
No.1	22 MPa*s	19 a 25 MPa*s	Cumple
No.2	23 MPa*s		Cumple
No.3	21 MPa*s		Cumple
Promedio: $\bar{x}$	22 MPa*s		

La viscosidad de la solución oftálmica a 25°C fue de 22 MPa\*s en promedio. Este valor es aceptable.

La viscosidad es pequeña y se encuentra en un rango aceptable, puede proporcionar comfortable al ojo canino<sup>74</sup>. Como se puede ver en la tabla 14 no existe una variabilidad mayor al 15% entre los resultados de esos tres lotes fabricados.

#### 6.4.5 Valoración

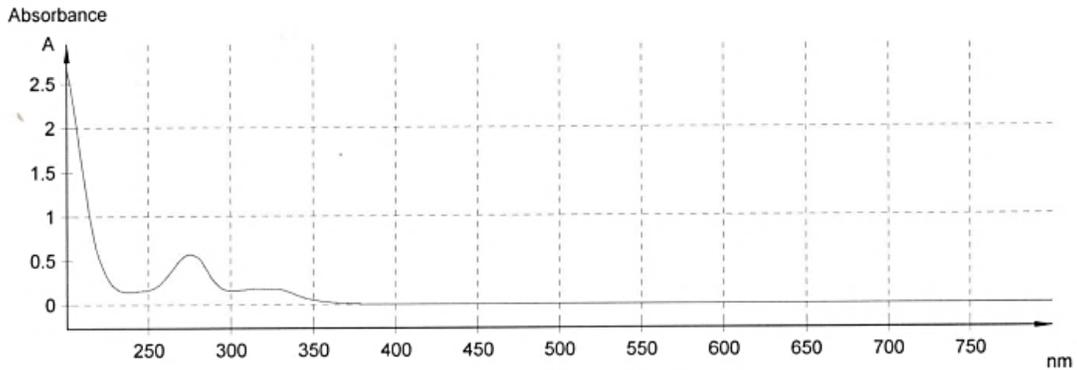
En la figura 19 se ve la curva de calibración de enrofloxacin.



**Figura 19:** Curva de calibración de enrofloxacin a 278 nm.  $Y = 0.1103x$   $R^2: 0.99762$

---

En la figura 20 se puede ver el espectro UV de una muestra de 100  $\mu\text{L}$  de solución oftálmica diluido en 100 mL. Esta es una muestra de una solución oftálmica recién elaborada.



**Figura 20.** Espectro UV de la muestra SO-01 de solución oftálmica de clorhidrato de enrofloxacin.

La absorbancia de la muestra SO-01 fue de: 0.5645 A

Substituyendo en:

$$X = \left( \frac{Abs}{0.1103} \right) = \text{--- } \mu\text{g/mL}$$

$$X = \left( \frac{0.5645}{0.1103} \right) = 5.118 \mu\text{g/mL}$$

El porcentaje es:

$$X = \left( \frac{5.118}{5.0} \right) (100) = 102.4\%$$

La concentración y porcentaje obtenido de la muestra indica que cumple con la especificación ya que se encuentra dentro de 90% y 110%.

El análisis espectrofotométrico nos permitió identificar y cuantificar, en el espectro de absorción en la región ultravioleta, que va de 190 a 380 nm, el clorhidrato de enrofloxacin.

---

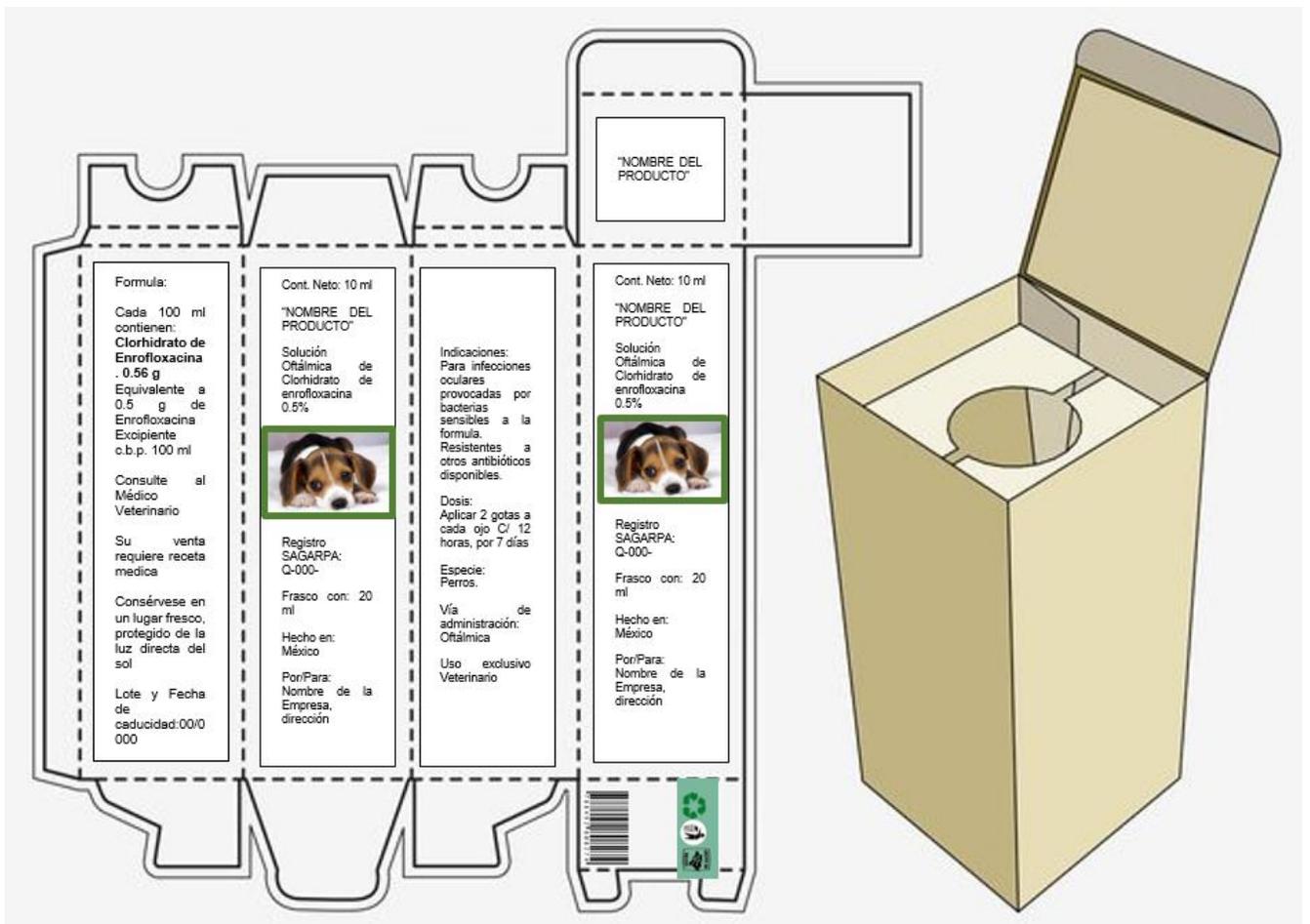
## 6.5 Etiquetado y acondicionamiento

En la figura 21 se puede ver el proyecto de marbete del producto elaborado. La etiqueta de la solución oftálmica con clorhidrato de enrofloxacin posee la información requerida por la entidad regulatoria.

En el Apéndice VI se puede ver el marbete y el contenido de la etiqueta.

El correcto etiquetado permite la adecuada identificación de productos farmacéuticos veterinarios para las entidades regulatorias, así como el rastreamiento para retiro de producto fuera de especificaciones o para eliminar productos falsificados. Una buena etiqueta o marbete, permite manejar correctamente un producto, tanto para el fabricante como para el usuario final; es importante señalar que debe contar con todos los datos requisitados por la autoridad sanitaria responsable.

La información necesaria para la etiqueta de un producto farmacéutico veterinario es: nombre comercial del medicamento, fórmula, contenido neto, marca del fabricante, dosis, número de registro del producto, leyendas de identificación “USO VETERINARIO”, “CONSULTE AL MEDICO VETERINARIO”, “SU COMERCIALIZACIÓN REQUIERE RECETA MEDICA”, requiere indicaciones de uso, lote, fecha de caducidad, y las advertencias.



**Figura 21.** Proyecto de etiqueta de la solución oftálmica de clorhidrato de enrofloxacin.

La fecha de caducidad y el modo de empleo; son muy importantes porque estas indican el tiempo de vida media del producto, así como las condiciones para almacenar y manejar el producto.

### 6.6 Estudios de estabilidad

En la tabla 15, se pueden ver los valores agrupados de las evaluaciones a los parámetros de la solución oftálmica de clorhidrato de enrofloxacin, tras colocar el producto en condiciones especiales para el estudio de estabilidad.

### 6.6.1 Apariencia

Las soluciones oftálmicas de clorhidrato de enrofloxacin almacenadas por tres meses a las condiciones de 40°C presentaron una buena apariencia. Las soluciones oftálmicas líquidas de color ligeramente amarillo sin partículas extrañas visibles, turbidez u opalescencia; la cual coincide con la especificación.

### 6.6.2. Valoración

En la tabla 15 se puede ver el reporte del estudio de estabilidad de la solución oftálmica de clorhidrato de enrofloxacin.

**Tabla 15:** Reporte del estudio de estabilidad acelerada de la solución oftálmica de clorhidrato de enrofloxacin.

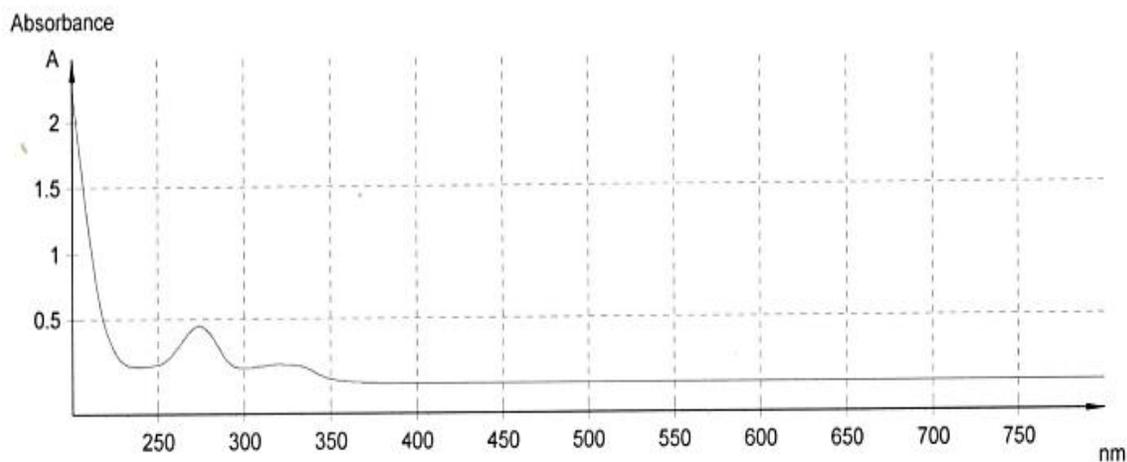
Empresa:	Nombre del medicamento:			Concentración:
Forma Farmacéutica: Solución oftálmica	Presentación: 100 mL		Lote:	
Tipo y composición del envase: Frasco de vidrio				
Fecha de elaboración:				
Tiempo:	INICIO:	MES 1:	MES 3:	CONCLUSIONES
Fecha:	Nov-16	Dic-17	Feb-17	La solución oftálmica de clorhidrato de enrofloxacin cumple con las especificaciones.
Condiciones:	TEMP. AMBIENTE	40°C ± 2°C Humedad Ambiente	40°C ± 2°C Humedad Ambiente	
Especificación: Aspecto: Valoración:	Cumple Cumple	Cumple Cumple	Cumple Cumple	
Propuesta del Periodo de Caducidad: 6 meses después de su fabricación				
Bibliografía: NOM-073-SSA1-2005. Estabilidad de Fármacos y Medicamentos, así como de remedios herbolarios.				
Analizó: QFB: Nallely Arenas Químico de Desarrollo Farmacéutico Fecha:			Autorizó: Gerente de Control de Calidad Responsable Sanitario Fecha:	

---

El resultado de la valoración de un frasco de solución oftálmica de clorhidrato de enrofloxacin almacenado en condiciones de alta temperatura, se muestra en el reporte de estudio de estabilidad.

