



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE QUÍMICA

**PROBLEMAS DE SOLUBILIDAD EN MEDICAMENTOS PARA USO VETERINARIO.
ENFOQUE FARMACÉUTICO, FÍSICOQUÍMICO Y REGULATORIO.**

TESINA

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

PRESENTA

ALLYSON MADAI MENESES RODRÍGUEZ



Ciudad Universitaria, CD. MX.

2020



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Profesor: Rico Morales Héctor Ariel

VOCAL: Profesor: García Trejo José de Jesús

SECRETARIO: Profesor: Del Prado Audelo María Luisa

1er. SUPLENTE: Profesor: Serrano Andrade Miriam Isabel

2° SUPLENTE: Profesor: Velázquez Moyado Josué Arturo

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA: LABORATORIO 307, EDIFICIO F, FACULTAD DE QUÍMICA.

ASESOR DEL TEMA:

(nombre y firma)



DRA. MARÍA LUISA DEL PRADO AUDELO

SUPERVISOR TÉCNICO (Si lo hay):

(nombre y firma)



DR. GERARDO LEYVA GÓMEZ

SUSTENTANTE (S):

(nombre (s) y firma (s))



MENESES RODRÍGUEZ ALLYSON MADAI

ÍNDICE

Introducción	1
Objetivos	5
Procedimiento	6
Resultados y Discusión	7
CAPÍTULO 1. Concepto de Solubilidad bajo distintos enfoques	7
1.1 Solubilidad: Un enfoque termodinámico	7
1.1.1 Entalpía de solución y fuerzas intermoleculares	8
.....	9
1.1.2. Entropía en una solución.....	10
1.2 Solubilidad: Un enfoque químico	10
1.2.1 <i>Similia Similibus Solvuntur</i>	11
1.2.2 Energía de solvatación	11
1.2.3 Temperatura	13
1.2.4 Efecto del ion común.....	14
1.2.5 Equilibrios de Solubilidad y pH.....	16
1.3 Solubilidad: Un enfoque regulatorio.....	19
1.3.1 Sistema de Clasificación Biofarmacéutica (BCS).....	20
CAPÍTULO 2. Marco regulatorio Nacional e Internacional aplicable a Fármacos de uso veterinario.	23
2.1 México	23
2.1.1 NOM-062-ZOO-1999	23
2.2 Internacional	24
2.2.1 FDA.....	24
2.2.2 Comité de Productos de Medicina Veterinaria (CVMP) de la Agencia Europea de Medicamentos (EMA).....	26
2.3 Compatibilidad de criterios de solubilidad para fármacos de uso humano y veterinario	27
CAPÍTULO 3. Aspectos biofarmacéuticos en distintas especies animales.	30
3.1 Perros.....	30
3.1.1 pH y su influencia en la solubilidad de fármacos para perros	31
3.1.2 Condiciones de prueba para determinar solubilidad.	34
3.2 Rumiantes.....	34

3.2.1 Características del TGI en Rumiantes	34
3.2.2 Condiciones de prueba para determinar solubilidad.....	35
3.3 Roedores.....	37
CAPÍTULO 4. Influencia de la solubilidad en la vía de administración de fármacos de uso veterinario	38
4.1 Efecto Sistémico	39
4.1.1 Administración Enteral.....	39
4.1.1.1 Vía Oral.....	39
4.1.1.2 Vía Sublingual.....	40
4.1.2 Administración Parenteral	41
4.1.2.1 Vía intravenosa.....	41
4.1.2.2 Vía intramuscular y subcutánea.....	44
4.1.2.3 Vía epidural e intratecal.....	46
4.1.2.4 Vía intraperitoneal	47
4.1.2.5 Vía transdérmica	49
4.2 Efecto Local	51
4.2.1 Vía Intranasal	51
4.2.2 Vía Intratraqueal e inhalaciones.....	52
4.2.3 Vía ocular	53
CAPÍTULO 5. Estrategias para la mejora de solubilidad en fármacos veterinarios	55
CAPÍTULO 6. Código de bioética	62
6.1 Uso de animales para demostrar eficacia en productos de uso humano: El Reglamento Animal de la FDA (Animal Rule).....	62
6.2 Experimentos de eficacia en humanos vs Experimentos de eficacia en animales. ..	62
Conclusiones.....	67
Bibliografía.....	68

Introducción

De acuerdo a datos de la Productora Nacional de Biológicos Veterinarios (PRONABIVE) (**Gobierno de México. Productora Nacional de Biológicos Veterinarios, 2018**):

- En México se ha triplicado la inversión en la industria farmacéutica veterinaria, específicamente en investigación y desarrollo de fármacos, iniciando con una inversión de 132 millones de pesos en 2012 a 378 millones de pesos en 2016, lo que implica un desarrollo anual promedio de 169 millones de pesos.
- La venta de medicamentos de uso veterinario, presentó un incremento de 2 mil 778 millones de pesos de 2012 a 2016.
- Se encuentran registrados 7,850 productos químico farmacéuticos de aplicación veterinaria, de los cuales el 37% de ellos son para atender a rumiantes, 27% a porcinos, 24% animales de compañía, 11% a aves y 1% a especies acuícolas.
- En cuanto a medicamentos biológicos veterinarios, 1,300 cuentan con registro, de los cuales el 42% son para la industria avícola, 23% para bovinos, ovinos y caprinos, 19% para cerdos y 16% para mascotas.
- De 2012 a 2016 la exportación de productos farmacéuticos veterinarios creció 45.1%, lo cual se traduce en un incremento de 22.4 millones de dólares. Actualmente México exporta medicamentos veterinarios a 43 países del globo.

La vinculación estratégica entre la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA), la Industria Farmacéutica Veterinaria (INFARVET) y las recientes inversiones por parte de la Industria Farmacéutica Veterinaria han permitido:

1. Controlar el brote de Influenza Aviar de Alta Patogenicidad AH7N3 que se presentó en 2012 en los Altos de Jalisco (**Oficina Regional de la FAO para América Latina y el Caribe, 2012**).
2. Convertir a México en el primer país del mundo en recibir la validación por parte de la Organización Mundial de la Salud (OMS) por haber eliminado la rabia transmitida por el perro como problema de salud pública (**Gobierno de México. Productora Nacional de Biológicos Veterinarios, 2019**).
3. Erradicar la Brucelosis en animales en Baja California Sur (**Gobierno de México. Productora Nacional de Biológicos Veterinarios, 2019**).

Por otro lado, es de vital importancia considerar las grandes diferencias fisiológicas que existen entre el ser humano y múltiples especies animales (tomando en cuenta dtambién las diferencias entre razas de una misma especie), por lo que se requieren distintos criterios de solubilidad para humanos plasmados en directrices regulatorias, como son la United States Pharmacopeia (USP), Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM) y guías de la Food and Drug Administration (FDA).

La insolubilidad en agua de muchas moléculas de recién lanzamiento representa un obstáculo en la formulación farmacéutica, afectando directamente en la estabilidad del sistema farmacéutico, la biodisponibilidad del principio activo y teniendo un impacto negativo económico para las industrias farmacéuticas, ejemplo de ello son la síntesis de compuestos fasciolicidas como los Benzoimidazoles (**Silakari et al., 2018**). Aproximadamente más del 40% de los medicamentos en el mercado, son prácticamente insolubles en agua (<100 mg/mL) (**Takagi et al., 2016**) y el 70% de las nuevas moléculas en la industria farmacéutica también lo son (**Ku et al., 2012**).

En 2003, el CEO de GlaxoSmithKline, Jean-Paul Garnier menciona: “Cerca del 50% de los fármacos que entran a estudios clínicos fallan debido a la eficacia y seguridad, y un 40% se esfuman debido a problemas como solubilidad e interacciones con el fármaco” (**Dow Jones Newswires, 2003**).

Por lo anterior, podemos comprender el impacto que tiene la industria farmacéutica veterinaria en México, país en existe una gran inversión económica para preservar la salud animal y control de brotes epidemiológicos de especies animales.

La industria farmacéutica veterinaria, representa una opción de campo laboral para el Químico Farmacéutico Biólogo, ya sea en investigación, desarrollo o en asuntos regulatorios, entre otras. Por ello, para preservar el estatus sanitario que mantiene México respecto a la calidad, eficacia y desarrollo de medicamentos para uso veterinario, es necesario que:

El farmacéutico involucrado en la investigación, formulación y desarrollo:

1. Tenga conocimiento exacto de la fisiología de la especie animal en la cual se busca tener un efecto terapéutico, preventivo o rehabilitante.
2. Conozca los factores fisicoquímicos que pueden intervenir en el desarrollo farmacéutico e impacten negativamente su formulación.
3. En caso de enfrentarse a una molécula nueva insoluble en agua, debe poder aplicar sus conocimientos y técnicas innovadoras para la mejora de la solubilidad del fármaco.

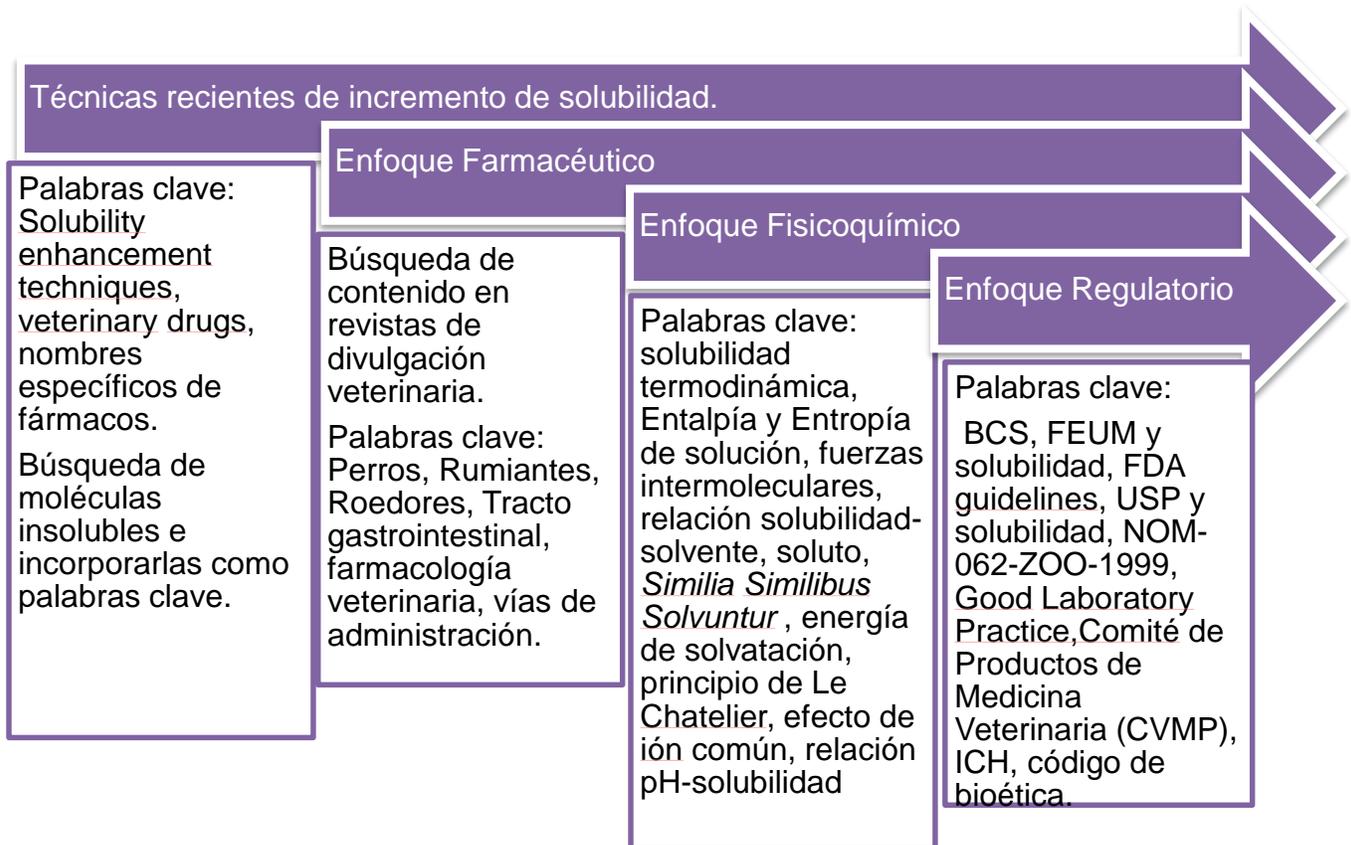
El farmacéutico involucrado en la regulación sanitaria deberá:

1. Conocer las normas que impactan en el ciclo de vida del fármaco veterinario.
2. Conocer la relación que existe entre las normas mexicanas con las regulaciones internacionales.
3. Conocer los requisitos normativos para un registro exitoso ante la entidad regulatoria y con ello poder comercializar el producto.

Objetivos

- Destacar la importancia de la Industria Farmacéutica veterinaria y recalcar el valor del Químico Farmacéutico Biólogo en el desarrollo de fármacos y medicamentos para uso veterinario.
- Dar a conocer el concepto de solubilidad desde un enfoque farmacéutico, fisicoquímico y regulatorio.
- Recalcar los factores fisicoquímicos y termodinámicos que impactan en la solubilidad de un fármaco para aplicación veterinaria.
- Dar a conocer la regulación nacional e internacional aplicable al ciclo de vida de un fármaco para uso veterinario.
- Citar las características fisiológicas más relevantes de algunas especies animales.
- Señalar la influencia de la solubilidad en la vía de administración en animales.
- Mencionar algunas de las estrategias empleadas para la mejora de la solubilidad de fármacos insolubles para uso veterinario.

Procedimiento



Resultados y Discusión

CAPÍTULO 1. Concepto de Solubilidad bajo distintos enfoques

1.1 Solubilidad: Un enfoque termodinámico

La velocidad de disolución tiene un papel importante en la medición de la solubilidad termodinámica, por ejemplo, en sólidos cristalinos, la red formada por las partículas cristalinas tiene que alterarse como parte del proceso de solubilización, por esta razón los fármacos con estructura amorfa o poco cristalinos suelen presentar alta solubilidad en comparación con el mismo fármaco con forma cristalina.