Se realizó un protocolo del estudio de estabilidad del producto solución oftálmica de clorhidrato de enrofloxacin. Este se encuentra en el apéndice VI.

En la figura 22 se puede ver el espectro UV de una muestra de solución oftálmica de clorhidrato de enrofloxacin almacenada por 3 meses a 40°C.



**Figura 22.** Espectro UV de la muestra SO-02 de solución oftálmica de clorhidrato de enrofloxacin.

Cálculos:

0.56 g de clorhidrato de enrofloxacin es equivalente a 0.50 g de enrofloxacin base.

$$X = \left( \frac{0.5 \text{ g de Enro base}}{100 \text{ mL}} \right) \left( \frac{0.1 \text{ mL}}{100 \text{ mL}} \right) = 0.000005 \frac{\text{g}}{\text{mL}}$$

$$X = \left( \frac{0.000005 \text{ g}}{1} \right) \left( \frac{1000 \text{ mg}}{1 \text{ g}} \right) \left( \frac{1000 \mu\text{g}}{1 \text{ mg}} \right) = 5.0 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$$

La absorbancia de la muestra SO-02 fue de: 0.4875 A

Substituyendo en:

$$X = \left( \frac{Abs}{0.1103} \right) = \text{--- } \mu g/mL$$

$$X = \left( \frac{0.5201}{0.1103} \right) = 4.7153 \mu g/mL$$

El cálculo del porcentaje es:

$$X = \left( \frac{4.7153}{5.0} \right) (100) = 94.3\%$$

A continuación se muestran los valores de absorbancia de dos soluciones oftálmicas tiempo después de ser elaboradas. Sus espectros no muestran curvas desfasadas o entrecortadas.

**Tabla 16** Valores de las absorbancias de los espectros de las soluciones de clorhidrato de enrofloxacin a diferentes tiempos.

Identificación	Absorbancia	Factor de Dilución	Concentración (mg/mL)
Muestra recién elaborada	0.5645	1000	5.12
Muestra de estabilidades	0.4875	1000	4.71

### 6.6.3 Análisis por cromatografía líquida de alta resolución (CLAR)

A continuación, se mostrarán los cromatogramas obtenidos tras el análisis por CLAR de la solución oftálmica de clorhidrato de enrofloxacin donde se puede ver el pico de enrofloxacin al tiempo de retención que su estándar (Enrofloxacin).

En las figuras 23 y 24 se puede ver el pico característico del clorhidrato de enrofloxacin en los cromatogramas del análisis de la solución oftálmica de con el antibiótico.

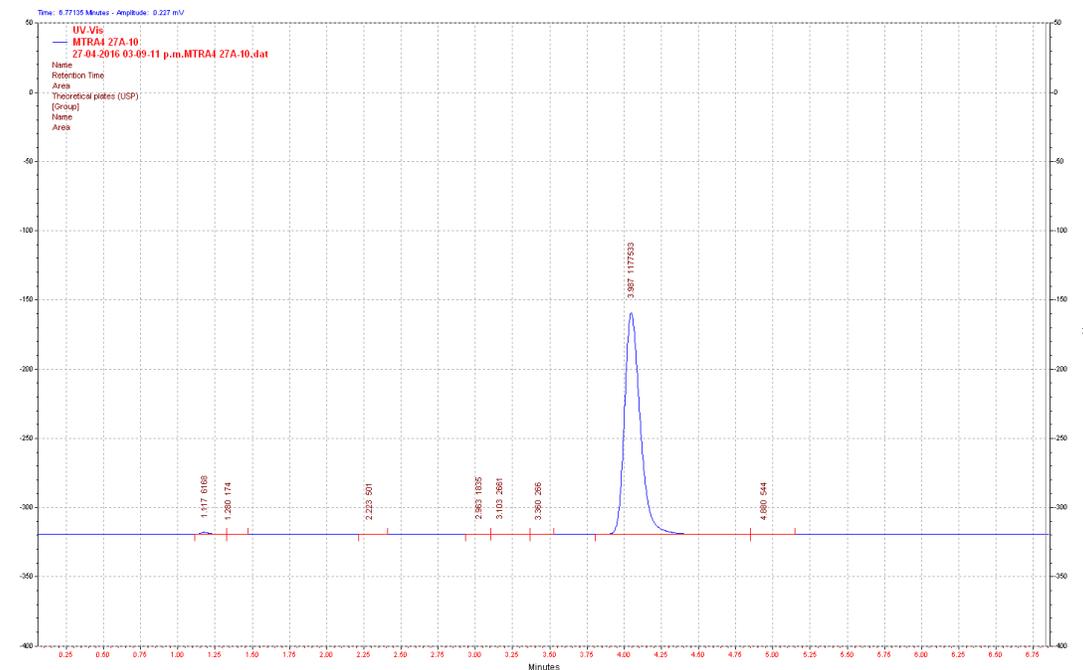


Figura 23. Cromatograma para muestra que esta de solución oftálmica.

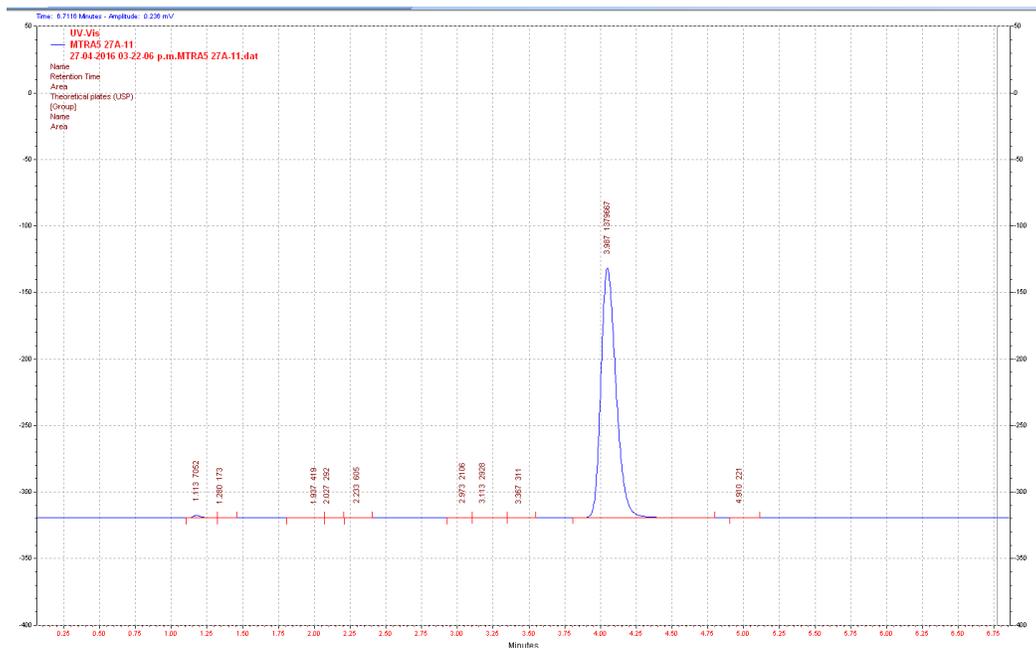
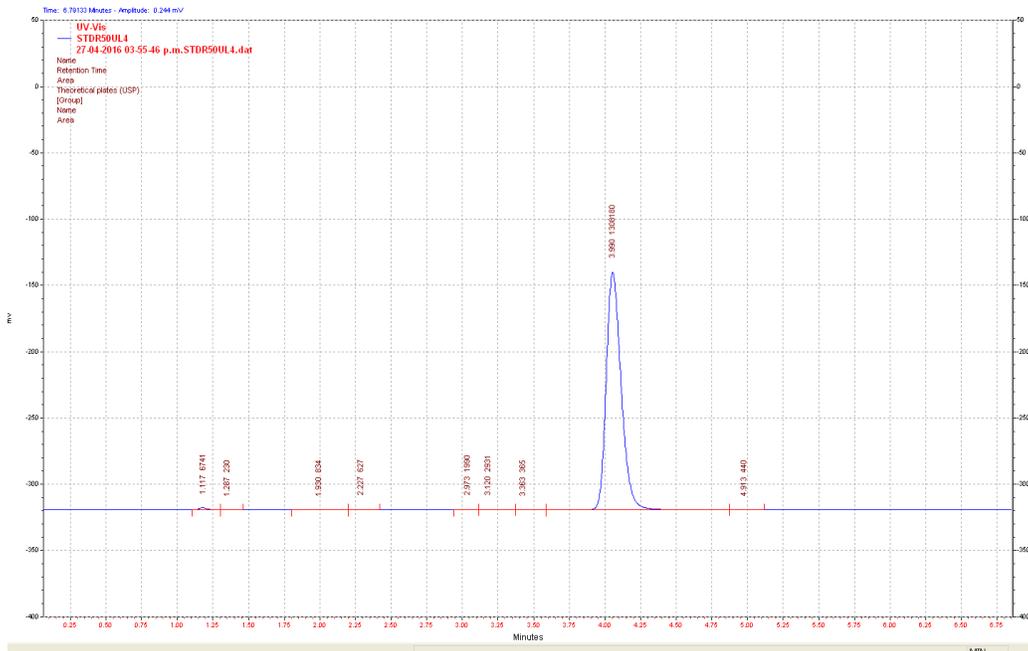
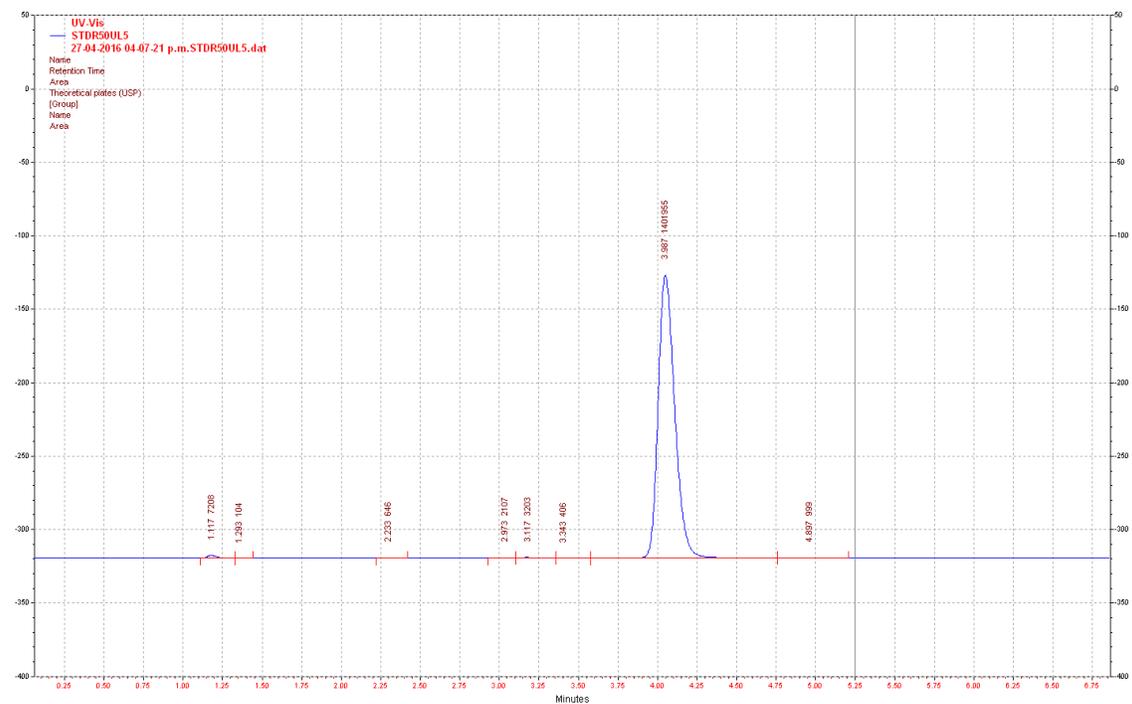


Figura 24. Cromatograma para muestra que esta de solución oftálmica.



**Figura 25.** Cromatograma de la referencia enrofloxacin 50 microlitros  $t_R= 3.99$



**Figura 26.** Cromatograma de la referencia enrofloxacin 50 microlitros.  $t_R= 3.90$

En los análisis cromatográficos fue posible identificar la presencia del clorhidrato de enrofloxacin en varias muestras, tanto en las que se mantuvieron a temperatura

ambiente como las de 40°C. Se puede ver en los cromatogramas que aparece al mismo tiempo de retención: 3.9.

**Tabla 17** *Tiempos de retención, Áreas Bajo la Curva del análisis de la referencia y de dos muestras tras el sometimiento a estabilidades. Concentración y porcentaje.*

	<b>t<sub>R</sub></b>	<b>ABC</b>	<b>Promedio ABC</b>	<b>Concentración</b>	<b>%</b>	<b>Promedio %</b>
<b>S Ref 1</b>	3.987	1388180	1395067.5	5 µg/mL	100	
<b>S Ref 2</b>	3.99	1401955		5 µg/mL	100	
<b>muestra 1</b>	3.987	1379667	1368600.0	4.92 µg/mL	98.4	98.1
<b>muestra 2</b>	3.987	1357533		4.89 µg/mL	97.8	

Se puede ver en estos datos el buen comportamiento del clorhidrato de enrofloxacin en la formulación de la solución oftálmica, aunque se haya colocado en una condición de alta temperatura.

#### 6.7 Actividad antimicrobiana in vitro de la solución oftálmica con clorhidrato de enrofloxacin

En la tabla 18 se puede ver el promedio de los diámetros de los halos de inhibición de crecimiento bacteriano en la curva estándar.

Y en la tabla 19 se puede ver el promedio de los diámetros de los halos de inhibición de crecimiento bacteriano de la solución oftálmica diluida.

**Tabla 18** Valores promedio de los halos de inhibición del crecimiento bacteriano para la curva del estándar Enrofloxacin.

Concentración la referencia (microgramos/mL)	Halo de inhibición $\bar{x}$ (mm)
200.00	24.35
100.00	21.71
50.00	18.79
20.00	16.37
10.00	15.69
5.00	12.82
1.00	9.16
0.50	6.06

**Tabla 19:** Valores promedio de los halos de inhibición del crecimiento bacteriano con la solución oftálmica de clorhidrato de enrofloxacin Conc. 50 microgramos/mL

Halo de inhibición de la solución oftálmica (mm)	Promedio (mm)
22.33	$\bar{x}$ : 22.71
22.46	
23.66	
23.64	
22.61	
21.54	

---

Los resultados obtenidos rebasaron nuestras expectativas, ya que los halos de inhibición de la solución oftálmica de clorhidrato de enrofloxacin son mayores al de la solución con enrofloxacin a la misma concentraci3n. Se consider3 que el propilenglicol de la formula tena actividad sin3rgica, pero se realiz3 el reto s3lo con este disolvente sin obtener efecto antibacteriano.

Con esta prueba se pone de manifiesto la efectividad antimicrobiana en difusi3n del clorhidrato de enrofloxacin en agar contra *E. coli*. Con estos valores (mayores halos de inhibici3n) se confirma la eficacia del clorhidrato de enrofloxacin.

#### 6.8 Capacidad antimicrobiana *in vivo* de la soluci3n oftálmica con clorhidrato de enrofloxacin

Actualmente se encuentra en revisi3n un artculo

En la figura 16 se muestran algunos de los caninos incluidos en el estudio y que fueron tratados con la soluci3n oftálmica de clorhidrato de enrofloxacin.



**Figura 27:** Fotografía de los 4 caninos a ser tratados con clorhidrato de enrofloxacina.

Al aplicarles el producto no se rascaron o tallaron con las patas, no muestran signos de molestia. Lo anterior indica que la formulación ofrece confort ocular por la fórmula.

En la siguiente imagen se puede ver el efecto terapéutico de la solución oftálmica de clorhidrato de enrofloxacina en dos caninos incluidos en el estudio.



A)



B)



A)



B)

**Figura 28.** *Fotografías de dos de los animales tratados que mostraron mejoría. A) Antes del tratamiento B) Después del tratamiento.*

---

## 7. Conclusiones

- Una solución oftálmica de uso animal destinada a caninos fue diseñada, evaluada y desarrollada utilizando el primer antibiótico latinoamericano resultado de la optimización y mejora en su solubilidad; el clorhidrato de enrofloxacin.
- Los estudios de interacción entre posibles excipientes de una forma farmacéutica líquida de uso oftálmico, se realizaron y con ello se determinaron las materias primas óptimas para la solución oftálmica. (Agua isotónica estéril, PVP, propilenglicol, clorhidrato de enrofloxacin)
- El comportamiento de las materias primas de la fórmula fue evaluado por DSC Y TGA, así como también el comportamiento del producto terminado no encontrando descomposición o formación de otras entidades.
- Se describieron los pasos que se llevan a cabo para la integración de un expediente. La documentación e información técnica generada es de gran utilidad como apoyo para el registro sanitario de un producto farmacéutico de uso animal.
- Este proyecto representa una herramienta para el manejo clínico de conjuntivitis bacterianas en perros (Medicina veterinaria).

Por lo anterior, se puede concluir que el presente trabajo cumple con los objetivos, mostrando el amplio panorama de las actividades en las que se desempeñan los Químicos Farmacéuticos Biólogos en los departamentos de investigación y desarrollo y asuntos regulatorios; y que puede servir como guía para el desarrollo profesional de Químicos Farmacéuticos interesados en estas áreas.

---

## 8. Perspectivas

- A el proyecto se le pueden hacer mejoras, en este trabajo se incluye metodología experimental e información documental; realizar una validación y optimización en el proceso de elaboración de la solución oftálmica de clorhidrato de enrofloxacin.
- Se pueden realizar pruebas de este antibiótico en otras especies, dado el conocimiento de la base (Enrofloxacin) se utiliza en otros animales (exceptuando a los alérgicos/hipersensibles/intolerantes)
- Un estudio de dosis respuesta es una buena propuesta para poder ajustar las dosis o de cambio de dosis tras su buena actuación *in vitro* e *in vivo*.
- Actualmente ya se cuenta con más documentación respecto a la seguridad y eficacia, se realizarán más respecto a la seguridad de este.

---

## 9. Bibliografía

1. Organización Mundial de Sanidad Animal. World Organisation for animal Health.Francia Recuperado de: <http://www.oie.int/es/>
2. Rodríguez J, F. (2002) Tu hijo y tú. Los niños, los animales y la naturaleza. La importancia del conocimiento y el contacto de los niños con la naturaleza para su educación. EDAF España
3. Wieman Annemarie (1994) La biodiversidad y la sostenibilidad del Sistema biológico del Huerto casero en el sur de la península Nicoya, Costa Rica. Pp.36
4. Tista Olmos, C. (2009) Oftalmología en animales. (1ª. Edición) México Editorial Trillas. pp.9-23.
5. Remington (2003) Farmacia (20ª Edición) España. Médica Panamericana S.A pp. 953-966.
6. Slatter, Maggs D, Miller P,Ofri R (2009) Fundamentos de oftalmología veterinaria (4ta. Edición) España. Elsevier Saunders. pp.39-45
7. Lee, P Muriel (2016) Bull Dog francés PETS Serie Excellence Razas de hoy. pp. 111.
8. USP 39 - NF 34 (2016) Estados Unidos de América
9. Santiago Urcelay Vicente (1989) Monografías de Medicina Veterinaria. Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias Universidad de Chile. Epidemiología en las ciencias veterinarias. Perspectivas. Vol. 11 No. 1.
10. Gris Castellón, O. (2004) Trasplante de membrana amniótica de patología de la superficie ocular” Tesis que para optar por el grado de doctor. Universidad Autónoma de Barcelona Facultad de Medicina Departamento de cirugía. Barcelona.
11. Santos Ramos, B y Guerrero Aznar, M (1994) Administración de medicamentos teórica y práctica (1ra Ed) España Ediciones Díaz de Santos, S.A. pp. 99-116.
12. Schaer, Michael (2006) Medicina Clínica del perro y el gato. (10ª Edición) España Masson S.A. pp.44- 69.

- 
13. Gelatt, K, et al (2013) Veterinary Ophthalmology (Fifth Edition Volume two) UK. Wiley-Blackwell pp.945-947.
  14. Crispin, S. (2005) Notes on Veterinary Ophthalmology (1<sup>st</sup> Edition) UK Blackwell Science Ltd pp. 101-104.
  15. Sumano L, H (2006) Farmacología veterinaria. (3ra Edición) México Mc Graw Hill Interamericana
  16. Sumano L, H, Ocampo C L, Gutiérrez O L (2014) Manual de Farmacología Clínica para pequeñas especies (6ta edición) México Cuellar- UNAM pp. 199-200, 555, 632, 635.
  17. Carrillo P M (2008) Aplicación de fluoroquinolonas en medicina veterinaria: Criterios farmacocinéticos y farmacodinámicos. Tesis que para obtener el grado de doctor. Universidad de Murcia, Facultad de Veterinaria. Departamento de Farmacología. España. Pp. 5-19
  18. Giguère S, Prescott J, Dowling P M (2013) Antimicrobial Therapy in veterinary Medicine (5<sup>th</sup> edition) UK WILEY Blackwell p. 295
  19. Miranda López, J M (2007) Tratamientos antimicrobianos en medicina veterinaria: efectos sobre la microbiota intestinal de pollos y su repercusión en carnes de producción convencional y ecología. Tesis que para obtener el grado de doctor. Universidad de Santiago de Compostela Facultad de Veterinaria. España pp. 18-24
  20. The Merck *Index*, 13<sup>va ed.</sup>, New York: Merck & Co. Inc Rahway, 2001 Enrofloxacin pp. 636
  21. Royal Society of Chemistry (2013) The merck index on line. Enrofloxacin Recuperado de: <https://www.rsc.org/Merck-Index/monograph/m4916/enrofloxacin?q=unauthorize>
  22. Arias D T. (1990) Glosario de Medicamentos: desarrollo, evaluación y uso. Primera Edición Organización Panamericana de la Salud. P 4, 67.
  23. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos Undécima edición. México: Secretaria de Salud; 2014.

- 
24. Sumano L. H, Gutiérrez O L (2015) Patent: Recrystallised dehydrated enrofloxacin Hydrochloride Complex, And Method for Producing same México Universidad Nacional Autónoma de México WO2015088305 (A1) Recuperado de: [http://www.redinnovagro.in/docs/cidunam\\_anti.pdf](http://www.redinnovagro.in/docs/cidunam_anti.pdf)
  25. <https://patentscope.wipo.int/search/en/detail.jsf?docId=WO2015088305>
  26. Merck Veterinary Manual Enrofloxacin Recuperado de: <http://www.merckvetmanual.com/SearchResults?query=enrofloxacin>
  27. Chin, J (1995) El control de las enfermedades transmisibles (Publicación científica y técnica No. 581 (Decimoséptima Edición) USA Organización Panamericana de la Salud p. 74
  28. Errecalde, J.O (2004) Uso de antimicrobianos en animales de consumo (162) Roma FAO Producción y Sanidad Animal
  29. Konemar E W., et al (2006) Diagnostico microbiológico Texto y Atlas en color (6ta edición) Buenos Aires. Editorial medica panamericana pp.344-441
  30. The european agency for the evaluation of medicinal products. (2009) Enrofloxacin Summary report (1) Europa Recuperado de: [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Maximum\\_Residue\\_Limits\\_-\\_Report/2009/11/WC500014139.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Maximum_Residue_Limits_-_Report/2009/11/WC500014139.pdf)
  31. James B, Bron A (2012) Oftalmología: Diagnóstico y Tratamiento (1ra Edición de la Undécima edición en inglés) México. Manual Moderno. p. 100
  32. National Center for Biotechnology Information, U.S. National Library of Medicine. Recuperado de: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/71188>
  33. Raviña R. E. (2008) Medicamentos: Un viaje a lo largo de la evolución histórica del descubrimiento de fármacos. II Universidad de Santiago de Compostela pp. 664-665
  34. Rothlin P.R (1999) Revisión Histórica Quinolonas 3º catedra de Farmacología Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires; 59 (Supl. I): 3-7