Estudios reportados por Alsenz et al., 2007 mencionan, que el equilibrio de solubilidad termodinámica es considerada como la verdadera solubilidad de un componente y sirve como el estándar de oro para satisfacer las necesidades de desarrollo de un producto, es decir, representa la solubilidad de saturación de un compuesto en equilibrio con un exceso de sustancia no disuelta al final del proceso de disolución.

Experimentalmente, la solubilidad de equilibrio termodinámico se determina mediante mediciones únicas, después de 24-48 horas, pero la solubilidad debe de ser constante para que se confirme que el equilibrio se ha alcanzado y por lo tanto implica múltiples mediciones en varios puntos temporales.

1.1.1 Entalpía de solución y fuerzas intermoleculares

La entalpía se define como una medida de la cantidad de calor que un sistema libera o absorbe durante un proceso a presión constante, también llamado cambio de entalpía (ΔH) (**Chang et al., 2013**), por lo tanto, la entalpía de solución (ΔH_{soln}) es la cantidad de calor que se libera o absorbe durante un proceso a presión constante cuando una solución se forma.

“La entalpía de una reacción puede ser positiva o negativa, según sea el proceso. Para un proceso endotérmico (el sistema absorbe calor de los alrededores), ΔH es positivo ($\Delta H > 0$). Para un proceso exotérmico (el sistema libera calor hacia los alrededores), el ΔH es negativo ($\Delta H < 0$)” (**Chang et al., 2013; Furka, 2019**). Bajo este escenario, existen cuatro posibilidades que necesitan ser tomadas en cuenta, para determinar si el solvente y el soluto podrán formar una solución:

- 1) Las fuerzas intermoleculares son de fuerzas similares ($\Delta H = 0$), a lo que se le llama solución ideal.
- 2) Las fuerzas intermoleculares consideradas entre el solvente y el soluto, son más fuertes que otras fuerzas intermoleculares ($\Delta H_3 > \Delta H_1 + \Delta H_2$, $\Delta H_{\text{soln}} < 0$), siendo una reacción de tipo exotérmica
- 3) Las fuerzas intermoleculares entre el solvente y el soluto, son más débiles que otras fuerzas intermoleculares, ($\Delta H_3 < \Delta H_1 + \Delta H_2$, $\Delta H_{\text{soln}} > 0$), siendo una reacción de tipo endotérmica.

- 4) Las fuerzas intermoleculares entre el solvente y el soluto, tienden a ser más débiles que otras fuerzas intermoleculares, formando fases separadas (Martínez *et al.*, 2012).

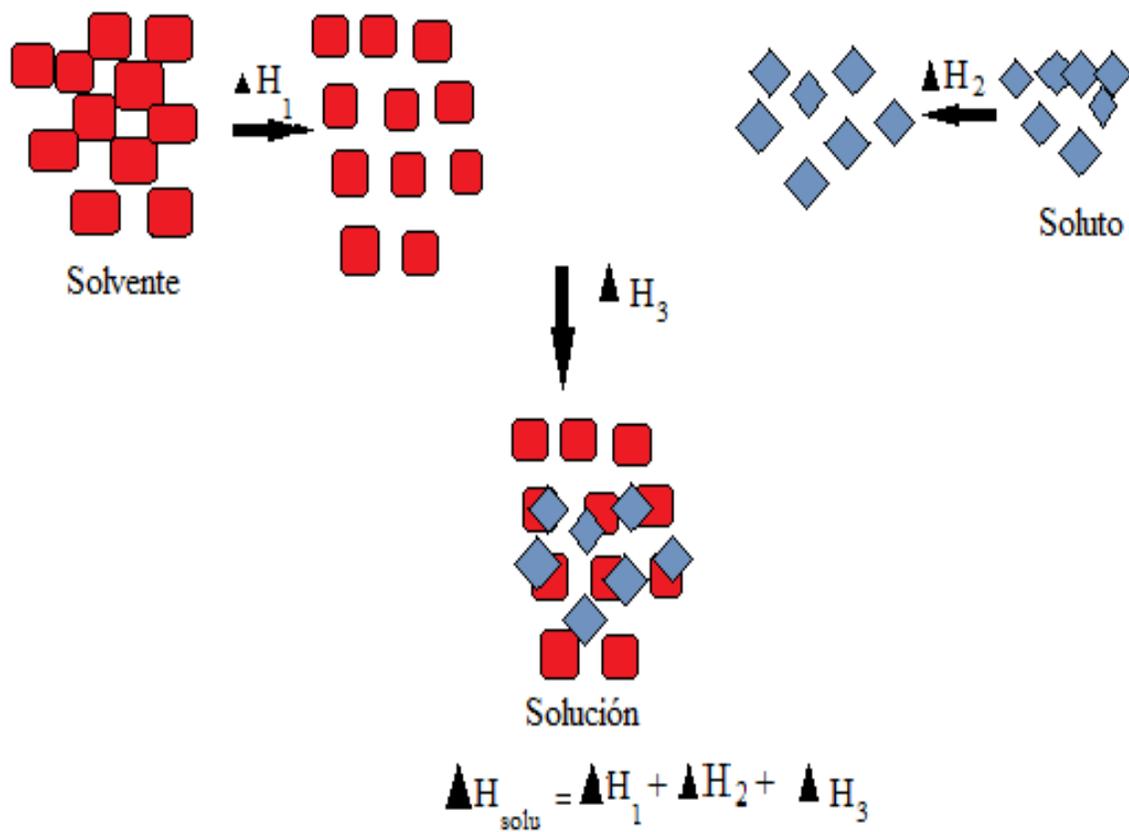


Figura 1. Esquematización de las interacciones físico-químicas responsables de la solubilización. Modificado de Martínez *et al.*, 2012

1.1.2. Entropía en una solución

La entropía (**S**) se define como “medida del grado de dispersión de la energía de un sistema entre las diferentes posibilidades en que ese sistema puede contenerla” (**Chang et al., 2013**), es decir, nos habla de la desorganización que existe en un sistema. Para evaluar si se formará un proceso de solubilización dentro de un sistema, se tendrán que tomar en cuenta los valores de ΔH_{soln} (cambio de entalpía en la solución) y ΔS_{soln} (cambio de entropía en la solución).

1.2 Solubilidad: Un enfoque químico

La International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC) define a la solubilidad como la composición analítica de una solución saturada expresada como una proporción de un soluto en un solvente determinado.

A su vez, un soluto es la sustancia líquida o sólida presente en menor cantidad, siendo el disolvente el medio acuoso en el cual se disolverá el soluto, formando así una disolución (mezcla homogénea de dos o más sustancias) (**Chang et al., 2013**).

Para entender a la solubilidad desde un punto de vista químico, se debe hablar de algunos conceptos:

1. Cristales polimorfos “los cuales, entre sí, tienen la misma composición química, pero distintas estructuras cristalinas internas y por ello poseen propiedades fisicoquímicas diferentes” (**Vippagunta et al., 2001; Rodríguez-Spong et al., 2004**).

2. Solvatos “son sólidos cristalinos que contienen porciones de solvente dentro de la estructura del cristal, en proporciones estequiométricas o no estequiométricas, cuando el solvente es agua, se le conoce como hidrato” (Vippagunta *et al.*, 2001).

1.2.1 *Similia Similibus Solvuntur*

De acuerdo a Zhang, Lin y Ye, la hipótesis de “Lo similar disuelve a lo similar” o *Similia Similibus Solvuntur* (en latín), hace alusión a la polaridad como propiedad inherente de un compuesto y el solvente en el que se pretende disolver.

Moléculas no polares, se disolverán con solventes no polares. Y de igual forma, moléculas polares y compuestos iónicos, se disolverán en solventes polares.

1.2.2 Energía de solvatación

En 2006, Bhattachar *et al.*, definieron a la energía de solvatación como: “La interacción estabilizante formada tras la solubilización del soluto con el solvente. Mientras menor sea la energía para superar la energía de estabilización en estado sólido, mayor será el número de moléculas que podrán ser acomodadas en la solución”.

Molecularmente, la solubilidad puede estar dada por dos tipos de interacciones. La primera de ellas se da entre la molécula del fármaco y las moléculas del solvente.

Por otro lado, está el proceso de solubilización donde el compuesto está íntimamente ligado a su propia forma sólida, mientras más fuertes sean las interacciones intermoleculares del fármaco, más energía será requerida para separar una molécula de otra, lo cual se traduce en una baja solubilidad (**Delany et al., 2005; Chang et al., 2013**).

Por lo antes mencionado, no solamente se pueden tomar en cuenta factores externos que afecten la solubilidad de un fármaco, también han de considerarse las interacciones que existan entre el fármaco y su forma sólida, así como las condiciones del medio de solución como son el pH, el solvente primario, los aditivos, entre otros (**Kerns et al., 2008**).

1.2.3 Temperatura

Lu JX *et al.*, en el 2020 mencionan que, el efecto de la temperatura en una forma sólida o líquida va a depender directamente del tipo de reacción de disolución, ya sea exotérmica o endotérmica.

En la **Tabla 1** se resumen los efectos del incremento de la temperatura que afectan a la solubilidad (Lu JX *et al.*, 2020).

Tabla 1. Efecto de la temperatura en la solubilidad.

Condición de temperatura	Efecto
Incremento	Incremento de la solubilidad en reacciones endotérmicas. La energía producida por la ruptura y formación de enlaces, tiene como resultado energía que es absorbida cuando el soluto se disuelve en el solvente (Principio de Le Chatelier).
	Decremento de la solubilidad en reacciones exotérmicas. La energía es liberada cuando el soluto se disuelve en el solvente, por lo que, al incrementar la temperatura, se introduce mayor energía al sistema, inhibiendo la reacción de disolución.

1.2.4 Efecto del ion común

Martínez *et al.*, en el 2012 declaran que el efecto del ion común “describe las consecuencias de la interacción en solución, de dos solutos disueltos que contienen el mismo ion o iones”. Dichas interacciones afectarán a la concentración de iones en esa solución (fuerza iónica).

Por ello, la solubilidad con relación al efecto del ion común se debería desgregar en **(Alsenz *et al.*, 2007)**:

1. Solubilidad en solución amortiguadora.

También llamada solubilidad aparente y se refiere a la solubilidad a un pH determinado, medido bajo condiciones de uso de solución amortiguadora. Al utilizarse una solución que resiste cambios de pH cuando se adicionan pequeñas cantidades de base o ácido **(Kusumaningrum *et al.*, 2017)**, así, a un valor determinado de pH, la solubilidad en solución amortiguadora puede variar.

2. Solubilidad sin solución amortiguadora.

Usualmente se solubiliza en el disolvente universal, agua y corresponde a la solubilidad de la solución saturada del compuesto.

3. Solubilidad intrínseca.

Se trata de la solubilidad de la forma neutra del compuesto ionizable.

En la **Tabla 2** se presentan posibles combinaciones de sales, así como su solubilidad (**Hust et al., 2015**).

Por otro lado, la **Tabla 3** muestra las reglas de solubilidad para compuestos iónicos comunes. El contenido de dichas tablas es resultado de muchos experimentos de solubilidad a lo largo de la historia, por tanto, podrían ser de utilidad para predecir cualitativamente solubilidades de compuestos iónicos (**Chang, R, et al., 2013**).

Tabla 2. Diversas combinaciones de sales y su solubilidad.

Soluble: Insoluble:

	F ⁻	OH ⁻	Cl ⁻	NO ₃ ⁻	Br ⁻	I ⁻	ClO ₃ ⁻	CH ₃ COO ⁻	ClO ₄ ⁻	O ²⁻	S ²⁻	SO ₃ ²⁻	CO ₃ ²⁻	SO ₄ ²⁻	PO ₄ ³⁻
NH ₄ ⁺	<input checked="" type="checkbox"/>														
Li ⁺	<input checked="" type="checkbox"/>														
Na ⁺	<input checked="" type="checkbox"/>														
K ⁺	<input checked="" type="checkbox"/>														
Rb ⁺	<input checked="" type="checkbox"/>														
Cs ⁺	<input checked="" type="checkbox"/>														
Mg ²⁺	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Ca ²⁺	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Sr ²⁺	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Ba ²⁺	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Fe ²⁺	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Fe ³⁺	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Ni ²⁺	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Co ²⁺	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Co ³⁺	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Cu ⁺	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Cu ²⁺	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Ag ⁺	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Zn ²⁺	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Hg ₂ ²⁺	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Hg ²⁺	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Al ³⁺	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Pb ²⁺	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Tabla 3. Reglas de solubilidad para compuestos iónicos comunes en agua a 25°C.

Compuestos solubles	Excepciones
Compuestos que contengan iones de metales alcalinos (Li ⁺ , Na ⁺ , K ⁺ , Rb ⁺ , Cs ⁺ , y ion amonio NH ₄ ⁺) Nitratos (NO ₃ ⁻), bicarbonatos (HCO ₃ ⁻) Y cloratos (ClO ₃ ⁻) Halogenuros (Cl ⁻ , Br ⁻ , I ⁻) Sulfatos (SO ₄ ²⁻)	Halogenuros de Ag ⁺ , Hg ₂ ²⁺ y Pb ²⁺ Sulfatos de Ag ⁺ , Ca ²⁺ , Sr ²⁺ , Ba ²⁺ , Hg ²⁺ y Pb ²⁺
Compuestos insolubles	Excepciones
Carbonatos (CO ₃ ²⁻), fosfatos (PO ₄ ³⁻), cromatos (CrO ₄ ²⁻), sulfuros (S ²⁻) Hidróxidos (OH ⁻)	Compuestos que contengan iones de metales alcalinos y el ion amonio. Compuestos que contengan iones de metales alcalinos y el ion Ba ²⁺

1.2.5 Equilibrios de Solubilidad y pH

Para determinar cuantitativamente la concentración de un ión en medio acuoso, es necesario hablar de equilibrios de solubilidad.