- 
35. Cordiés Jackson L, Machado Reyes LA, Hamilton Cordiés ML. Quinolonas y terapia antimicrobiana. *Acta Médica*. 1998; 8 (1):58-65. Recuorado de: [http://www.infomed.sld.cu/revistas/act/vol8\\_1\\_98/act08198.htm](http://www.infomed.sld.cu/revistas/act/vol8_1_98/act08198.htm)
36. Álvarez-Hernández, Diego Abelardo, Garza-Mayén, Gilda Sofía, & Vázquez-López, Rosalno. (2015). Quinolonas: Perspectivas actuales y mecanismos de resistencia. *Revista chilena de infectología*, 32(5), 499-504
37. Otero, J.L, Mestorino, N, Errecalde J.O (2001) Enrofloxacin: una fluoroquinolona de uso exclusivo en veterinaria Parte I: Química, Mecanismo de acción y Resistencia bacteriana (21) *Analecta Veterinaria* pp. 31-41
38. Otero, J.L, Mestorino, N, Errecalde J.O (2001) Enrofloxacin: una fluoroquinolona de uso exclusivo en veterinaria Parte II: Farmacocinética y Toxicidad (21) *Analecta Veterinaria* pp 42-49
39. Monlouis JD, De Jong A, Limet A, Richez P. Plasma pharmacokinetics and urine concentrations of enrofloxacin after oral administration of enrofloxacin in dogs. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. 1997; 20 (Suppl. 1): 61-63.
40. Dorfman M, Barsanti J, Budsberg SC. Enrofloxacin concentrations in dogs with normal prostate and dogs with chronic bacterial prostatitis. *American Journal of Veterinary Research*. 1995; 56 (3): 386-390.
41. Hawkins EC, Boothe DM, Guinn A, Aucoin DP, Ngyuen J. Concentration of enrofloxacin and its active metabolite in alveolar macrophages and pulmonary epithelial lining fluid of dogs. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. 1998; 21: 18-23.
42. Goodman S, Gilman A (2007) *Las bases farmacológicas de la terapéutica* Editorial Médica Panamericana.
43. Wein Alan, et al. (2007) *Campbell-Walsh Urology Tomo 1* Editorial Médica Panamericana (9th Edition) España pp. 247

- 
44. Lorenzo F, P, et al. (2008) Velázquez Farmacología Básica y Clínica (18ª Edición) Argentina. Editorial Panamericana pp. 862-869
  45. Tomé A, Filipe A. Review of psychiatric and neurological adverse reactions. Drug Saf 2011; 34 (6): 465-88.
  46. Brugueras, C M, Morejón G, M y Salup D, R (2005) Actualidad de las Quinolonas (39) Revista Cubana Farm 1
  47. Jawetz, Melnick, Adelberg (2010) Microbiología Medica (25va Edición) Mc Graw Hill pp. 367-368
  48. Gelatt, K, et al (2003) Fundamentals of Veterinarian Ophthalmology (First Edition) Barcelona MASSON pp.
  49. Nelson R, W, et al. Manual de medicina Interna de pequeños animales Haircouif
  50. Carrillo P.M. (2008) Aplicación de Fluoroquinolonas en medicina veterinaria, criterios farmacocinéticos y farmacodinámicos (España) Universidad de Murcia. Facultad de veterinaria. Departamento de Farmacología
  51. Steeve Giguere, Prescott J, Dowling P (2013) Antimicrobial therapy in veterinary medicine 5th edition, Wiley Blackwell
  52. Aldana Sampayo M, Gutiérrez Benítez W (2013) Desarrollo y Validación de un método analítico por cromatografía de líquidos de alta resolución para cuantificar el contenido de ciprofloxacino y enrofloxacino en plasma sanguíneo y leche de vaca. Tesis que para obtener el título de licenciado en Química Farmacéutico Biológica. UNAM.
  53. Augsburger L., Hoag Stephen (2008) Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets Third Edition Unit Operations and Mechanical Properties. Editorial INFORMA Healthcare
  54. Ley Federal de Sanidad Animal
  55. Reglamento de la Ley Federal de Sanidad Animal
  56. SAGARPA SENASICA NOM-012-ZOO-1993. Especificaciones para la regulación de productos Químicos, Farmacéuticos, Biológicos y Alimenticios para uso en animales o consumo por éstos. (1993) México

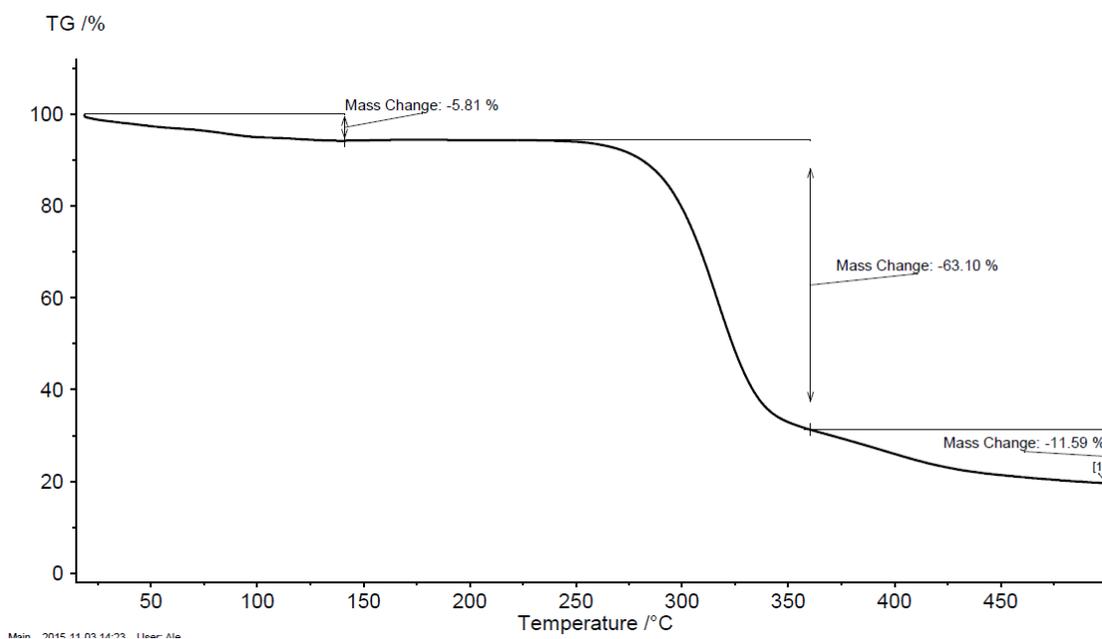
- 
57. SAGARPA SENASICA NOM-022-ZOO-1995. Características y especificaciones zoosanitarias para las instalaciones, equipo y operación de establecimientos que comercializan productos Químicos, Farmacéuticos, Biológicos y Alimenticios para uso en animales o consumo por éstos. (1995) México
  58. SAGARPA SENASICA NOM-059-ZOO-1997. Especificaciones de productos químicos, farmacéuticos, biológicos y alimenticios para uso en animales o consumo por éstos. Manejo técnico del material publicitario (1997) México
  59. SAGARPA SENASICA NOM-064-ZOO-2000. Lineamientos para la clasificación y prescripción de productos farmacéuticos veterinarios por el nivel de riesgo de sus ingredientes activos. (2000) México
  60. Ley Federal de Procedimientos Administrativos. México
  61. Secretaria de Salud NOM-059-SSA1-2015 Buenas Prácticas de Fabricación de Medicamentos. (2015) México
  62. Secretaria de Salud NOM-073-SSA1-2015 Estabilidad de Fármacos y Medicamentos, así como de remedios herbolarios. (2015) México
  63. Prontuario de especialidades veterinarias PLM México
  64. Real Farmacopea Española (Segunda Edición) España
  65. Brahmkar, D; Jaiswal, S. (2009) Biopharmaceutics and Pharmacokinetics. A Treatise (2 Ed.). New Delhi, India: Vallabh Prakashan.
  66. Cué Bruguera, Manuel, Morejón García, Moisés, & Salup Díaz, Rosa. (2005). Actualidad de las quinolonas. *Revista Cubana de Farmacia*, 39(1), 1. Recuperado de [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-75152005000100011&lng=es&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75152005000100011&lng=es&tlng=es)
  67. Marín Reséndiz María Guadalupe (2016) Reporte de servicio social “Determinación de la solubilidad de fármacos poco solubles en presencia de disolventes orgánicos” Facultad de Química UNAM

- 
68. Sumano H., Gutierrez L, Tapia (2017) Formulation of an ophthalmic solution with enrofloxacin hydrochloride-dihydrate and its clinical evaluation in tobramycin-unresponsive conjunctivitis in dogs. Artículo en trámite.
  69. Instituto de salud pública de Chile Departamento de control nacional, subdepartamento registro (2017) Propuesta de guía sobre especificaciones de producto terminado (EPT) Chile: Gobierno de Chile. Recuperado de [www.ispch.cl/documentos/propuesta/guia.pdf](http://www.ispch.cl/documentos/propuesta/guia.pdf)
  70. Anton Parr (2017) Reología. Industria. Cosméticos y productos farmacéuticos. México. Recuperado de: [www.world-of-rheology.com/es/industrias/cosmeticosfarmacia/](http://www.world-of-rheology.com/es/industrias/cosmeticosfarmacia/)
  71. Trujillo Sonia, CENAM (2017) Laboratorio de viscosidad. México. Recuperado de: [www.cenam.gob.mx/fyv/viscosidad.asp](http://www.cenam.gob.mx/fyv/viscosidad.asp)
  72. Capítulo 4. Revisión bibliográfica (2017) México. Recuperado de: [www.catarina.udlap.mx/udla/tales/documentos/lia/ramirez\\_c\\_ma/capitulo4.pdf](http://www.catarina.udlap.mx/udla/tales/documentos/lia/ramirez_c_ma/capitulo4.pdf)
  73. García Caribay, Quintero Ramírez, López Munguía (2013) Biotecnología alimentaria. Editorial Limusa. México. Pp. 439
  74. (2014) Reología Fluidos no newtonianos. México. Recuperado de: [http://www.efn.unc.edu.ar/departamentos/aero/Asignaturas/MecFluid/material/2\\_reologia.pdf](http://www.efn.unc.edu.ar/departamentos/aero/Asignaturas/MecFluid/material/2_reologia.pdf)
  75. Pascual Rubén. (2017) Ocularis: El proyecto divulgativo sobre la visión. España. Recuperado de <https://ocularis.es/el-ojo-seco-iii-tratamiento/>