La Constante del producto de solubilidad (K_{ps}) es el producto de concentraciones molares de los iones en cuestión, elevados a la potencia de su coeficiente

estequiométricas en la ecuación. Se considera que cuanto menor sea el valor de K_{ps} de un compuesto, menor será su solubilidad en agua.

Existen formas para expresar el producto de solubilidad de acuerdo al tipo de reacción entre los iones involucrados.

La **Tabla 4** muestra la relación entre K_{ps} , concentración iónica y solubilidad para distintos tipos de sales (**Atienza et al., 2020**).

Tabla 4. Relación entre K_{ps} , concentración iónica y solubilidad para distintos tipos de sales.

Sal	Reacción	Relación entre K_{ps} , concentración iónica y solubilidad
AB	$AB(s) \leftrightarrow AB(ac) \rightarrow A^+ + B^-$ $[A^+] = s; [B^-] = s$	$K_{ps} = [A^+] [B^-] = s^2$
AB ₂	$AB_2(s) \leftrightarrow AB_2(ac) \rightarrow A^+ + 2B^-$ $[A^+] = s; [B^-] = 2s$	$K_{ps} = [A^+] [B^-]^2$ $= s(2s)^2 = 4s^3$
A ₂ B	$A_2B(s) \leftrightarrow A_2B(ac) \rightarrow 2A^+ + B^-$ $[A^+] = 2s; [B^-] = s$	$K_{ps} = [A^+]^2 [B^-]$ $= (2s)^2 s = 4s^3$
AB ₃	$AB_3(s) \leftrightarrow AB_3(ac) \rightarrow A^+ + 3B^-$ $[A^+] = s; [B^-] = 3s$	$K_{ps} = [A^+] [B^-]^3$ $= s(3s)^3 = 27s^4$
A ₂ B ₃	$A_2B_3(s) \leftrightarrow A_2B_3(ac) \rightarrow 2A^+ + 3B^-$ $[A^+] = 2s; [B^-] = 3s$	$K_{ps} = [A^+]^2 [B^-]^3 =$ $(2s)^2 (3s)^3 = 108s^5$

Después de establecer cómo se disocia una sal, se puede establecer la constante de ionización (K_a):

$$K_a = \frac{[H^+][A^-]}{[HA]} \quad \text{Ecuación 1}$$

y a su vez, se puede hacer uso de la ecuación de Henderson-Hasselbalch:

$$pH = pK_a + \log \frac{A^-}{HA} \quad \text{Ecuación 2}$$

Siendo HA el ácido y A^- la base conjugada.

Con las ecuaciones anteriores, se puede calcular el pH con el cual la solubilidad aumentaría. Tomando como ejemplo una sal de la forma AB_2 , por efecto del ion común, al tener un compuesto básico de baja solubilidad y adicionar $[H^+]$ al medio, el pH se haría más ácido y disminuirían los $[OH^-]$. La concentración del catión A^{2+} aumentaría para mantener el equilibrio, por lo que se disolvería más el compuesto AB_2 por lo tanto, las bases insolubles tienden a disolverse en disoluciones ácidas y los ácidos insolubles se disuelven en disoluciones básicas (**Chang *et al.*, 2013**).

1.3 Solubilidad: Un enfoque regulatorio.

La Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM) define a la solubilidad como: grado de disolución de un polvo, en el intervalo de 30 minutos, en un disolvente a la temperatura de 25°C, con una agitación vigorosa durante 30 segundos a intervalos de 5 minutos, expresándose en los siguientes términos. Véase **Tabla 5 (Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM), 2011)**:

Tabla 5. Criterios de Solubilidad de acuerdo a la FEUM.

Término Descriptivo	Partes de Disolvente Requeridas para 1 Parte de Sóluto
Muy soluble	Menos de 1 parte
Fácilmente soluble	De 1 a 10
Soluble	De 11 a 30 partes
Poco soluble	De 31 a 100 partes
Ligeramente soluble	De 101 a 1000 partes
Muy ligeramente soluble	De 1001 a 10 000 partes
Casi insoluble	Más de 10 000 partes

Es necesario mencionar la nota que la FEUM hace acerca del término “parcialmente soluble”: se debe utilizar exclusivamente cuando sólo una parte de los componentes de una mezcla se disuelva.

De acuerdo a la USP, se puede indicar la solubilidad aproximada de una sustancia mediante los términos descriptivos descritos en la **Tabla 6 (The United States Pharmacopeia, USP 36, 2013)**.

Tabla 6. Criterios de Solubilidad de acuerdo a la USP.

Término Descriptivo	mg/mL
Fácilmente soluble	100- 1000
Soluble	33-100
Poco soluble	10- 33
Ligeramente soluble	1-10
Muy poco soluble	0.1-1
Prácticamente insoluble	< 0.1

1.3.1 Sistema de Clasificación Biofarmacéutica (BCS)

Martinez et al., en 2012 reconocen la importancia acerca de los criterios de solubilidad para formulaciones veterinarias, haciendo referencia al Biopharmaceutics Classification System (BCS) como la directriz principal para clasificar a un fármaco de uso humano en función de su solubilidad.

De acuerdo al BCS, los fármacos de acuerdo a su solubilidad se pueden clasificar en (**CDER/FDA Guidance for Industry, 2017**):

Tabla 7. Sistema de Clasificación de acuerdo a la solubilidad del BCS.

Clase	Solubilidad	Permeabilidad
1	Alta	Alta
2	Baja	Alta
3	Alta	Baja
4	Baja	Baja

Para los fármacos de Clase I se identificaron que los factores están relacionados a las propiedades de la formulación, en los Clase II se relacionan al proceso de disolución, en los Clase III a los procesos de absorción y propiedades de formulación y en los Clase IV a procesos de absorción y disolución (**Melillo et al., 2018**).

El pilar fundamental del BCS es el entendimiento de la solubilidad, disolución y permeabilidad de un fármaco (**Kasim et al., 2004**), por ello el BCS define estos tres conceptos fundamentales (véase la **Tabla 8**) (**CDER/FDA, 2017**).

Tabla 8. Definiciones BCS de Solubilidad, Permeabilidad y Disolución.

Término	Definición
Solubilidad	Un medicamento de liberación inmediata es altamente soluble cuando la dosis más alta es soluble en 250 mL de agua o menos dentro del intervalo de pH 1-6.8 a $37 \pm 1^\circ\text{C}$.
Permeabilidad	Se basa indirectamente en medir la fracción de fármaco absorbida en humanos y directamente en la medición de la tasa de transferencia de masa a través de la membrana humana intestinal. Un fármaco es altamente permeable cuando se absorbe el 85 % o más.
Disolución	<p>Un fármaco de liberación inmediata se puede considerar de:</p> <p>Disolución Rápida: 85% o más de la cantidad declarada en el marbete se disuelve dentro de los 30 minutos.</p> <p>Disolución muy rápida: 85% o más de la cantidad declarada en el marbete se disuelve dentro de los 15 minutos.</p> <p>Condiciones de prueba :</p> <ul style="list-style-type: none">• En aparato 1 a 100 rpm.• En aparato 2 a 50 rpm.• Volumen de 500 mL o menos (900 mL cuando se justifique apropiadamente).• Medios:<ul style="list-style-type: none">(1) 0.1 N HCl o Fluido gástrico simulado USP sin enzimas.(2) a pH 4.5 o 6.8.

CAPÍTULO 2. Marco regulatorio Nacional e Internacional aplicable a Fármacos de uso veterinario.

2.1 México

2.1.1 NOM-062-ZOO-1999

Esta Norma Oficial Mexicana (NOM), bajo el título *Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio* es de observancia obligatoria en todo el territorio nacional y su objetivo es homologar las especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio que deben cumplir las personas físicas o morales.

Esta Norma es aplicable a los bioterios y/o establecimientos que manejen los siguientes animales: roedores (rata, ratón, cobayo, hámster y jerbo); lagomorfos (conejo); carnívoros (perro y gato); primates (primates no humanos); porcinos.

Los temas que abarca son (**Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, 1999**):

- Generalidades.
- Comité Interno para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio.
- Perfil del personal técnico.
- Obtención de animales.
- Identificación y registro de animales.
- Alimento.
- Confinamiento.
- Técnicas experimentales
- Eutanasia.

2.2 Internacional

2.2.1 FDA

La FDA tiene un procedimiento específico bajo el cual se aprueban fármacos y medicamentos. Como se observa en la **Figura 2** se presenta que las Good Laboratory Practices (GLP) o Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL) son la regulación que impactan al proceso preclínico (o de uso de animales), mismas que aplicarían para medicamentos para uso veterinario (**Drug Development and Delivery, 2020**).

El Handbook de las BPL de la Organización Mundial de la Salud (OMS) define a las BPL como un sistema de calidad interesado en el proceso organizacional y las condiciones bajo las cuales los estudios de seguridad ambiental y de salud no clínicos, son planeados, ejecutados, monitoreados, registrados, archivados y reportados (**Good Laboratory Practice, 2008**).

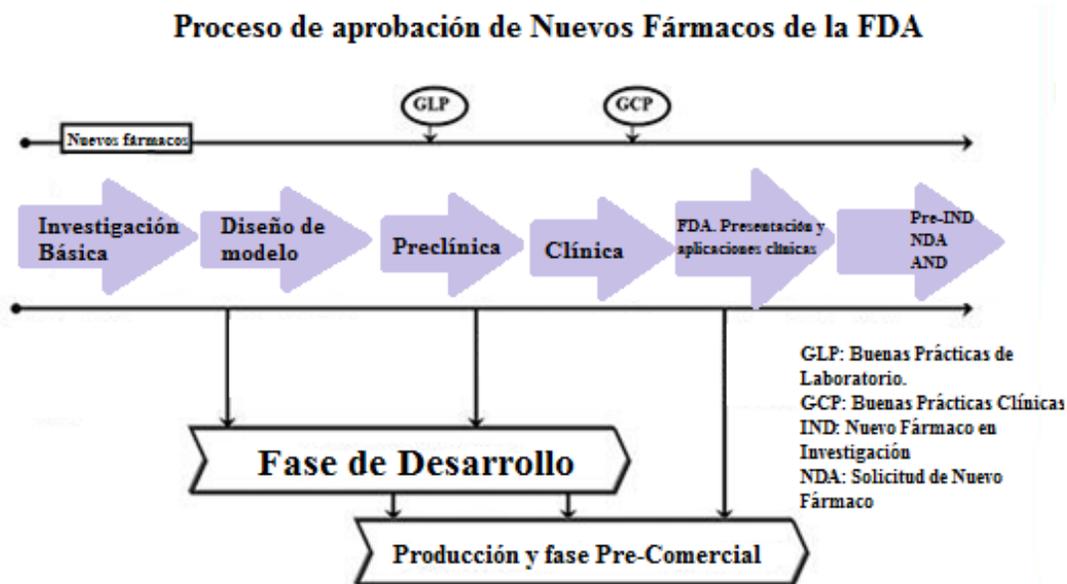


Figura 2. Proceso de aprobación por FDA de un fármaco nuevo. Modificado de Drug Development and Delivery, 2020.

Dichas prácticas aplican solamente bajo los siguientes estudios:

- No clínicos o preclínicos, en su mayoría, en animales o *in vitro*.
- Aquellos diseñados para obtener datos de las propiedades o seguridad de temas relacionados a la salud humana.
- Aquellos que se pretendan registrar ante la entidad regulatoria nacional.

Las BPL también cubren distintas clases de estudios como requisitos para los estudios preclínicos, como son:

- Toxicidad de dosis única.
- Toxicidad de dosis repetidas.
- Toxicidad Reproductiva (fertilidad, toxicidad embrio-fetal, teratogenicidad y toxicidad peri y post natal).
- Potencial mutagénico.
- Potencial Carcinogénico.
- Toxicocinética.
- Farmacodinamia.
- Estudios locales de tolerancia, fototoxicidad, irritación, estudios de sensibilización, estudios de sospecha de adicción.

2.2.2 Comité de Productos de Medicina Veterinaria (CVMP) de la Agencia Europea de Medicamentos (EMA)

El CVMP es responsable de (**European Medicines Agency, 2020**):

- Conducir las evaluaciones iniciales de las solicitudes de autorización de comercialización de medicamentos veterinarios en toda la Unión Europea.
- Actividades de vigilancia post-autorización (Farmacovigilancia veterinaria).
- Monitoreo de seguridad de medicamentos veterinarios en el mercado y en caso de ser necesario, recomendar a la Comisión Europea cambios en la autorización de comercialización del medicamento, su suspensión o retiro del mercado.
- Evalúa medicamentos veterinarios autorizados a nivel nacional y en la Unión Europea.
- Recomienda límites seguros para residuos de medicamentos veterinarios utilizados en animales productores de alimentos y productos biocidas utilizados en la agricultura.
- Provee asesoramiento científico a compañías de investigación y desarrollo de nuevos medicamentos veterinarios.
- Prepara directrices científicas y da orientación regulatoria con el fin de ayudar a compañías farmacéuticas a elaborar solicitudes de autorización comercial de medicamentos de uso veterinario.
- Coopera con socios internacionales para la armonización de requisitos regulatorios.

2.3 Compatibilidad de criterios de solubilidad para fármacos de uso humano y veterinario

Para determinar la clase de solubilidad a la que pertenece un fármaco, los ensayos experimentales deben realizarse en condiciones de pH fisiológico. Se debe hacer un perfil de pH-solubilidad a $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ y en un intervalo de pH de 1 a 6.8 en medio acuoso, considerando varios puntos de pH para definir con exactitud el perfil dentro del intervalo de pH. Para ser considerado un fármaco altamente soluble debe solubilizarse en un volumen de 250 mL o menos de medio acuoso, bajo las condiciones previamente mencionadas (**CDER / FDA Guidance for Industry, 2017**).