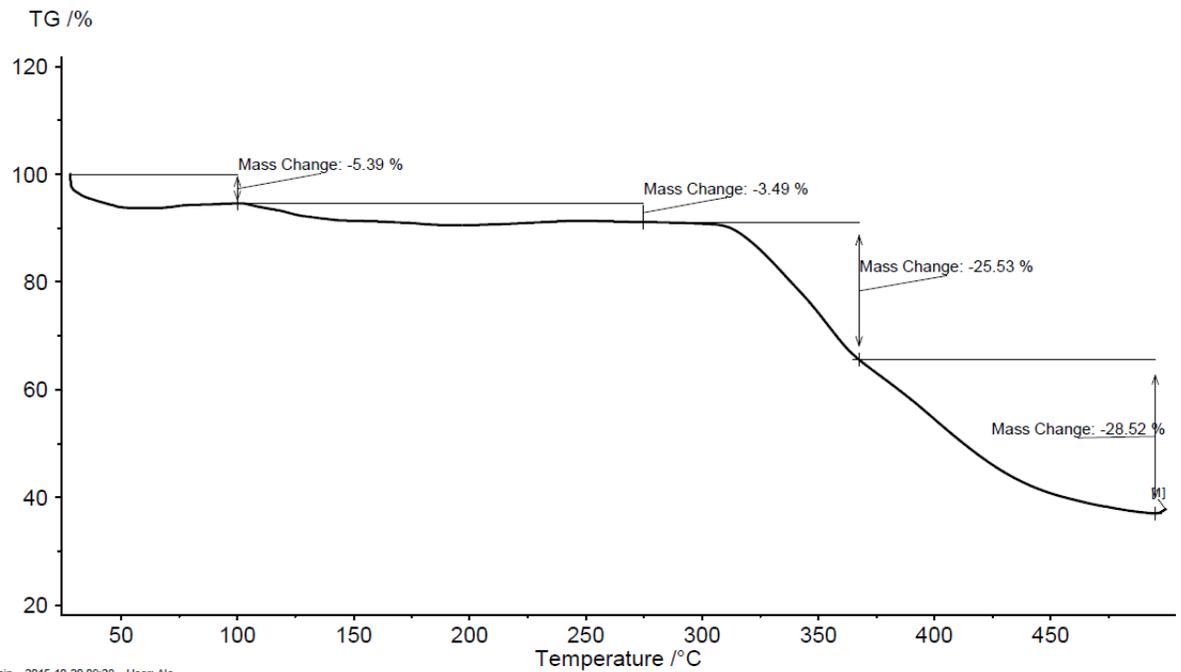
---

## 10. Apéndices

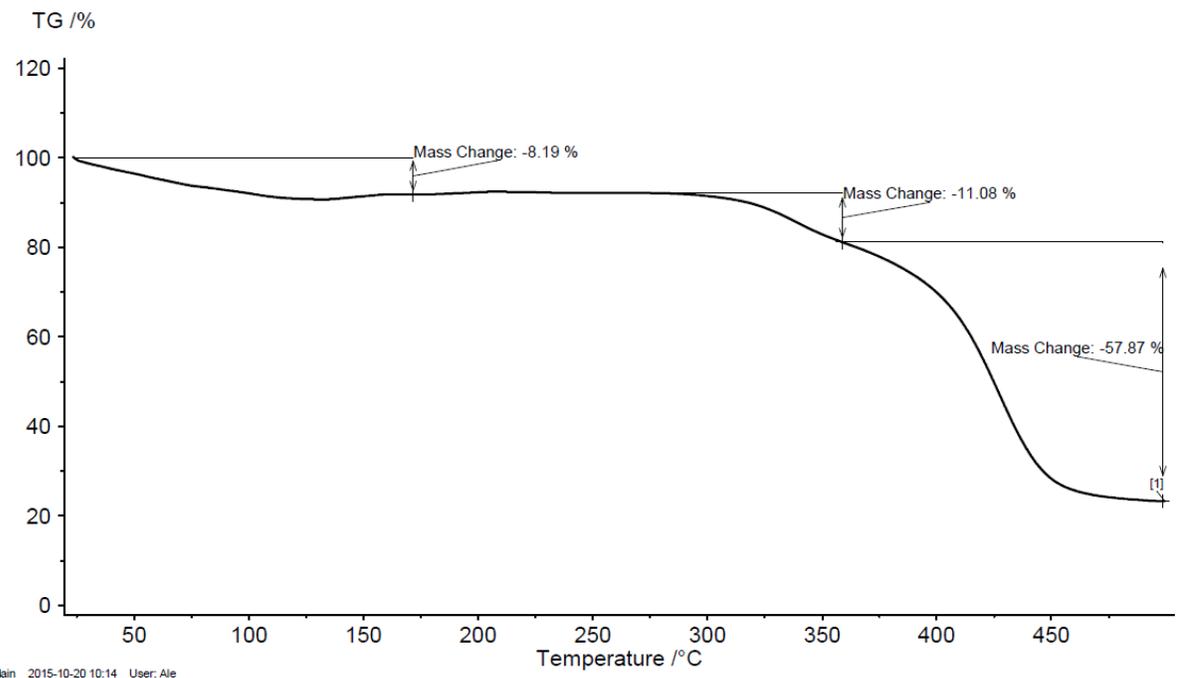
### Apéndice I Termogramas y Calorimetría Diferencial de Barrido



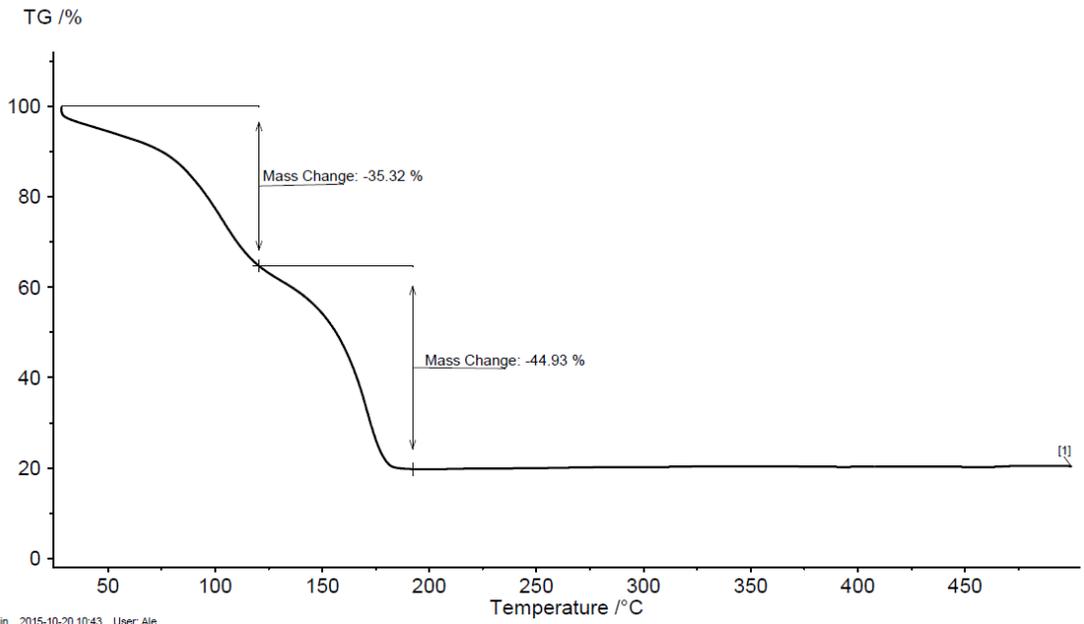
*Termograma de muestra Clorhidrato de enrofloxacin y manitol (1:1) CMA-I*



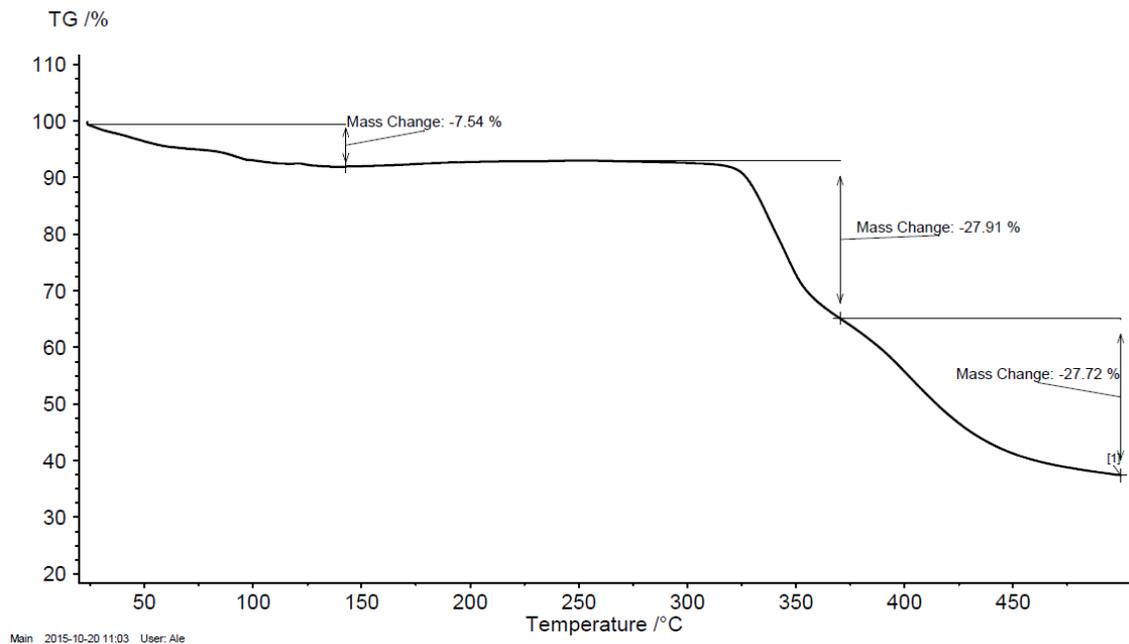
*Termograma de la muestra Clorhidrato de enrofloxacin en agua CENR-II*



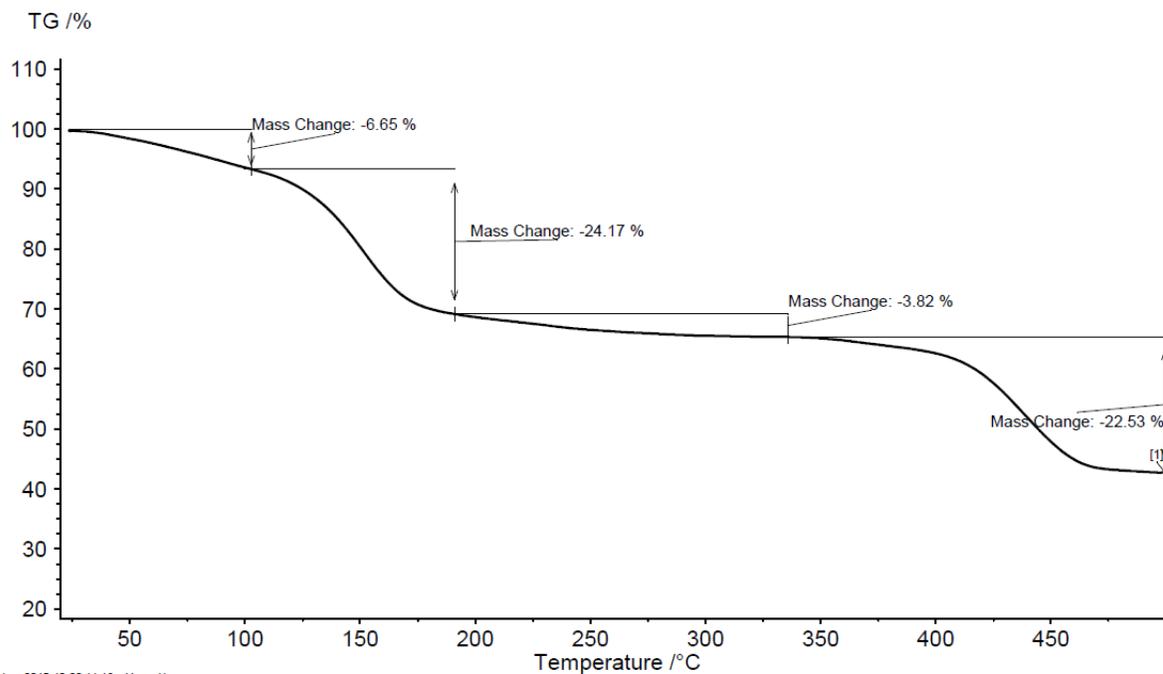
*Termograma de la mezcla Clorhidrato de enrofloxacin y PVP K-30. CPY-I*



*Termograma de la muestra Cristales de Clorhidrato de enrofloxacin disueltos en agua y Propilenglicol. ACPG-I*



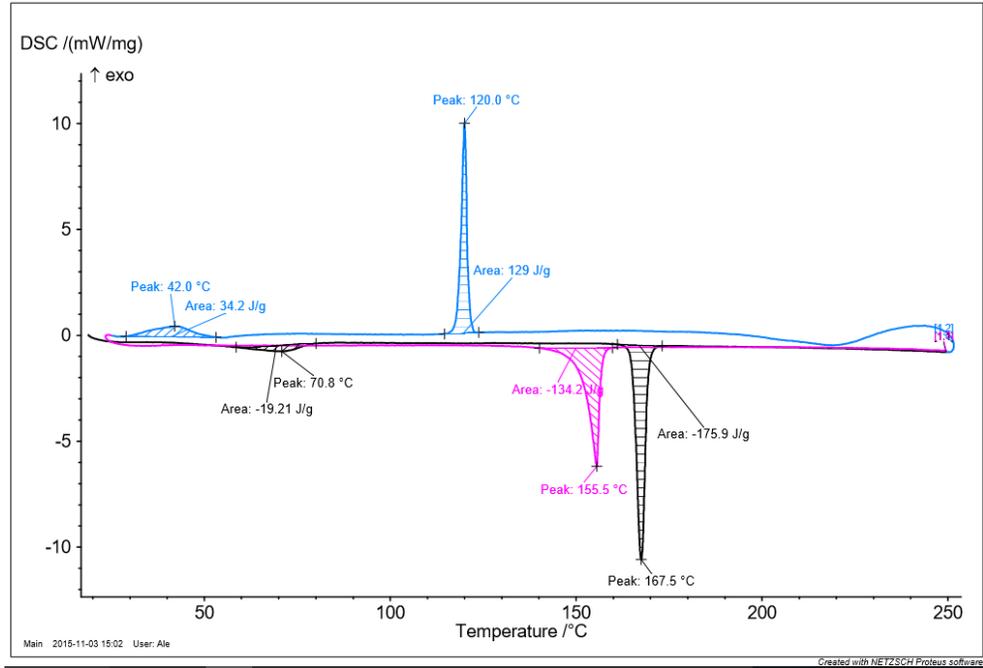
*Termograma de los Cristales de Clorhidrato de enrofloxacin disueltos en agua CRIE-II*



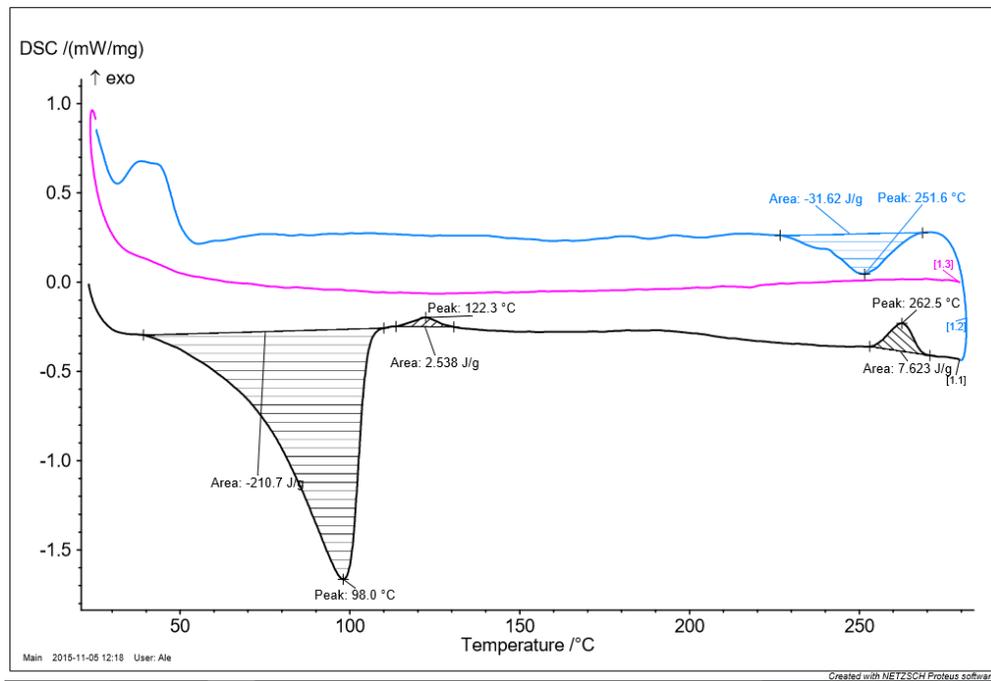
Main 2015-10-20 11:16 User: Ale

*Termograma de la Solución oftálmica de Clorhidrato de enrofloxacin, disuelto en agua, más PVP K-30 y Propilenglicol.*

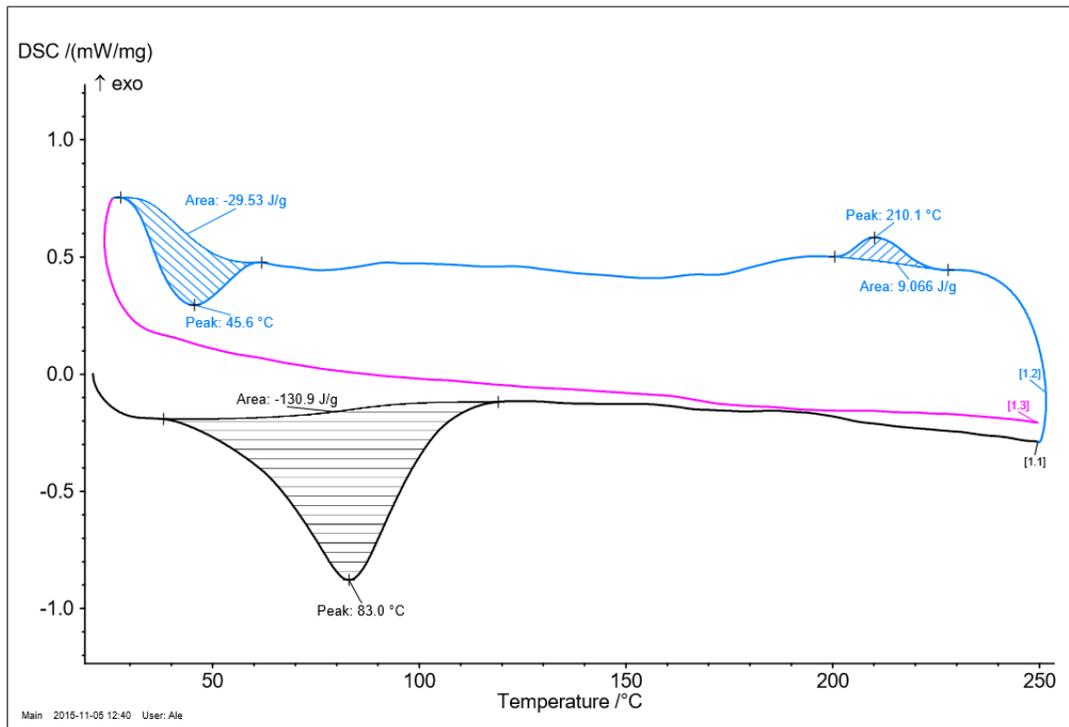
## DSC INTEGRADOS



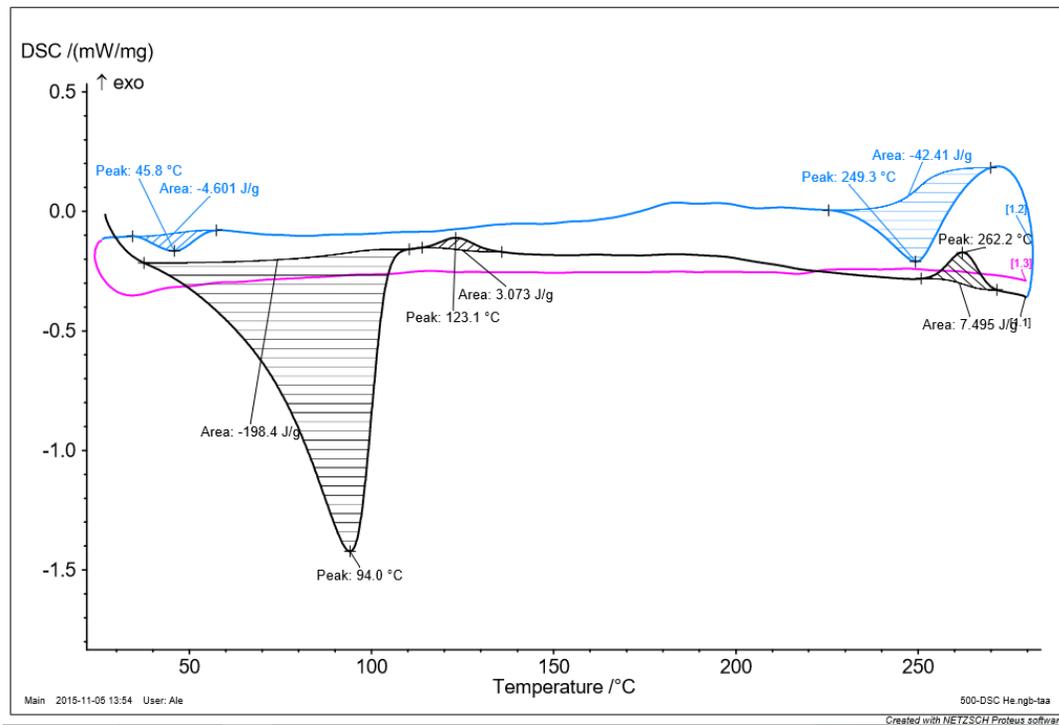
DSC Clorhidrato de enrofloxacin y Manitol integrado.



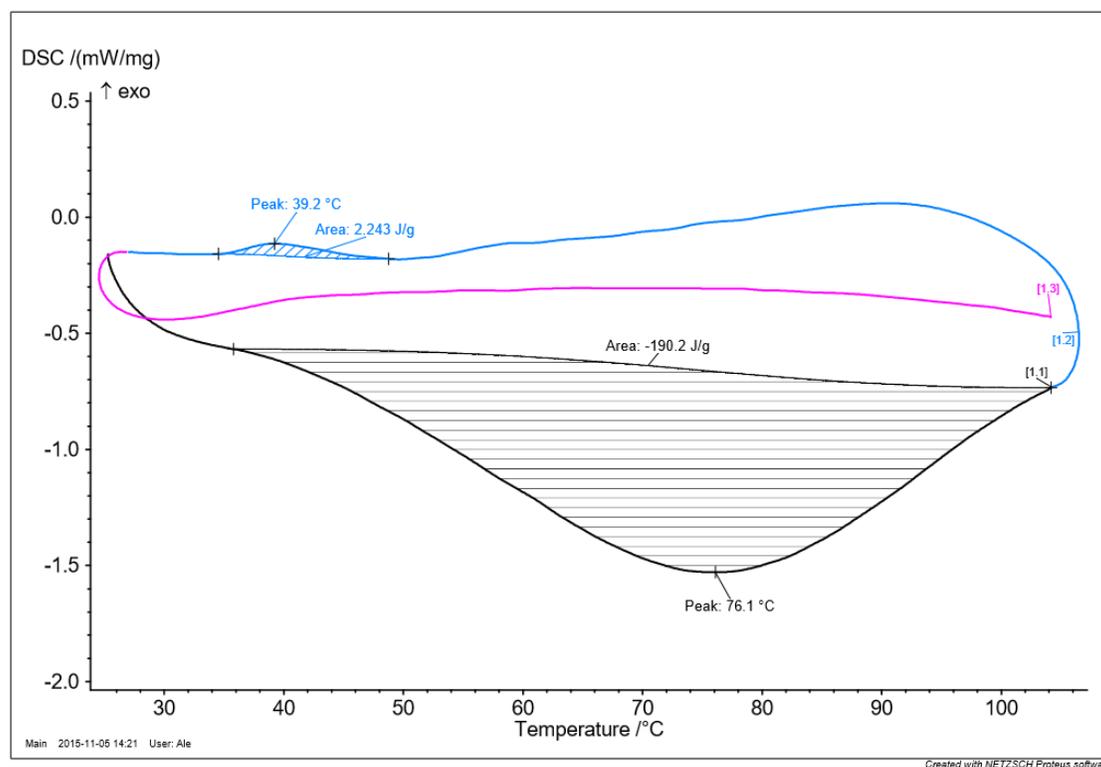
DSC Clorhidrato de enrofloxacin y agua integrado



DSC Clorhidrato de enrofloxacin y PVP K-30 integrado

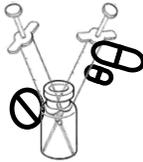


DSC Clorhidrato de enrofloxacin-Agua Integrado



DSC de la solución oftálmica de clorhidrato de enrofloxacin integrada

**Apéndice II** Elaboración de solución oftálmica con clorhidrato de enrofloxacin

	<b>DEPARTAMENTO DE FISIOLOGÍA Y FARMACOLOGÍA</b> <b>LABORATORIO DE INVESTIGACIÓN 2317</b> <b>DESARROLLO FARMACÉUTICO VETERINARIO</b>				
	<b>ELABORACIÓN DE SOLUCIÓN OFTÁLMICA</b>				
<b>Nombre del Fármaco</b>	Clorhidrato de enrofloxacin	<b>Forma Farmacéutica</b>	Solución oftálmica	<b>Concentración</b>	0.56 g/ 100 mL
<b>No. de Lote</b>	PDFV16-	<b>Fecha de Producción</b>	10 FEB16	<b>Tamaño de Lote</b>	1 000 mL

<b>Fabricante /lote</b>	<b>Ingrediente</b>	<b>Cantidad Unitaria</b>	<b>Cantidad por lote</b>	<b>Cantidad utilizada</b>	<b>Peso/ Fecha</b>
<b>ELABORADO POR:</b>		<b>REVISADO POR:</b>			
QFB. Nallely Arenas M Químico de Desarrollo Farmacéutico					
Fecha:		Fecha:			

---

Observaciones: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Cálculos:

<b>ELABORADO POR:</b>  QFB. Nallely Arenas M Químico de Desarrollo Farmacéutico	<b>REVISADO POR:</b>    
Fecha:	Fecha:

**PRECAUCIONES GENERALES**

1.- Durante todas las etapas de fabricación se debe utilizar: lentes de seguridad, guantes de hule látex, cubreboca o respirador para partículas y cofia.