El verdadero problema con los fármacos para uso veterinario es que, los criterios de solubilidad disponibles están basados en la permeabilidad del tracto gastrointestinal humano, y por diferencias marcadas entre las características fisiológicas del Tracto Gastrointestinal (TGI) del humano y de especies animales, estos criterios no son los apropiados para ser aplicados en fármacos de uso veterinario.

Queda claro que los criterios establecidos en el BCS pueden presentar incompatibilidades importantes con la fisiología de especies veterinarias, por tanto, el criterio de solubilidad deberá basarse en las características fisiológicas del TGI de la especie animal en la cual se espera tener un efecto terapéutico, considerando los siguientes puntos (**Martínez et al., 2012**):

- a) Regiones del TGI que necesitan ser consideradas para la evaluación de los criterios de solubilidad para una especie animal en específico.

- b) El pH del TGI de la especie animal en la cual se implementará el uso del fármaco.
- c) La tasa de rapidez de disolución del fármaco, mediante el movimiento del mismo a través de los segmentos del TGI del animal.
- d) El volumen de fluido(s) al cual estará expuesto el fármaco (Distribución).
- e) Relación entre dosis, volumen del solvente y peso corporal (nivel más alto de dosificación).

Los criterios de solubilidad de fármacos veterinarios no pueden ser considerados generales y aplicados a todas las especies, ya que existen grandes diferencias fisiológicas entre una especie animal y otra. Por ello, se mencionarán las características fisiológicas que harán que el concepto de solubilidad sea único para cada especie animal. En la **Figura 3** se muestran las diferencias en longitud de los TGI de distintas especies animales en comparación con el humano y en la **Figura 4** se muestran las proporciones de la longitud total del TGI de distintas especies animales comparado con el humano (**Hatton et al., 2015**).

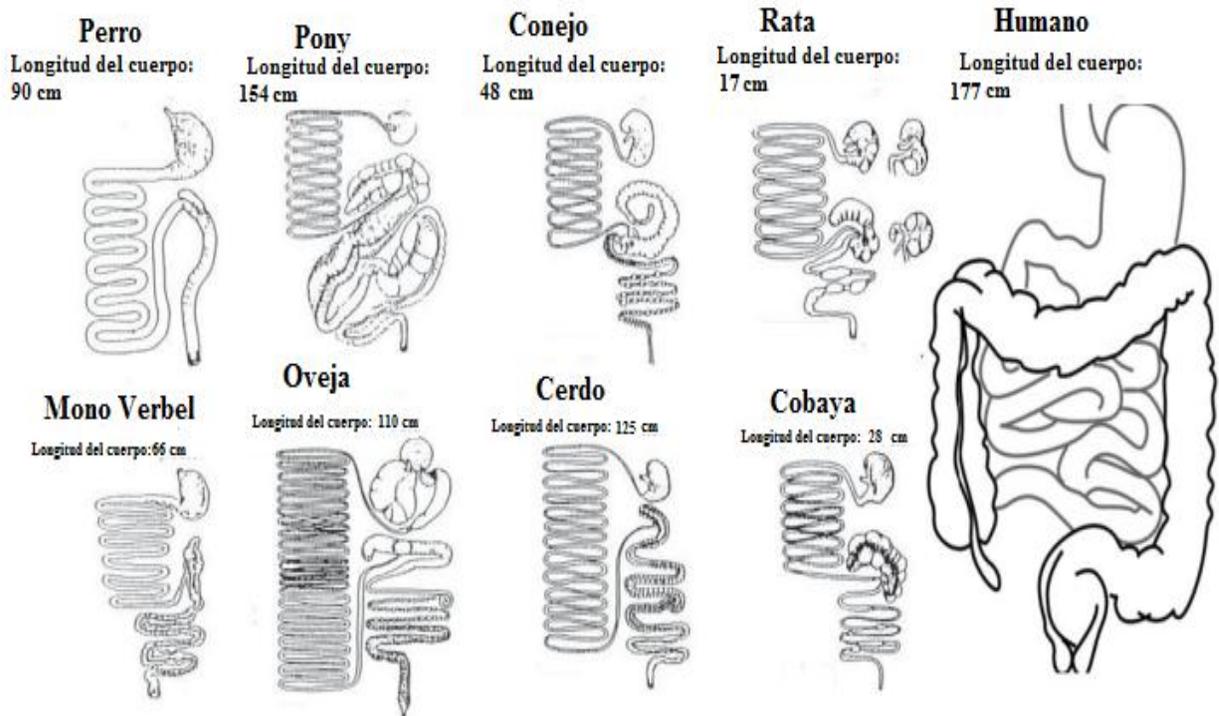


Figura 3. Esquematización de los TGI de diversas especies animales versus el humano.

Modificado de Hatton *et al.*, 2015.

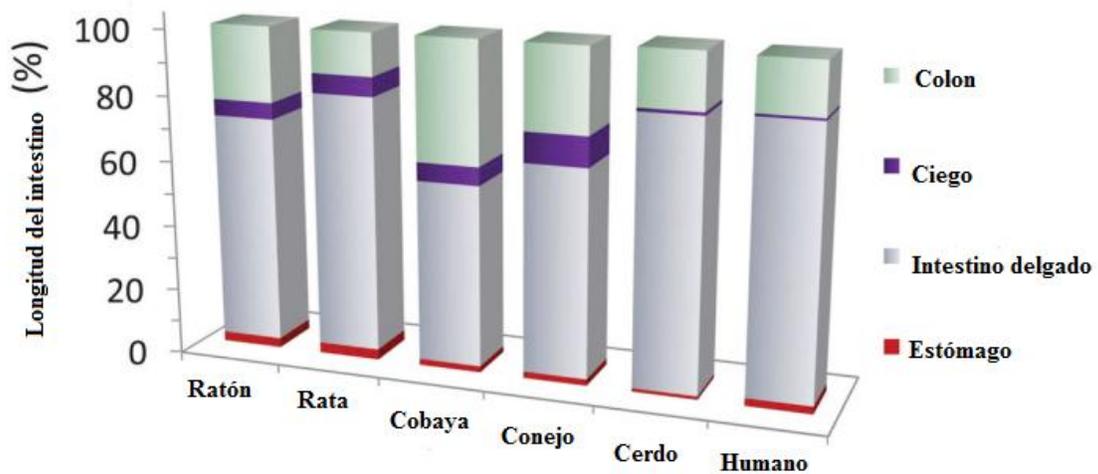


Figura 4. Proporciones de la longitud total del TGI representados en colon, ciego, intestino delgado y Estómago para distintas especies animales versus el humano. Modificado de

Hatton *et al.*, 2015.

CAPÍTULO 3. Aspectos biofarmacéuticos en distintas especies animales.

3.1 Perros

Se ha comprobado una diferencia marcada en la biodisponibilidad de fármacos entre humanos y perros (**Chiou et al., 2000**). Prueba de ello es el uso frecuente de la raza beagle en estudios preclínicos para evaluar formulaciones orales para uso humano, en donde se han hallado diferencias no solo con el TGI humano, también se han encontrado diferencias entre el TGI de distintas razas de perros (**Martínez et al., 2012**). Por lo anterior, no es lógico pensar que aplicar los criterios de solubilidad del BSC para fármacos para uso en perros sea lo más adecuado.

Recientes estudios demuestran que el volumen del fluido gástrico de un perro de 9-12 kg es de 24.0 ± 4.2 mL (**Wang et al., 2020**). A diferencia de los humanos, la disolución de medicamentos sólidos orales para perros dependen, del fluido gástrico residual, ya que usualmente son administrados por los dueños en ausencia de agua (**Martínez et al., 2012**).

Dada que la relación volumen (mL)/ peso (kg) no es un criterio razonable para ser aplicado en distintas razas (diferencia de tamaño y por tanto peso), en el artículo *Drug solubility classification in the dog*. de Martínez et al., 2012, se realizó un experimento con 46 fármacos para perros, para explorar el grado en el que puede existir un error al clasificar un fármaco como altamente soluble cuando no lo es, los resultados se resumen en la **Figura 5**.

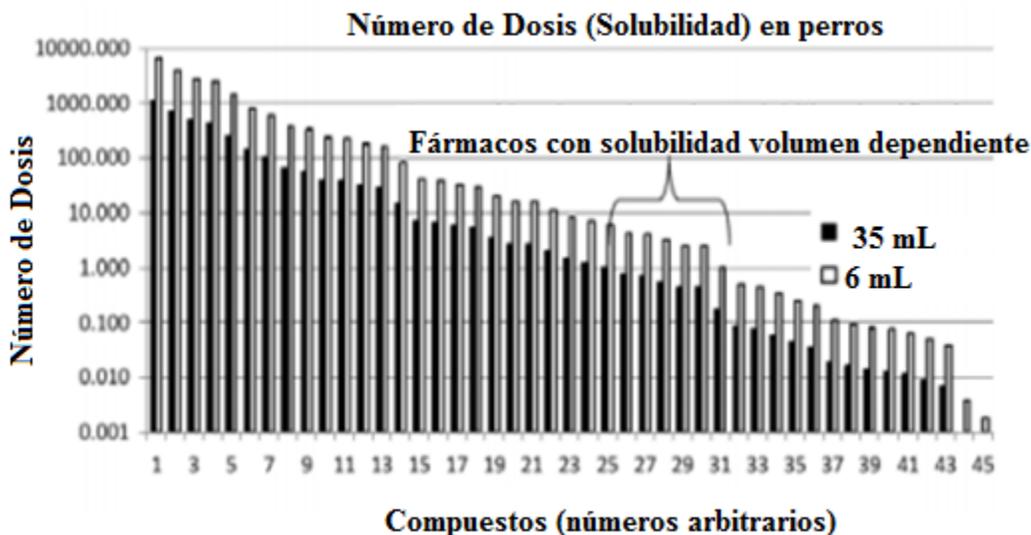


Figura 5. Do estimados en perros con un volumen de 6 o 35 mL. Se ilustra que un pequeño número de los 46 fármacos en estudio son los que difieren en su clasificación de solubilidad por un cambio en su volumen estimado, el experimento se realizó en perros Beagle (10-11 Kg).

Modificado de Martínez et al., 2012.

Una de las conclusiones principales de este experimento es que existen relativamente pocas moléculas que pueden ser incorrectamente clasificadas como altamente solubles y también se concluye que la clasificación de solubilidad en fármacos para perros no es sensible a cambios en el volumen en el intervalo de 6 a 35 mL.

3.1.1 pH y su influencia en la solubilidad de fármacos para perros

El pH del TGI del perro tiende a ser una unidad más alta que en los humanos debido a la baja tasa basal de secreción de ácido en los perros, lo cual tiene una influencia en fármacos con pH 3-7 (Merchant et al., 2011). En la Figura 6 se ilustran las diferencias de pH a lo largo del TGI en distintas especies.

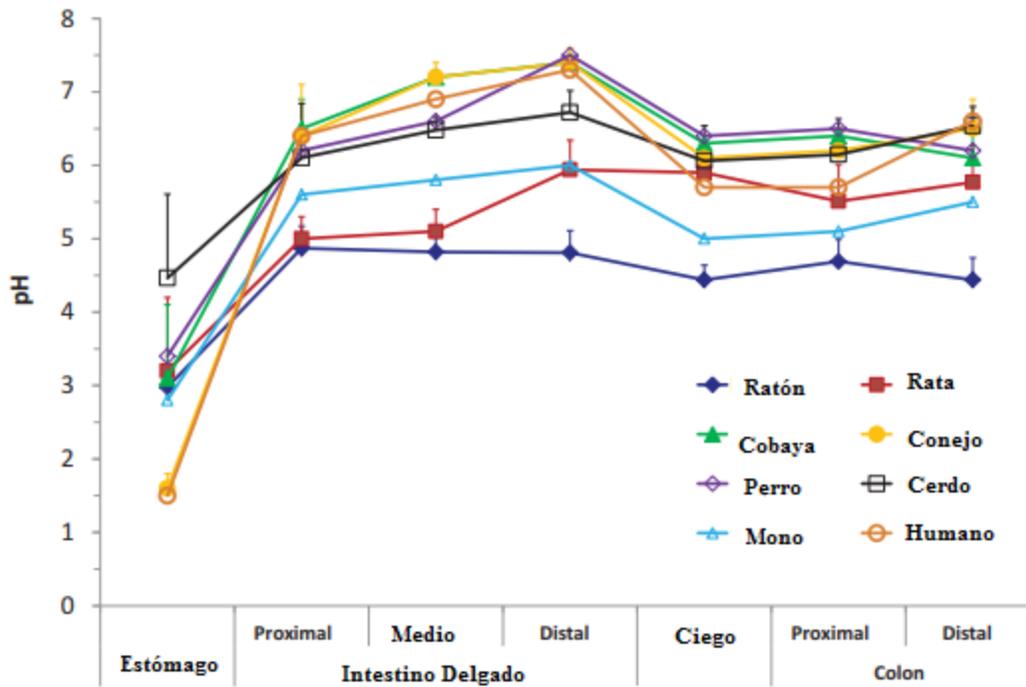


Figura 6. pH en TGI de distintas especies animales. Modificado de Merchant et al., 2011.

Estudios reportan que el estómago de un humano tiene capacidad de 1- 1.6 L, el de un ratón 0.37 mL, rata 3.38 mL, perro 0.5-1 L y cerdo 8 L (veáse **Figura 7**). A pesar de ello, se han encontrado diferencias marcadas entre una misma especie y distinta raza, tal es el caso de los perros Beagle que tiene una capacidad aproximada de 4.33 L mientras que perros mestizos tienen aproximadamente 1 L (**Hatton et al., 2015**).

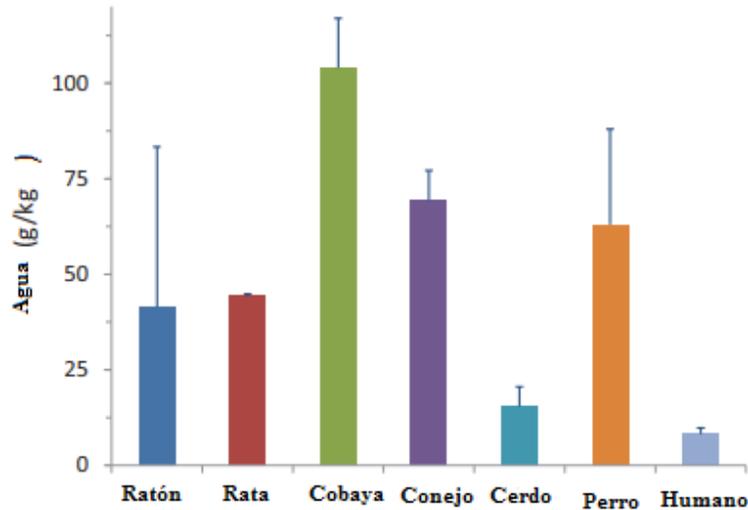


Figura 7. Contenido de agua en gramos por cada kilogramo de peso en distintas especies animales y en humano. Modificado de Hatton et al., 2015.

También es importante mencionar el rol importante que tienen las sales biliares, ya que juegan un papel importante en la digestión de grasas alimentarias e influyen en la disolución y absorción de medicamentos con baja solubilidad en agua (véase **Figura 8**) (Hatton *et al.*, 2015).

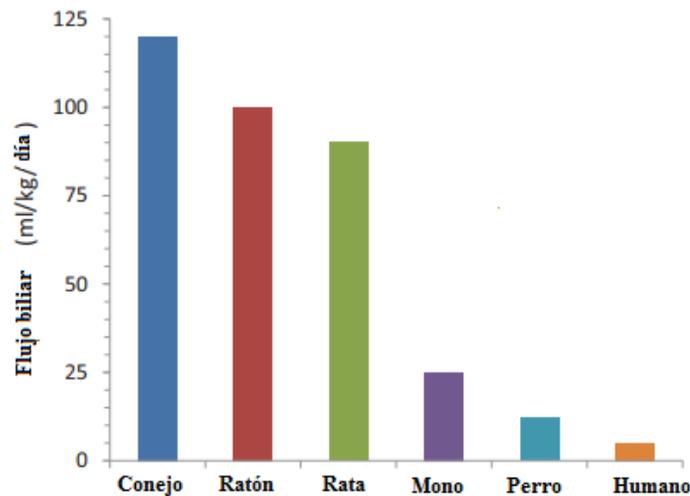


Figura 8. Contenido de flujo biliar en mililitros por cada kilogramo de peso por día en distintas especies animales y en humano. Modificado de Hatton et al., 2015.

3.1.2 Condiciones de prueba para determinar solubilidad.

La cantidad en mg a utilizar de fármaco para las condiciones de prueba, deberá ser aquella dosis (mg/kg) multiplicada por el peso del perro (Kg). Se realizará a 37°C y a pH 1.2 (0.1 N HCl), 4.5 (solución amortiguadora de acetatos), y 7.5 (solución amortiguadora de fosfatos) (**Apley et al., 2017**).

3.2 Rumiantes

Se reportan algunos aspectos a ser considerados cuando se quiere establecer los criterios de clasificación de solubilidad en bovinos (**Martínez et al., 2006**):

- Las diferencias fisiológicas del TGI de un rumiante y un humano son muy marcadas, lo cual se traduce en un impacto directo en el volumen y pH para definir la solubilidad del fármaco.
- El factor del tiempo juega un papel importante en la evaluación de la solubilidad (**Martínez et al., 2012**).

3.2.1 Características del TGI en Rumiantes

Fisiológicamente el estómago de los rumiantes está compuesto de cuatro compartimentos: rumen, retículo, omaso que comprenden el complejo del estómago y el abomaso que es el equivalente al estómago monogástrico (véase **Figuras 9 y 10**) (**Clauss et al., 2014**).

Los tamaños de los cuatro compartimentos cambian de acuerdo a la edad, considerándose que, en una vaca adulta, en sus cuatro compartimentos, tiene de 115 a 150-L, pudiendo llegar en casos extremos a 230 L, correspondiendo al 25-35% de su peso total (**Valverde et al., 2008**).

Las formas sólidas de los fármacos llegan inmediatamente al fondo del retículo, en donde la forma farmacéutica se disolverá al entrar en contacto con el rumen (**Apley et al., 2017**). Se debe considerar que la retención de partículas sólidas en el rumen es mayor a 24 horas, por lo que se puede asumir, que en cierto punto del día el rumiante tendrá en el rumen la dosis total diaria, por lo que en la administración debe considerarse la máxima dosis aprobada (mg/kg) (**Grinari et al., 2006**).

Un punto sobresaliente es que los rumiantes no sufren procesos de ayuno, por sus características fisiológicas, por lo que en los fluidos ruminales hay presencia de una mezcla compleja de materia, la cual puede actuar como surfactante, afectando la solubilidad del fármaco (**Apley et al., 2017**).

3.2.2 Condiciones de prueba para determinar solubilidad.

Recientes experimentos han determinado las condiciones de prueba para determinar la solubilidad en Rumiantes y son: pH: 5.1 - 7.5, con solución amortiguadora de fosfatos, a volumen de 50 L, Temperatura de 38 °C y 8 horas como tiempo de prueba, con la finalidad de imitar el tiempo de tránsito en el rumen (**Apley et al., 2017**).

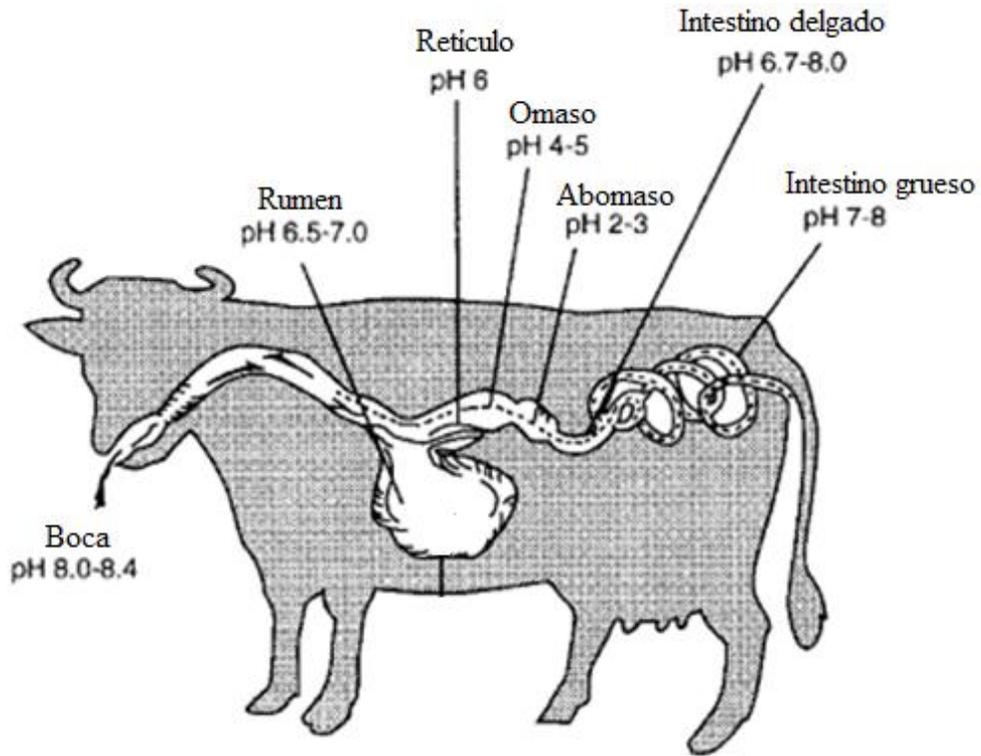


Figura 9. Esquemización de las diferentes partes del tracto gastrointestinal de un rumiante.

Modificado de Vandamme et al., 2004.

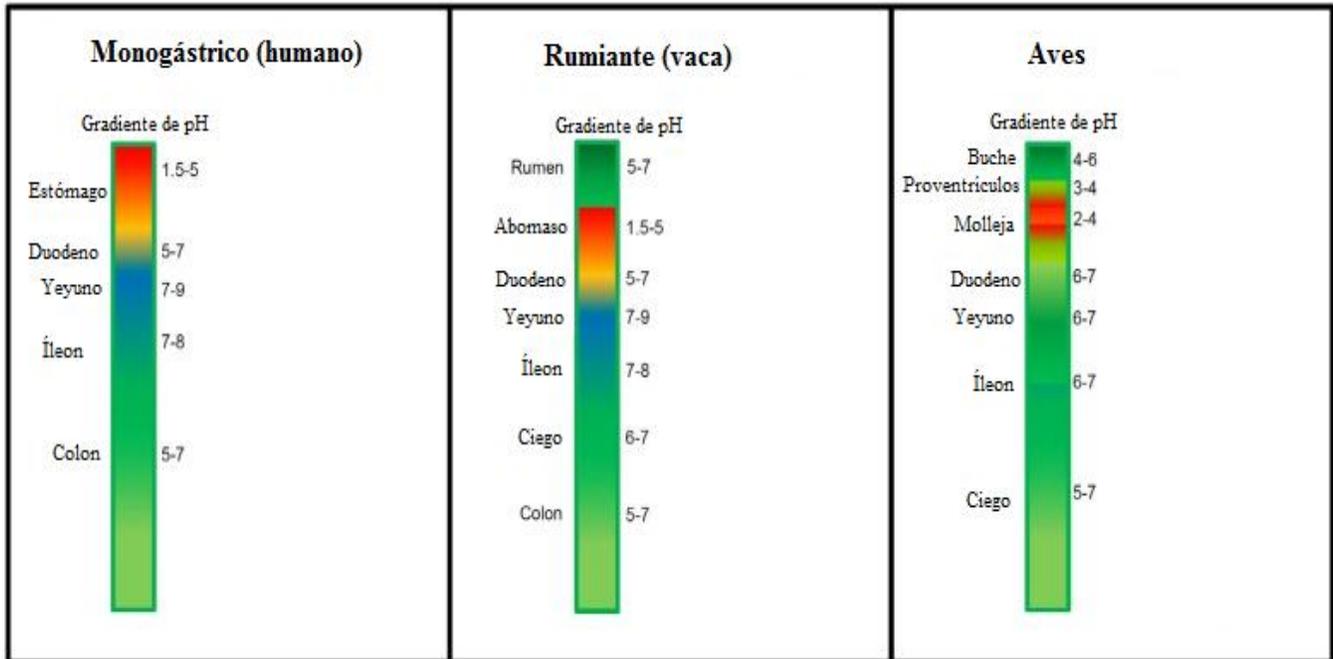


Figura 10. pH de distintos segmentos del tracto gastrointestinal en humanos, rumiantes y aves (por mL de contenido de fluido intestinal). Modificado de Maresca et al., 2013.

3.3 Roedores

Lathem, *et al.* demostraron en 2005 similitudes existentes en lesiones ocasionadas por *Yersinia pestis* en humanos y roedores.

Estudios reportan que el valor de pH en el estómago del ratón es 3.0 (alimentado) y 4.0 (ayuno) (**Figura 11**) y en rata 3.2 (alimentadas) y 3.9 (ayuno) (**Figura 12**).

El contenido de agua en el TGI en ratón alimentado y en ayuno fue 0.98 ± 0.4 y 0.81 ± 1.3 mL, respectivamente, y en rata alimentada y en ayuno fue 7.8 ± 1.5 y 3.2 ± 1.8 mL. La capacidad del estómago fue de 0.4 y 3.4 mL para ratón y rata, respectivamente (**McConnell *et al.*, 2008**).

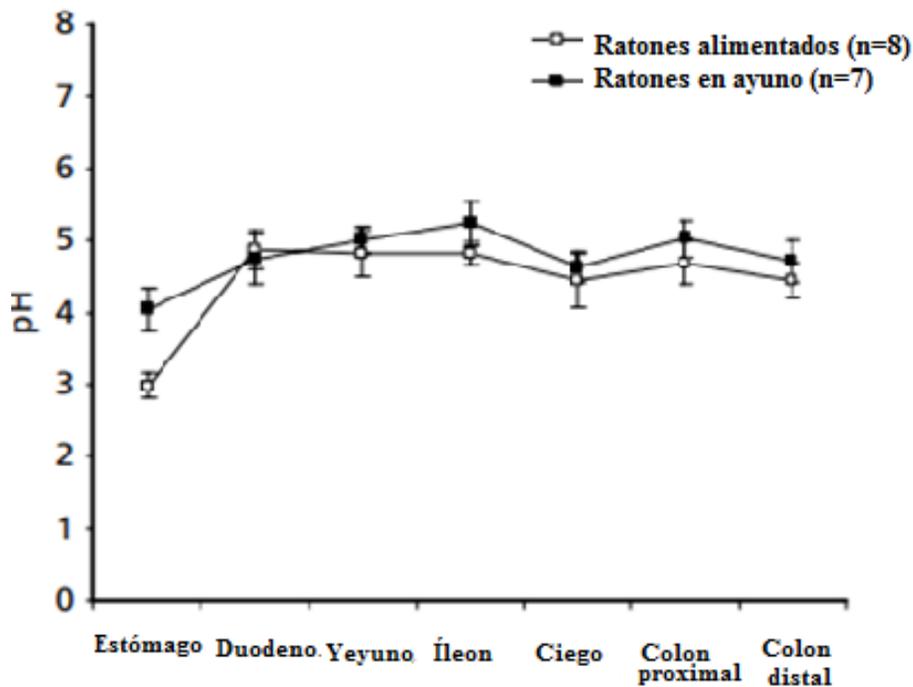


Figura 11. Valores de pH a lo largo del TGI de ratones. Modificado de McConnell *et al.*, 2008.