2.- Durante todas las etapas de fabricación se debe verificar que el área y los equipos utilizados para la fabricación se encuentren limpios.

Equipo(s)				
<b>II.-PROCESO DE ELABORACIÓN</b>			<b>Realizó</b>	<b>Supervisó</b>
<p><b>Inició:</b> _____ <b>Terminó:</b> _____</p>				
<b>ELABORADO POR:</b>		<b>REVISADO POR:</b>		
QFB. Nallely Arenas M				
Químico de Desarrollo Farmacéutico				
Fecha:		Fecha:		

		Realizó	Supervisó
Inició: _____ Terminó: _____			
Inició: _____ Terminó: _____			
Inició: _____ Terminó: _____			
<b>ELABORADO POR:</b>  QFB. Nallely Arenas M  Químico de Desarrollo Farmacéutico  Fecha: _____	<b>REVISADO POR:</b>          Fecha: _____		

	Realizó	Supervisó
Inició: _____ Terminó: _____		
Inició: _____ Terminó: _____		

**Observaciones:**

<b>Doctos de referencia:</b>	<b>Control de registros:</b>
------------------------------	------------------------------

III.-CONTROLES DURANTE EL PROCESO DE FABRICACIÓN

<b>ELABORADO POR:</b>  QFB. Nallely Arenas M Químico de Desarrollo Farmacéutico	<b>REVISADO POR:</b>  
Fecha:	Fecha:

**Apéndice III** Especificaciones PT para solución oftálmica de clorhidrato de enrofloxacin

<b>ESPECIFICACIONES PARA SOLUCIÓN OFTÁLMICA DE CLORHIDRATO DE ENROFLOXACINA SOLUFLUX</b>	EMISIÓN: AGOSTO 2016	
	PRÓXIMA REVISIÓN: AGOSTO 2017	
ESPECIFICACIONES PRODUCTO TERMINADO. EPT	SUSTITUYE: NUEVO PAGINA: 1 DE 1	
<b>DETERMINACIONES</b>	<b>ESPECIFICACIONES</b>	
Descripción (Apariencia, color, olor, claridad de la solución)	Solución ligeramente amarilla, traslucida, de olor característico, sin partículas extrañas visibles	
Ensayos de Identidad		
A) UV	A) Conforme al estándar de referencia	
B) CLAR	B) Conforme al estándar de referencia	
PH	3.0-4.0	
Esterilidad	Cumple con los requisitos	
Contenido de conservadores	Cumple con los requisitos	
Pirógenos o endotoxinas	Cumple con los requisitos	
Valoración	De 90.0% a 110.0% del indicado en marbete	
<b>BIBLIOGRAFÍA:</b>		
Información del proveedor. NOM-073-SSA1-2005, Estabilidad de fármacos y medicamentos USP 34, NF ,29, USA, 2011.FEUM 11va Ed. México 2014		
<b>ELABORADO POR:</b>	<b>REVISADO POR:</b>	<b>AUTORIZADO POR:</b>
QFB. Nallely Arenas M	QFB. Jorge Miranda C	xxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxx
Químico de Desarrollo Farmacéutico	Jefe de Desarrollo Farmacéutico	Gerente de control de calidad Responsable sanitario.
Fecha: agosto 2016	Fecha: agosto 2016	Fecha: agosto 2016

**Apéndice IV** Certificado de producto terminado

<b>EMPRESA</b>	<b>CERTIFICADO DE PRODUCTO TERMINADO</b>	<b>LOTE:</b>
----------------	--	--------------

<b>NOMBRE:</b> Clorhidrato de enrofloxacin	<b>NOMBRE COMERCIAL:</b> SOLUFLUX	<b>F FARMACÉUTICA:</b> Solución oftálmica
<b>FECHA DE FABRICACIÓN:</b> 01 AGO 16	<b>DOSIS:</b> 50 mg/mL frasco 100 mL	<b>PRESENTACIÓN:</b> Caja c/1 Frasco de 100 mL multidosis
<b>FECHA DE CADUCIDAD:</b> 01 AGO 18	<b>CANT:</b> 100 Pzas.	<b>No. DE ANALISIS:</b> PT-12/016
<b>SECTOR</b> OTROS	<b>REG. No.:</b>	<b>PAGINA:</b> 1 DE 1

DETERMINACIÓN	ESPECIFICACIÓN	RESULTADO
Descripción	Solución ligeramente amarilla, translúcida, de olor característico, sin partículas extrañas visibles	Cumple
Identificación A) IR B) CLAR	A) Conforme al estándar de referencia B) Conforme al estándar de referencia	Conforme
pH	3-4	3.5
Valoración:	De 0.425 mg/mL a 0.575 mg/mL de Clorhidrato de enrofloxacin De 90.0 % a 110.0 %	99.5 % DER= 0.9 %

<b>Bibliografía:</b> USP 34, NF ,29, USA, 2011.FEUM 11va Ed. México 2014	<b>Dictamen:</b>
<b>Referencia Analítica:</b> Libro ____ Hoja	<b>A P R O B A D O</b> Fecha:

<b>ELABORADO POR:</b> Nombre y Firma <b>QFB. Nallely Arenas M</b> <b>ANALISTA</b>	<b>AUTORIZADO POR:</b> Nombre y Firma: <b>XXXXXXXXXXXXXXXXXX</b> <b>GERENTE DE CONTROL DE CALIDAD</b> <b>RESPONSABLE SANITARIO</b>
---	---

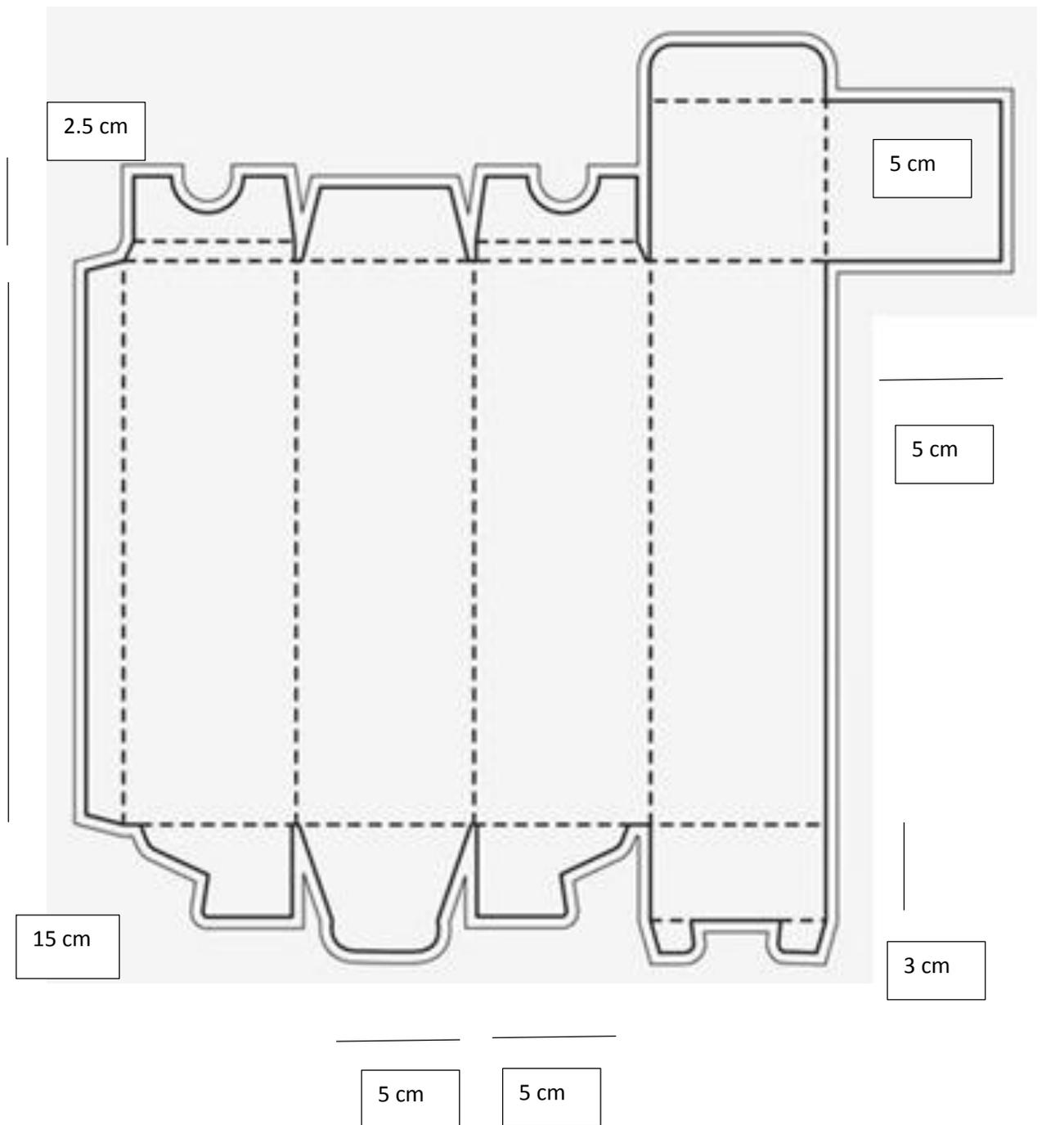
**Apéndice V** Procedimiento de acondicionamiento