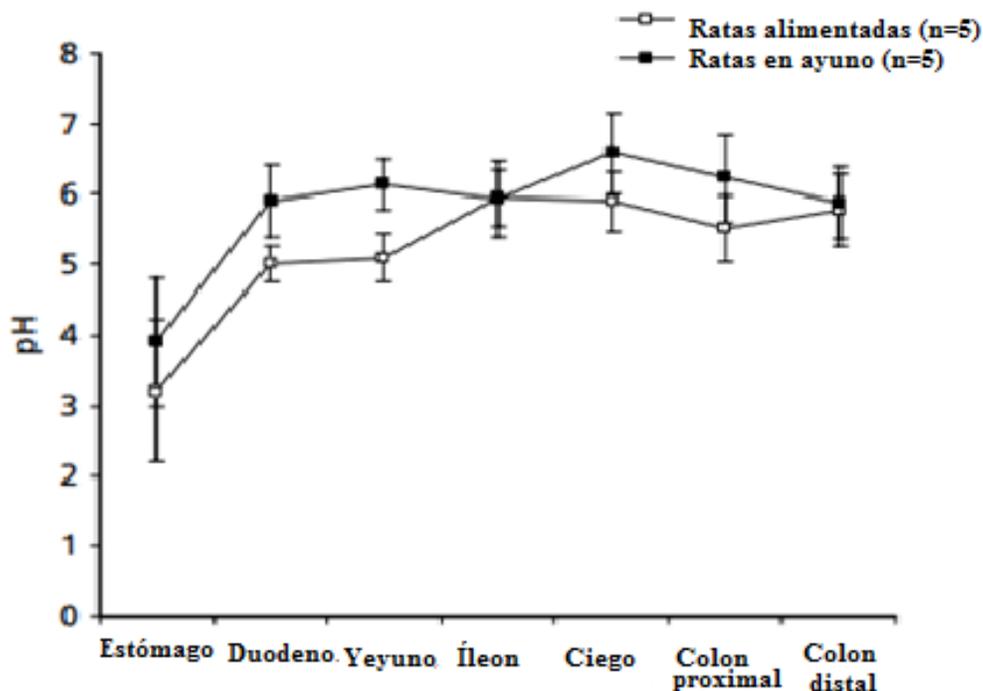


Figura 12. Valores de pH a lo largo del TGI de ratas. Modificado de McConnell et al., 2008.

CAPÍTULO 4. Influencia de la solubilidad en la vía de administración de fármacos de uso veterinario

Para la selección de la vía de administración adecuada, un factor clave a definir es si el agente que será administrado para tener un efecto local o sistémico, en este sentido, existen dos tipos de administración.

La primera de ellas es la administración enteral, es decir, a través del tracto digestivo y la segunda es la administración parenteral, lo cual incluye a todas las vías que se administren fuera del tracto digestivo. Esta última es la que produce la biodisponibilidad más alta de las sustancias administradas, ya que evita el efecto del primer paso, lo cual suele ocurrir en tratamientos con administración oral (CDER/FDA, 2015).

Una sustancia, puede administrarse en la boca (oralmente), directamente al estómago (sonda gástrica), a vasos sanguíneo (intravenosa), sobre, en, debajo, o a través de la piel o de un músculo (epicutánea, intradérmica, subcutánea, transdérmica e intramuscular, respectivamente); colocado sobre o en el ojo (transcorneal o intraocular, respectivamente), en el cerebro (intracerebral), en los espacios circundantes a la duramadre o en la médula espinal distal (epidural e intratecal, respectivamente); administrado directamente en la cavidad peritoneal (intaperitoneal), en cavidad de la médula (intraósea), en la mucosa nasal a través de spray (intranasal) o directamente a los pulmones mediante una instalación traqueal (intratraqueal), entre muchas otras rutas más (**Ojewole et al., 2008**).

En especies de laboratorio, muchas de estas vías de administración requieren de restricciones específicas, sedación o anestesia general, por lo que se busca que al seleccionar una vía de administración sea lo menos invasiva o aversiva a la especie animal en cuestión (**Turner et al., 2011**).

4.1 Efecto Sistémico

4.1.1 Administración Enteral

4.1.1.1 Vía Oral

El medicamento se puede proporcionar directamente en la cavidad bucal, puede ser administrado en la dieta del animal o en conjunto con otros comestibles. De acuerdo a **Turner et al., 2011** “La ruta oral es económica, resulta ser muy conveniente y relativamente segura y algunos animales pueden ser entrenados para cooperar voluntariamente... para lo cual es necesario asegurar que las tabletas o cápsulas

se pongan en la parte trasera de la boca para que el animal las trague y se pueda asegurar una administración de la dosis total”.

Se ha demostrado que, la administración de volúmenes grandes por sonda orogástrica o nasogástrica, causa mucho estrés debido a la distensión gástrica en especies que no son capaces de vomitar, como los roedores, entonces, la restricción a aplicar en este caso es administrar el menor volumen posible, recomendando 5 mL/kg (**Brown et al.,2000**).

Una de las desventajas o limitaciones de esta administración, es el efecto del primer paso, lo cual inactivaría gran parte de la dosis por el metabolismo y reduce la eficacia e interfiere con la absorción del principio activo. También se debe pensar si el fármaco es susceptible a degradación por el ácido estomacal inestable ante las enzimas pancreáticas. Otra desventaja es que no puede utilizarse en animales en estado inconsciente, con diarrea aguda o emesis (**Becker, 2006**).

4.1.1.2 Vía Sublingual

El paciente humano, conscientemente puede mantener una formulación oral en la boca hasta que se disuelva, lo cual no puede ser efectuado en la cavidad oral de un animal. Estudios reportan que por las desventajas de esta vía de administración, la biodisponibilidad de buprenorfina en perros fue 38-47% (**Abbo et al., 2008**) y en gatos fue completa debido a su valor de pH de 9 en saliva (**Robertson et al., 2005**).

4.1.2 Administración Parenteral

4.1.2.1 Vía intravenosa

La vía intravenosa (IV) resulta ser una de las más eficientes, ya que no necesita del proceso absorción del principio activo. Con este método, los medicamentos son administrados mediante un bolus o por infusión, directamente a venas. Es necesario mencionar que la vía IV suele ocuparse en animales inconscientes y algunos de ellos en estado crítico, para ello, es necesario ocupar bombas electrónicas de infusión precisas, que tienen una alarma para poder notificar cuando existen interrupciones en el flujo de sustancias y también existen equipos de infusión de micro goteo, los cuales aseguran una liberación precisa de sustancias. También se utiliza esta vía para la administración de nutrientes parenterales (**Abe et al., 2009**).

Las técnicas actuales, requieren de una preparación aséptica de la piel para inyección venosa percutánea o exposición quirúrgica de vasos sanguíneos para la administración de la sustancia. En la **Figura 13** se muestran algunas de las distintas vías de administración parenteral (**Turner et al., 2011**).

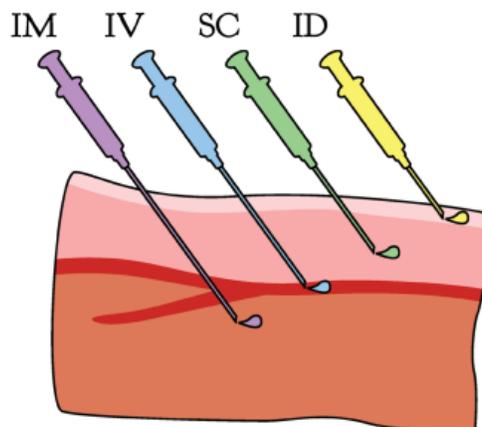


Figura 13. Se ilustran distintas vías de administración parenterales. Intramuscular (IM), Subcutánea (SC), Intravenosa (iv) e Intradérmicas (ID). Tomada de Turner et al., 2011.

Esta vía es muy utilizada en investigación y diseño de experimentos con animales, por lo cual, requiere de una técnica refinada por parte de quienes manipulan a los animales de experimentación, lo cual incluye el uso de las más pequeñas agujas y catéteres para disminuir el trauma de la inyección, el uso de agujas de mariposas para evitar trauma peri-vascular, implementar cremas y ungüentos con anestésicos tópicos para disminuir el dolor tras la inyección y el uso de aditamentos que permitan disminuir la restricción del movimiento implicado en la técnica de atado, entre otras (Tan., *et al* 2003; Thomsen *et al.*, 2007).

En la **Tabla 9** Se presentan los volúmenes recomendados y rutas de administración para algunas especies animales (Turner *et al.*, 2011).

Tabla 9. Volúmenes recomendados y vías de administración para distintas especies animales

Vía	Especies	Rango de volumen optimo	Sitio (s)
Sonda	Todas	5 mL/kg (hasta 20 mL/kg)	Mamíferos: intragástrica
	Pez	2g/kg	Peces: Esofágica
Intravenosa	Todas	Más de 5 mL/kg (bolus)	Roedores: cola o vena safena. Conejos: oreja o vena cefálica. Especies grandes: Yugular, venas cefálica, femoral o safena

		2mL/kg/h (hasta 4mL/kg/h en infusión continua)	Peces: Arteria o vena caudal
Subcutánea	Mamíferos	Máximo 5 mL/kg por sitio	Interescapular, cuello, hombro, en el costado
	Peces	1 mL/kg	Línea lateral, aleta anterior y dorsal
Intradérmico	Todas	0.05-0.1 mL por sitio	Piel
Intramuscular	Todas	Máximo 0.05 mL/kg por sitio.	Mamíferos: tríceps, cuádriceps, músculos dorsales, lumbares, semimembranosos y semitendinosos. Peces: base de la aleta dorsal o en medio de la aleta dorsal y línea media.
Epidural	Mamíferos	0.15-0.2 mL/kg (6 mL como volumen total en	-

		pacientes con un peso mayor a 35 kg).	
Intraperitoneal	Todas	Máximo 10 mL/kg.	-
Intranasal	Roedores	Mínimo de 35 μ L por animal.	-
	Perros, gatos, primates no humanos, conejos.	200 a 500 μ L por animal.	

4.1.2.2 Vía intramuscular y subcutánea

Acerca de la vía Intramuscular (IM), Turner *et al.*, 2011 menciona que “es una vía parenteral utilizada en especies grandes y con frecuencia se evita en pequeñas especies, debido a la masa muscular reducida de éstas. Generalmente, esta vía es rápida y uniformemente absorbida por el rico suministro vascular”. En la **Tabla 9** se puede observar que se administran volúmenes más pequeños en vía intramuscular comparada con la vía subcutánea.

Una de las grandes desventajas de esta ruta, es el riesgo que corre la especie si el manipulador no tiene la pericia y experiencia en la técnica, ya que puede resultar en

paresia, parálisis, necrosis muscular y desprendimiento muscular localizado. Inyecciones repetidas pueden resultar en inflamación y necrosis muscular (**Diehl et al., 2001**).

Respecto a la vía subcutánea, una de las grandes ventajas es que es un método rápido, no costoso y simple. En 2007 Kagan *et al.*, declararon que es posible que la absorción se dé por la recepción de macromoléculas en el subcutis, dada por pequeños capilares que subyacen a la piel con absorción linfática mínima.

En 2001 Morton *et al.*, hablaron de las sustancias que pueden ser administradas por esta vía “pueden ser acuosas o fluidos aceitosos, depósitos de materiales oleosos para una absorción lenta, pellets sólidos, a través de mini bombas osmóticas o mini bombas implantables”.

También comentan que “resulta ser una excelente vía para administrar volúmenes más grandes en especies pequeñas o deshidratadas, evitando problemas comunes en la vía Intravenosa, como son sobrecarga de líquido y edema pulmonar, porque el exceso del fluido subcutáneo es excretado rápidamente a los riñones. Se deben tomar ciertas consideraciones como la correcta selección de tamaño de aguja, condiciones asépticas, la piel supra yacente al sitio de inyección debe estar relajada para evitar malestar y la aguja debe ser insertada en un ángulo llano (180°) para minimizar el riesgo de daño a tejidos infra yacentes. Sustancias contaminadas inyectadas subcutáneamente resultará en formación de abscesos” (**Morton, et al., 2001**).

4.1.2.3 Vía epidural e intratecal

De buscarse un efecto rápido en tejidos cerebroespinales o meninges, las vías epidural e intratecal serán las adecuadas para cumplir dicho propósito (**Turner et al., 2011**).

En 2008, Valverde A., menciona que estas técnicas evitan los problemas de absorción que se presentan en la barrera hematoencefálica y usualmente se ocupan para inducir anestesia espinal o para introducir un medio de contraste para observar las vértebras de la médula espinal en especies grandes. Por lo anterior, se requiere que las especies animales estén profundamente sedadas y administrar anestesia local en el sitio de inserción o puede optarse por anestesia general antes del procedimiento.

Una preparación aséptica de la piel y el uso de una técnica estéril son pasos críticos para el éxito de la misma y la recuperación del animal. Factores como la grasa epidural, lipofiliidad de la sustancia administrada y pérdidas de la sustancia al inyectar entre espacios intervertebrales, limitarán o modificarán la difusión del fármaco (**Kapural et al., 2003**).

Estas técnicas deben ser llevadas a cabo únicamente por personal calificado, experto en la técnica y debe poseer un conocimiento profundo acerca de anestesia, analgesia, sedación y anatomía de la médula espinal y columna vertebral en la especie animal a tratar (**Troncy et al., 2002**).

En la **Figura 14** se muestran las zonas de administración de la vía epidural e intratecal (**Turner et al., 2011**).

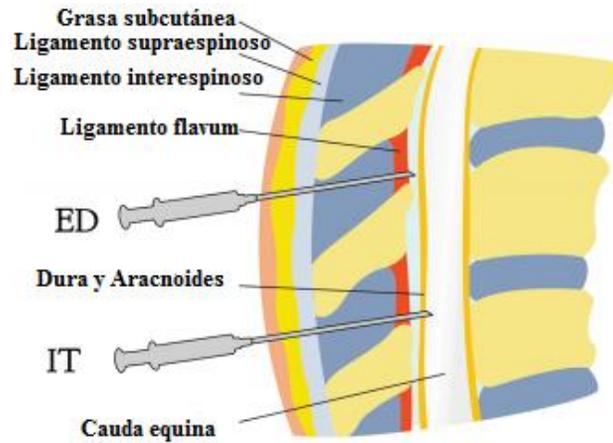


Figura 14. Se ilustran las vías Epidural (ED) e Intratecal (IT) en la espina distal lumbar. Modificada de Turner et al., 2011.

4.1.2.4 Vía intraperitoneal

La administración de sustancias en la cavidad peritoneal suele ser utilizada en roedores de laboratorio más que en grandes especies mamíferas. Al ser utilizada en pequeñas especies, en donde una vía intravenosa representa todo un reto, representa una alternativa excelente para poder administrar volúmenes de una sustancia de manera más segura (véase la **Tabla 9**) (Turner *et al.*, 2011).

De acuerdo a Lukas G. y colaboradores, a pesar de ser una vía clasificada como parenteral, la vía intraperitoneal se comporta más como aquellas vías administradas oralmente, ya que presenta una ruta primaria de absorción mediada por venas mesentéricas, las cuales drenan en el portal venoso y pasan por el hígado, por ello las sustancias administradas intraperitonealmente, sufren primero un metabolismo hepático antes de alcanzar la circulación sistémica.

Típicamente, la vía intraperitoneal se aplica a mamíferos en estado consciente, utilizando una técnica firme de atado, en donde el cuerpo y cabeza deben estar inclinados, con el objetivo de mover las vísceras de la superficie ventral del

abdomen (véase **Figura 15**). En roedores, se administra en el cuadrante inferior derecho, para evitar inyectar la vejiga o el ciego (**Coria-Avila et al., 2007; Boudreau et al., 2010**).

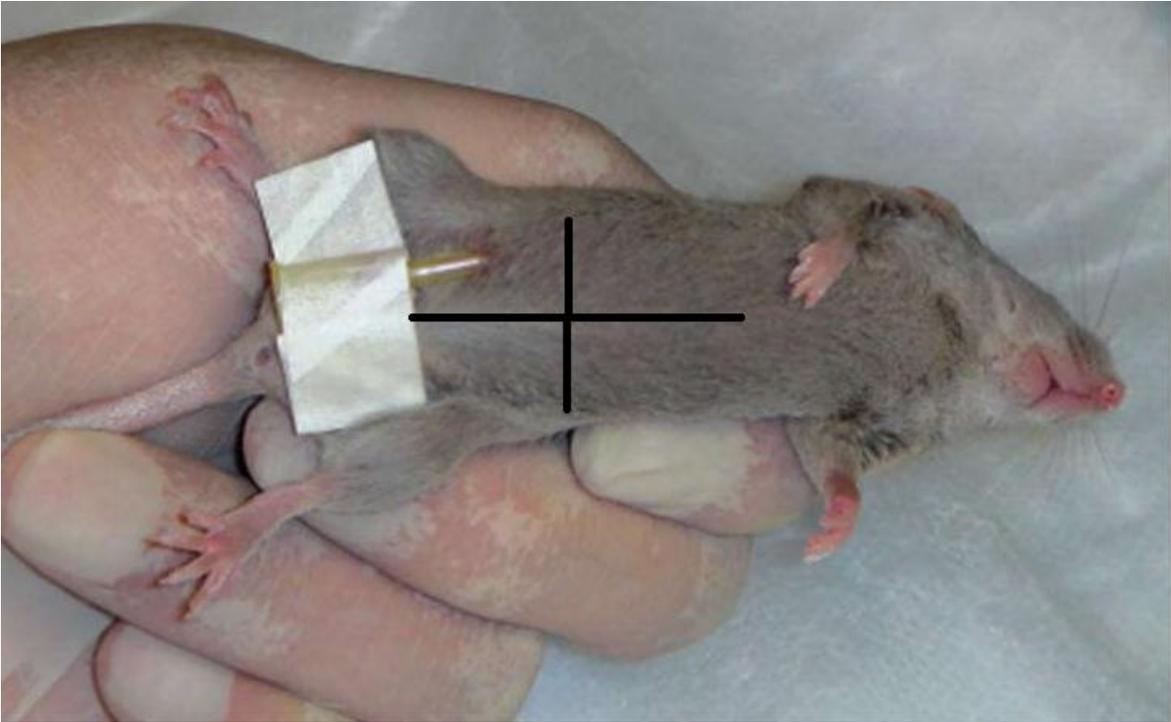


Figura 15. Se ilustran los cuatro cuadrantes en el área abdominal, en donde la administración suele hacerse en los cuadrantes inferiores derecho o izquierdo. Modificada de Boudreau et al., 2010.

Se reporta que el émbolo de la jeringa se debe sacar antes de inyectar, para observar si no hay rastros de orina, sangre o alimento digerido, en caso de que alguno de estos fluidos se observen se deberá retirar la aguja, ser reemplazada, y reposicionar antes de inyectar la sustancia (previa prueba de observación de fluidos). Otro problema que se presenta con esta vía, es puncionar la piel en lugar de la cavidad intraperitoneal, lo cual sería una administración subcutánea (**Black MC, 2000**).

Los materiales y sustancias utilizados deberán ser estériles, isotónicos y no irritantes, de no cumplir con ello, se puede inducir a íleo doloroso o peritonitis (**Gotloib et al., 2005**).

4.1.2.5 Vía transdérmica

Acerca de la vía transdérmica Ngo et al., 2010 mencionan “El grado de absorción de las sustancias a través de la piel y que, a su vez, van a circulación sistémica, depende del área sobre la cual se aplica la sustancia; la concentración de la sustancia administrada; la solubilidad lipídica del vehículo; el tiempo en el que la sustancia permanece en contacto con la superficie de la piel; el grado de la hidratación de la piel (en piel hidratada se absorben sustancias más rápido que en piel seca)”.

Cuando se administran sustancias por esta vía a mamíferos, el pelo es cortado, con la finalidad de que el contacto entre el material y la piel no tenga interferencias. La piel debe estar limpia antes de la aplicación (**Otberg et al., 2008**).

Usualmente, la vía transdérmica o percutánea se lleva a cabo mediante parches, para que se dé una absorción a través de la barrera epitelial hacia el sistema circulatorio, produciendo niveles constantes de la sustancia en la sangre. Otra ventaja es que puede ser removido de la piel en el momento en el que el efecto necesite ser interrumpido. Una desventaja es que debe aplicarse con tiempo de anticipación al momento en el que se quiere un efecto deseado, debido al proceso de absorción de la sustancia por las capas de la piel, otra desventaja es que se debe de tener a los animales bajo una supervisión continua, para evitar contaminación

del parche o toxicidad en el animal por ingesta inadvertida (**Murphy et al., 2000; Guy RH, 2010; Ball et al., 2008**).

El estrato córneo (EC) es la capa más externa de piel, la cual cumple con la función de barrera. Por lo tanto, la diferencia en la permeabilidad de una especie a otra está dada por el grosor de las capas de la piel.

Muchos investigadores han reportado las diferencias de espesor de las capas de la piel, como se observa en la **Tabla 10 (Jung et al., 2014)**.

Tabla 10. Comparación del grosor de la piel entre especies y localización anatómica.

Espece	EC (µm)	Epidermis (µm)	Piel (mm)
Antebrazo de humano	17	36	1.5
Humano	16.8	46.9	2.97
Lomo de cerdo	26	66	3.4
Oreja de cerdo	10	50	1.3
Cobaya	18.6 ± 1.2	20.8 ± 1.4	1.15 ± 0.07
Lomo de ratón	5	13	0.8
Ratón sin pelo	8.8 ± 1.0	18.0 ± 1.5	0.41 ± 0.02
Rata	18	32	2.09
Rata sin pelo	15.4 ± 3.3	28.3 ± 5.3	0.86 ± 0.06

Cabe recalcar que el grosor del EC es un factor importante para la determinación del flujo de permeación en piel y el coeficiente de permeabilidad, y también se utiliza

para estimar la concentración en piel y sangre del fármaco administrado (**Nakamura et al., 2012**).

4.2 Efecto Local

4.2.1 Vía Intranasal

En 2002, Illum L. demostró que los niveles en sangre de un fármaco administrado por vía Intranasal, se acercan bastante a aquellos en la vía IV, debido a que la mucosa nasal es rica en vasos sanguíneos, lo cual favorece una absorción rápida de la sustancia. Añadió que, pequeñas moléculas lipofílicas administradas por vía Intranasal son absorbidas más rápido que moléculas de alto peso molecular o con carácter altamente polar.

En la vía intranasal suelen utilizarse spray para ser absorbidos por las membranas mucosas de la nariz o en los pulmones. En la **Tabla 9** se observan que los volúmenes recomendados para la vía intranasal son más pequeños comparados a las demás rutas, con motivo de minimizar riesgo de sofocación o la muerte. También es importante mencionar que, esta vía no debe utilizarse en animales con rinitis o conjuntivitis. Las sustancias utilizadas deberán de ser no irritantes para minimizar estornudos, epistaxis o una rinitis post tratamiento (**Turner et al., 2011**).

Algunas ventajas de la vía intranasal son: puede utilizarse también para efectos sistémicos, rápida absorción y no se presenta efecto del primer paso, mientras que algunas desventajas son: la dosis puede ser no exacta en caso de presentarse estornudos, el fármaco debe estar en spray lo cual limita el número de sustancias que se pueden administrar por dicha vía, baja biodisponibilidad del fármaco y

requiere de previa sedación o anestesia, entre otras (**Illum L., 2002; Turner et al., 2011; Hall et al., 2001**).

Por otro lado, se reporta que la mejora de biodisponibilidad del fármaco es posible gracias a tres factores (**Sutton et al., 2012**):

1. La alta concentración de fármaco.
2. Habilidad del fármaco para actuar como un potenciador de permeabilidad.
3. Ausencia de diluciones significativas por fluidos corporales.

4.2.2 Vía Intratraqueal e inhalaciones

La vía intratraqueal es aquella en donde un fármaco o sustancia es liberado a los pulmones mediante una instalación traqueal. La liberación dentro del pulmón (Intrapulmonar) se logra a través de la vía intratraqueal o de inhalaciones. Para ello, la instalación intratraqueal incluye tener personal calificado para poder intubar al animal o hacer un corte quirúrgico para exponer la tráquea e inyectar directamente (**Turner et al., 2011**).

Por otra parte, las inhalaciones suelen ser vapores, gases volátiles o aerosoles de partículas nebulizadas en solución. Para este procedimiento, el animal está consciente y se puede hacer uso de una máscara que cubra su nariz. Las partículas presentes en estos gases, si son grandes, se depositan por sedimentación gravitacional, mientras que pequeñas partículas llegan a espacios alveolares por difusión. Partículas menores a 3 μm de diámetro penetran el alveolo y aquellos que tienen de 3 a 5 μm de diámetro se distribuyen de manera uniforme a lo largo del pulmón (**Phalen et al., 2009; Schmid et al., 2009**).

Las sustancias que se utilicen en ambos métodos deberán de ser no irritantes para reducir la probabilidad de que se presente edema faríngeo, espasmo bronquial, anafilaxis, entre otros (Turner *et al.*, 2011).

4.2.3 Vía ocular

Existen tres formas principales para liberación ocular en animales, para elegir la más adecuada se deberá tomar en cuenta el área a ser medicada. La primera de ellas es tópica y se utiliza para la conjuntiva, cornea, cámara anterior e iris. La segunda es local (subconjuntival, intravitreal, retrobulbar e intracameral), los párpados pueden ser tratados de esta forma aunque suelen tratarse con terapia sistémica, esta última suele aplicarse para el segmento posterior ya que los fármacos tópicos no penetran este segmento.

También los tejidos retrobulbares y orbitales son tratados sistémicamente (véase **Figura 16 y 17**) (Whelan, 2014).

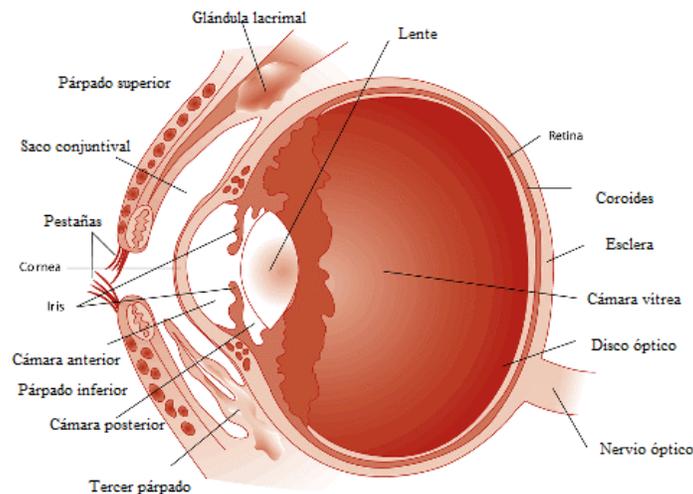


Figura 16. Se ilustran las partes del ojo de un perro. Modificada de Gelatt, 2018.

Estudios descubrieron que, en monos y conejos, una gota equivalente a 50 μL (300 μg de fluoroquinolona) es igual de efectivo que muchas gotas administradas, ya que el exceso de la solución se deposita en el saco conjuntival y es desperdiciado (Proksch *et al.*, 2009).

De acuerdo a los requerimientos específicos de las soluciones oftálmicas descritos en el Código Federal de Regulación (CFR) de la FDA, la liberación de fármaco en el ojo, ya sea de animales o humanos, requiere que el fármaco sea estéril y esté en solución, sea isotónico y de pH neutro, de tal modo que no sea irritante y de viscosidad adecuada para retención en el ojo.