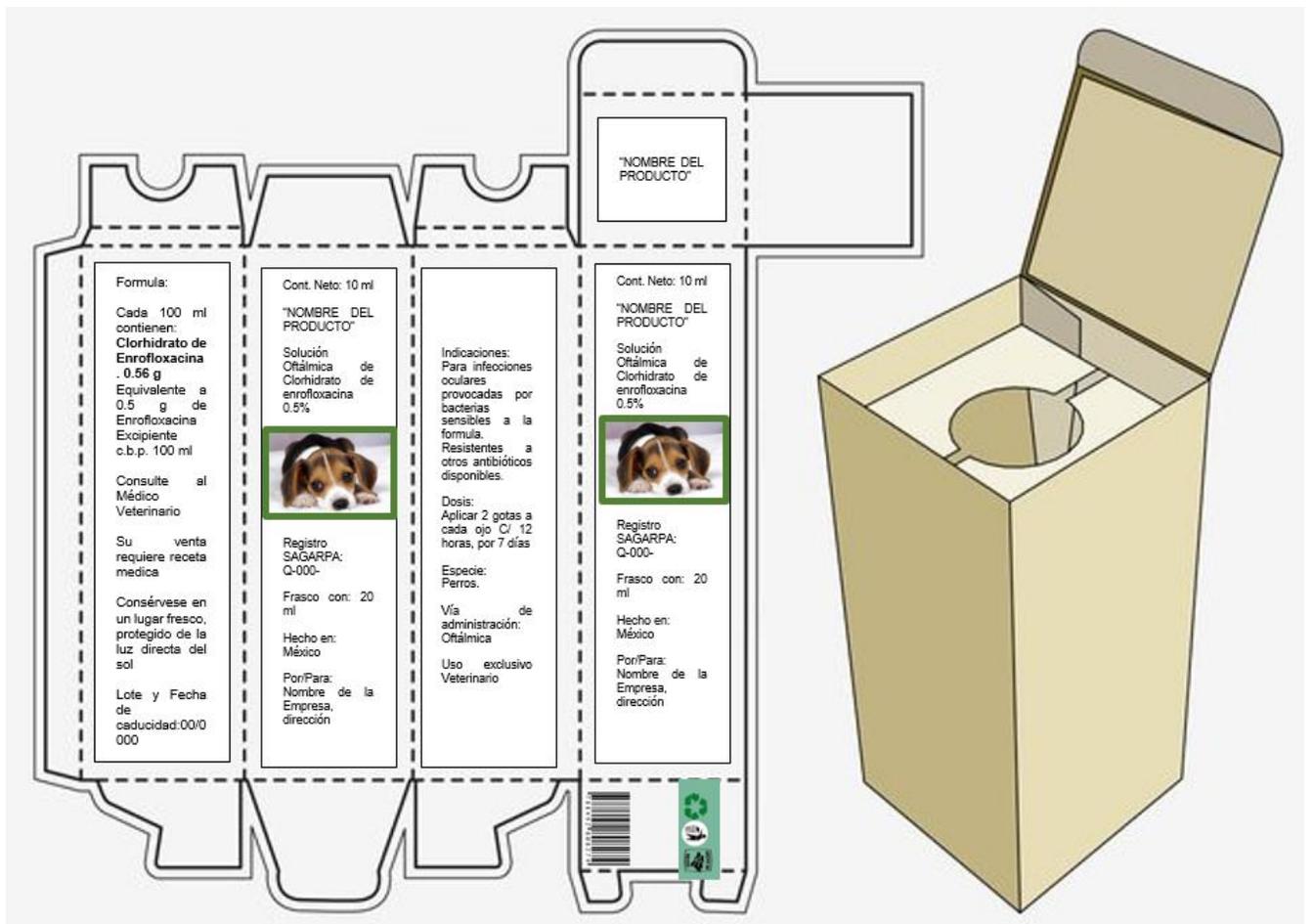
<b>PRODUCTO: SOLUFLUX</b>		<b>LOTE:</b>		<b>PAGINA 1 DE 2</b>	
Clorhidrato de enrofloxacin 0.5%					
<b>1.- ACONDICIONAMIENTO</b> <b>1.1.- MATERIAL</b> Caja para Clorhidrato de enrofloxacin Soluci3n oft3lmica 0.5% presentaci3n con 100 mL <b>1.2.- PROCEDIMIENTO DE OPERACI3N:</b> 1.2.1 Verificar antes de la fabricaci3n que se haya surtido la orden, por el almac3n correspondiente. 1.2.2 Verificar que no exista ning3n resto de materiales anteriores, as3 como la limpieza de 3reas. 1.2.3 Verificar que el personal porte la indumentaria indicada en el PNO G PRO 002. 1.2.4 Identificar el 3rea con los siguientes datos: NOMBRE DEL PRODUCTO: _____ NUMERO DE LOTE: _____ TAMAÑO DE LOTE: _____ FECHA: _____ OPERADOR: _____ 1.2.5 Verificar por parte de Aseguramiento de Calidad las condiciones del 3rea y equipo. FECHA DE INICIO DE PROCESO: _____ 1.2.6 Una vez aprobadas las 3reas, iniciar el acondicionamiento de Clorhidrato de enrofloxacin Soluci3n oft3lmica 0.5% 1.2.7 Verificar el N3mero de Lote correspondiente.				<b>Elabor3</b>  _____ _____ _____ _____ _____ _____ _____ _____	<b>Verific3</b>  _____ _____ _____ _____ _____ _____ _____ _____
<b>ELABORO</b>  QFB. Nallely Arenas M QU3MICO DE DESARROLLO FARMACE3TICO FECHA:		<b>REVISO:</b>  JEFE DE DESARROLLO FARMAC3UTICO FECHA:		<b>APROBO:</b>  GERENTE DE CONTROL DE CALIDAD RESPONSABLE SANITARIO FECHA:	

**PROCEDIMIENTO DE ACONDICIONAMIENTO  
LOTE PILOTO**

<b>PRODUCTO: SOLUFLUX</b>  <b>Clorhidrato de enrofloxacin 0.5%</b>	<b>LOTE:</b>	<b>PAGINA 2 DE 2</b>								
<b>ELABORO</b>  QFB. Nallely Arenas M QUÍMICO DE DESARROLLO FARMACEÚTICO FECHA:	<b>REVISO:</b>  QFB. Jorge Miranda Calderón JEFE DE DESARROLLO FARMACÉUTICO FECHA:	<b>APROBO:</b>  XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX GERENTE DE CONTROL DE CALIDAD RESPONSABLE SANITARIO FECHA:								
1.2.8 Colocar 1 frasco con 20 mL, dentro de cada caja de solución oftálmica de clorhidrato de enrofloxacin 0.5%  7.2.9 Empacar el producto en cajas colectivas, identificando cada una de ellas, con el total de piezas contenidas, el nombre del producto, la dosis, el nombre y dirección del laboratorio.  Realizar la conciliación final del proceso.  FECHA DE FIN DE PROCESO:		<table border="0"> <tr> <td align="center"><b>Elaboró</b></td> <td align="center"><b>Verificó</b></td> </tr> <tr> <td align="center">_____</td> <td align="center">_____</td> </tr> <tr> <td align="center">_____</td> <td align="center">_____</td> </tr> <tr> <td align="center">_____</td> <td align="center">_____</td> </tr> </table>	<b>Elaboró</b>	<b>Verificó</b>	_____	_____	_____	_____	_____	_____
<b>Elaboró</b>	<b>Verificó</b>									
_____	_____									
_____	_____									
_____	_____									
<b>ELABORO</b>  QFB. Nallely Arenas M QUÍMICO DE DESARROLLO FARMACEÚTICO FECHA:	<b>REVISO:</b>  QFB. JEFE DE DESARROLLO FARMACÉUTICO FECHA:	<b>APROBO:</b>  XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX GERENTE DE CONTROL DE CALIDAD RESPONSABLE SANITARIO FECHA:								

**Apéndice VI Marbete- Etiqueta**





Proyecto de etiqueta de la soluci6n oftalmica de clorhidrato de enrofloxacin.

## **PROTOCOLO DE ESTABILIDAD ACELERADA**

### **1. OBJETIVO.**

Indicar las condiciones de estudio a las que se someterá la solución oftálmica de clorhidrato de enrofloxacin, para evaluar sus características físicas y químicas durante el período de tiempo que establece la NOM 073-SSA-1 2005 Estabilidad de Fármacos y Medicamentos.

### **2. ALCANCE.**

El presente protocolo es aplicable para la solución oftálmica de clorhidrato de enrofloxacin

### **3. RESPONSABILIDADES**

Es responsabilidad del químico analista dar seguimiento al análisis fisicoquímico del producto hasta la conclusión del mismo. Es responsabilidad del Supervisor de Desarrollo Farmacéutico verificar los resultados del estudio de estabilidad.

### **4. METODOLOGÍA.**

**Fase móvil:** Filtrar y desgasificar la solución. Hacer mezcla en el equipo en proporción agua: metanol: acetonitrilo.

**Preparación estándar:** Disolver en agua una cantidad pesada con exactitud, de enrofloxacin para obtener una solución con una concentración conocida de aproximadamente 0.15 µg por mL.

**Preparación de valoración:** Transferir a un matraz volumétrico de 100 mL una porción solución oftálmica, equivalente aproximadamente a 5 µg de enrofloxacin. Agregar metanol hasta tres cuartas partes del volumen del matraz, pasar una porción de esta solución a través de un filtro de membrana de microfibras de vidrio con un tamaño de poro de 45 µm o menor.

**Sistema cromatográfico:** Equipar un cromatográfico de líquidos con un detector a 280 nm y una columna de 4.6 mm x 15 cm rellena con material L1. La velocidad de

---

flujo es de 1.0 mL por minuto.

**Procedimiento:** Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 50  $\mu$ L) de la preparación estándar y de la preparación de valoración, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad en mg, de clorhidrato de enrofloxacin.

## **5. REALIZACIÓN.**

En las instalaciones de Desarrollo Farmacéutico de la Empresa.

## **6. ANALISTA.**

- a) QFB. Nallely Arenas

## **7. MATERIAL.**

- a) Reservorio de fase móvil.
- b) Matraz volumétrico de 1 L.
- c) Matraz volumétrico de 10 mL.
- d) Pipeta Volumétrica de 10 mL
- e) Columna de 15 cm x 4.6 mm empacada con L1

## **8. EQUIPO.**

- a) Cromatógrafo de líquidos marca Waters, modelo Alliance 2695.
- b) Potenciómetro
- c) Agitador mecánico tipo Vortex.
- d) Balanza analítica OHAUS
- e) Equipo de filtración
- f) Sonificador

## **9. REACTIVOS.**

- a) Agua grado HPLC marca PiSa
- b) Ácido fosfórico RA
- c) Acetonitrilo grado HPLC

- 
- d) TEA RA
  - e) Metanol grado HPLC

**10. NOMBRE COMERCIAL.**

**11. FORMA FARMACÉUTICA, PRESENTACIÓN.**

Solución oftálmica, Frasco con 20 mL.

**12. DOSIS.**

2 a 3 gotas

**13. TIPO, TAMAÑO Y NÚMERO DE LOTE.**

TIPO DE LOTE	TAMAÑO DE LOTE	NÚMERO DE LOTE
LOTE PILOTO	500 piezas	SO-01
	500 piezas	SO-02
	500 piezas	SO-03

**14. DESCRIPCIÓN DEL SISTEMA CONTENEDOR-CIERRE.**

Caja de Cartón

**15. FECHA DE INICIO DEL ESTUDIO.**

21 SEP 2015

**16. FECHA DE TÉRMINO DEL ESTUDIO.**

21 DIC 2015

**17. No. DE MUESTRAS REQUERIDAS.**

12 frascos

**18. CONDICIONES DEL ESTUDIO.**

A) Tiempo: 3 Meses

**B) CONDICIONES DEL ALMACENAMIENTO.**

Condiciones de almacenamiento	Análisis		
	Inicio	-----	-----
Temp. Ambiente $40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C} / 75 \% \text{HR} \pm 5 \% \text{HR}$	-----	1er Mes	3er Mes

**19. TIEMPOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS.**

Producto	Lote	Inicio	Primer Mes	Tercer Mes
Solución oftálmica de clorhidrato de enrofloxacin	SO-01	SEP 15	OCT 15	DIC 15
	SO-02	SEP 15	OCT 15	DIC 15
	SO-03	SEP 15	OCT 15	DIC 15

**20. PARÁMETROS A EVALUAR.**

DETERMINACIONES	ESPECIFICACIONES
Descripción	Solución traslucida libre de partículas extrañas visibles
Color	
Valoración	De 4.5 mg a 5.5 mg de clorhidrato de enrofloxacin por mL De 90.0 % a 110.0 %

**21. REPORTE DE CÁLCULOS.**

Una vez concluidos los análisis se procederá a registrar los resultados en el formato de reporte de análisis en el cual se registran todos los datos y cálculos del análisis correspondiente. Posteriormente se concentran todos los datos.

Empresa:		Nombre del medicamento:		Concentración:	
Forma Farmacéutica: Solución oftálmica			Presentación: 20 mL	Lote:	
Tipo y composición del envase: Frasco de vidrio					
Fecha de elaboración:					
Tiempo:	INICIO:	MES 1:	MES 3:	CONCLUSIONES	
Fecha:	Nov-16	Dic-17	Feb-17		
Condiciones:	TEMP. AMBIENTE	40°C ± 2°C 75% HR ± 5%	40°C ± 2°C 75% HR ± 5%		
Especificación: Aspecto: Valoración:	Cumple Cumple	Cumple Cumple	Cumple Cumple	La solución oftálmica de clorhidrato de enrofloxacin cumple con las especificaciones.	
Propuesta del Periodo de Caducidad: 6 meses después de su fabricación					
Bibliografía: Medicamentos		2. NOM-073-SSA1-2005. Estabilidad de Fármacos y Medicamentos			
Analizó:  QFB: Nallely Arenas Químico de Desarrollo Farmacéutico Fecha:			Autorizó:  Gerente de Control de Calidad Responsable Sanitario Fecha:		

## 22. ANÁLISIS DE DATOS Y CONCLUSIONES

Una vez concluido el estudio se analizarán los resultados y se determinará si existen cambios significativos en las características fisicoquímicas del producto analizado, para comprobar su periodo de caducidad.

<b>ELABORADO POR:</b>  QFB. Nallely Arenas QUÍMICO DESARROLLO FARMACÉUTICO	<b>REVISADO POR:</b>  JEFE DE DESARROLLO FARMACÉUTICO	<b>AUTORIZADO POR:</b>  GERENTE DE CONTROL DE CALIDAD RESPONSABLE SANITARIO
--	--	--