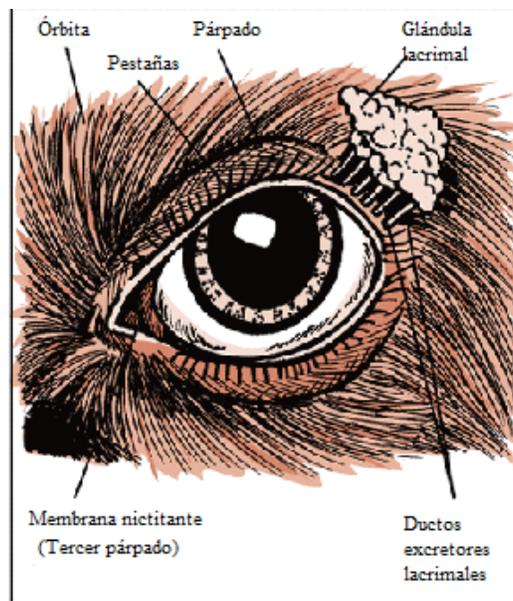


Figura 17. Se ilustran las partes del ojo de un perro. Modificada de Gelatt, 2018.

CAPÍTULO 5. Estrategias para la mejora de solubilidad en fármacos veterinarios

Entre las técnicas utilizadas para la mejora de la solubilidad de fármacos de nula o baja solubilidad, se encuentran: reducción de tamaño de partícula, formación de sales, dispersión sólida, uso de surfactante y complejamiento (**Williams *et al.*, 2013**).

Sin embargo, la selección del método de mejora de solubilidad, depende de las propiedades del fármaco, sitio de absorción y características de las formas de dosificación requeridas (**Savjani *et al.*, 2012**).

El conocer las técnicas de mejora de solubilidad, le permiten al Químico Farmacéutico Biólogo implementar mejoras en el diseño de alguna formulación, que contenga un fármaco o principio activo con poca o nula solubilidad.

También, de no existir aún una técnica específica para cierta molécula (molécula nueva), el conocer las técnicas más recientes le orientarán para diseñar una solución a la problemática de solubilidad del principio activo, incluso por características propias de este, se puede hacer una comparación de grupos funcionales de fármacos para los cuales ya existe una técnica y si el principio activo insoluble presenta estos grupos funcionales, una técnica parecida podrá utilizarse.

En 2017, Zabielska-Koczywaś *et al.*, describieron que los compuestos Cisplatino hialuronano, nano cristales de cisplatino y paclitaxel son los nano fármacos más prometedores para el tratamiento de distintos tipos de cáncer en perros, como son melanoma, sarcoma oral y adenocarcinoma (cáncer en la glándula anal).

Los liposomas son pequeñas vesículas artificiales esféricas (desde 30 nm hasta algunos micrómetros), los cuales son sintetizados a partir de colesterol y fosfolípidos, lo cual les confiere biocompatibilidad con el organismo. Los liposomas han demostrado un aumento en la liberación del principio activo hacia el tumor (**Akbarzadeh et al., 2013; Bobo et al., 2016**). La inclusión de Polietilenglicol (PEG) a los liposomas, mejora la estabilidad, tiempo de circulación al aumentar la solubilidad en agua y mejora el ataque pasivo a los tumores (**Rafiyath, et al., 2012**).

Un ejemplo de ello, es la Doxorubicina liposomal o Doxil/Caelyx, que ha demostrado una circulación prolongada en sangre, y que, a comparación del Doxil sin liposomas, éste no causa cardiotoxicidad, por lo que se puede recetar a perros con sarcoma de Kaposi o cáncer ovárico y que aparte presenten desórdenes cardíacos (**Teske, et al., 2011**).

Por otro lado, existen dos fármacos que están siendo investigados por la American Veterinary Medical Association (AVMA), el cisplatino y paclitaxel. Se han llevado a cabo estudios *in vitro* de nanocristales de paclitaxel en perros con cáncer de próstata y se ha demostrado la capacidad del paclitaxel para reducir la viabilidad y supervivencia de células cancerígenas (**Axiak-Bechtel, et al., 2013**).

Por otra parte, en 2018, Real *et al.*, realizó estudios con el principio activo Triclabendazol (TCBZ). En la **Tabla 11** se resumen los resultados de solubilidad obtenidos en este estudio. Los autores elaboraron un complejo con el TCBZ y 2-hidroxiopropil- β (HP- β -CD) y TCBZ con metil- β -ciclodextrina (Me- β -CD), reportando como resultado principal que a pH 1 la solubilidad del TCBZ acomplejado con Me- β -CD aumentó dramáticamente la solubilidad del principio activo y a pH 3 y pH 7 la solubilidad incrementaba a medida que la concentración de Me- β -CD estaba en el

intervalo de 0-60 mM y el complejamiento con β -CD tiene limitada solubilidad, incluso a pH 1 (véase **Figura 18**). Esto ocurre, por la influencia del pH en la solubilidad, como se ha mostrado en otros estudios, el TCBZ es un derivado lipofílico de los Benzoimidazoles y puede ser ionizable a valores bajos de pH y dicha ionización, puede favorecer la formación de complejos, y a su vez, la solubilidad (**Daniel-Mwambete et al., 2004**).

La razón por la cual el TCBZ es más soluble al acomplejarlo con Me- β -CD, es por el carácter altamente lipofílico de este último, lo cual proporciona un mejor ambiente para la incorporación de las moléculas igualmente lipofílicas del TCBZ (**Loftsson et al., 2004**).

También es necesario mencionar que, las ciclodextrinas poseen una estructura que les permite incorporar moléculas ya que tiene una superficie con carácter hidrofílico, lo cual favorece la solubilidad, y también tienen una cavidad interna de carácter hidrofóbico, fomentando la incorporación de moléculas con carácter lipofílico (**Lahiani-Skiba, 2007**).

Algunos autores mencionan que, probablemente, a un pH más bajo de 1, la protonación del anillo del imidazol presente en la estructura del TCBZ, podría incrementar el carácter hidrofílico del principio activo, afectando la formación de complejos con una segunda molécula (**Eid et al., 2011**).

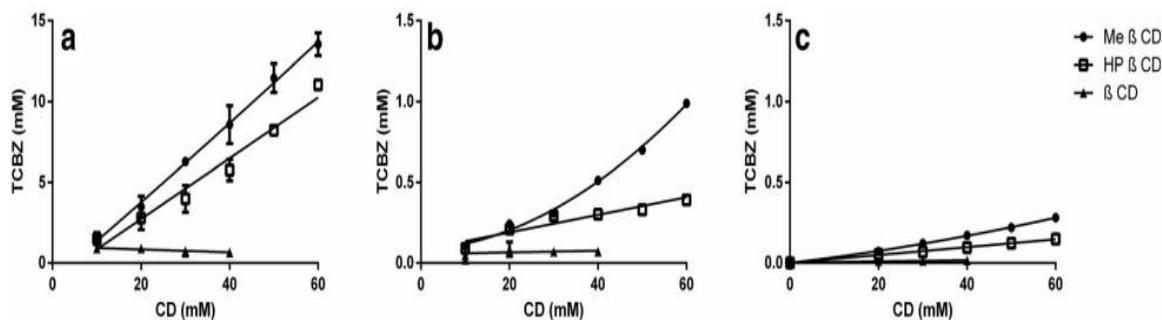


Figura 18. Diagrama de fases de solubilidad del TCBZ con concentraciones crecientes de β -CD, HP- β -CD y HP- β -CD a pH 1 (a), pH 3 (b) y pH 7 (c) Modificado de Real et al., 2018.

Tabla 11. Solubilidad en agua de complejos TCBZ: HP- β -CD y TCBZ: Me- β -CD.

Sistema	Fracción Molar	Solubilidad (mg/mL)
HP- β -CD	1:1	0.0879
	1:2	0.1274
Me- β -CD	1:1	0.1186
	1:2	0.1694
TCBZ	-	0.0003

Adicionalmente, en 2019, Mesallati et al., demostraron que Sales de amorfos poliméricos (APS) de Enrofloxacinó formadas con grados LG y MG de Hidroxipropil Metilcelulosa Acetato Succinato (HPMCAS), lograron una mejora en la solubilidad, con concentraciones de 12.2 mg/mL (ENRO/HPMCAS-LG) y 5.6 mg/mL (ENRO/HPMCAS-MG), y el ENRO en su estado cristalino alcanzó una solubilidad máxima de 0.7 mg/mL (Figura 19).

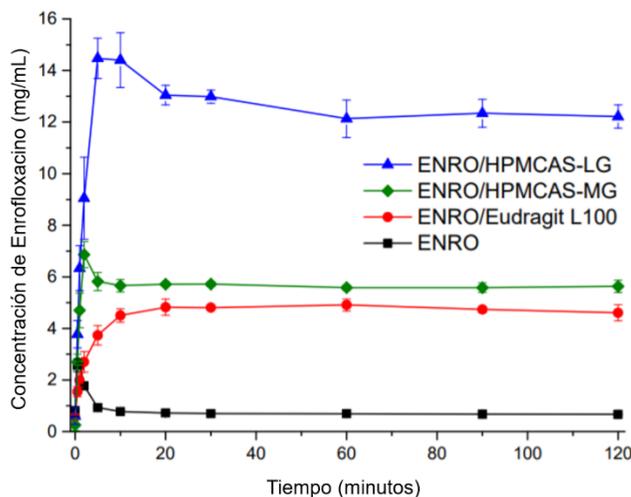


Figura 19. Solubilidad de ENRO. Se observa que el ENRO puro, tiene un pico de concentración aproximadamente entre los 30-60 s y adopta una concentración constante de 0.7 mg/mL. En el caso de la formación de sales con HPMCAS-LG y HPMCAS-MG, se observan picos máximos a los 5 y 2 minutos respectivamente, con concentraciones finales de 12.2 mg/mL y 5.6 mg/mL. En contraste con esto, ENRO/Eudragit L100 alcanzó una meseta después de 20 minutos. Esta muestra resultó ser menos soluble que aquellas con HPMCAS, alcanzando una solubilidad máxima de 4.6 mg/mL después de 2 horas. Modificado de Mesallati et al., 2019.

Los polímeros utilizados en el estudio tienen carácter ácido. Al ser transferido el protón del ácido carboxílico de los polímeros a la amina terciaria del ENRO, se forma un enlace iónico entre los dos componentes, mientras que en el ácido carboxílico del ENRO permanece en estado no ionizado (Mesallati et al., 2019). El fabricante reporta que el HPMCAS-LG es soluble en amortiguador McIlvaine a un pH ≥ 5.5 y el HPMCAS-MG es soluble a pH ≥ 6.0 (Friesen et al., 2008).

En la **Tabla 12** se muestran ejemplos recientes de las técnicas innovadoras utilizadas en la industria farmacéutica veterinaria para la mejora de solubilidad de fármacos insolubles en agua.

Tabla 12. Estrategias de mejora de solubilidad para medicamentos veterinarios.

Fármaco de uso veterinario	Técnica para mejora de solubilidad	Acción terapéutica
Ivermectina	Surface Solid Dispersion (SSD) (Singh et al., 2013).	Tableta para perros contra los efectos parásitos de <i>Ascaris</i> (Singh et al., 2013).
	Solid Dispersion of ivermectin (IVM-SD) en una matriz lipídica (Lu et al., 2017).	Liberación subcutánea en contra de ectoparásitos como nemátodos gastrointestinales, piojos y ácaros en ganadería (Camargo et al., 2010).
Lufenuron	Tecnología de microesferas. (Medlicott et al., 2004).	Suspensión estéril inyectable, de liberación prolongada (6 meses) para el control de pulgas en gatos. (Medlicott et al., 2004).
Fármacos oncológicos de uso veterinario	Liposomas y nano partículas (Cisplatino hialuronano, nanocristales de cisplatino y paclitaxel) (Zabielska-Koczywąg et al., 2017).	Agentes anticancerígenos por su habilidad de ataque a células cancerosas (Zabielska-Koczywąg et al., 2017).
Acetilpuerarina	Nanopartículas de poli (lactido-co-glicolido) (PLGA) (Sun et al., 2016).	Muestra efectos protectores para el cerebro en animales (Sun et al., 2016).

Fármaco de uso veterinario	Técnica para mejora de solubilidad	Acción terapéutica
Enrofloxacino	Sales de amorfos poliméricos (APS) (Mesallati et al., 2019) .	Quinolona de segunda generación que posee actividad antibacteriana (Marín et al., 2008) .
Triclabendazol	Nano cápsulas de quitosano. (Real et al., 2018) .	Emulsión para el tratamiento de fascioliasis provocado por tremátodos (Real et al., 2018) .
	β -ciclodextrinas (Real et al., 2018) .	Solución para el tratamiento de fascioliasis provocado por tremátodos (Real et al., 2018) .
Toltrazol/ Toltrazuril	Hidroxipropyl- β -ciclodextrinas (HP- β -CD) (Zhang et al., 2018) .	Fármaco utilizado para combatir y tratar la coccidiosis en conejos (Kim et al., 2010) .
Albendazol	Nanocristales (Pensel et al., 2018) .	Fármaco utilizado para el tratamiento de equinocosis alveolar provocada por helmintos (Kern et al., 2010) .

CAPÍTULO 6. Código de bioética

6.1 Uso de animales para demostrar eficacia en productos de uso humano:

El Reglamento Animal de la FDA (Animal Rule).

Históricamente, en la década de los noventa, la preocupación mundial por bioterrorismo aumentó de manera significativa, lo cual exigía de la industria farmacéutica, el diseño de fármacos para la prevención y tratamiento de enfermedades como: ántrax, botulismo y viruela (**Noah et al., 2002**).

Clínicamente, las consecuencias de la exposición de humanos a microorganismos, para la evaluación de la efectividad de fármacos o vacunas contra el padecimiento, no resultaba viable ni ético. Es por esta razón, que en 2002 la FDA, con la intención de brindar protección a su milicia, presentó una iniciativa para demostrar eficacia de un fármaco, vacuna, entre otros, utilizando animales en lugar de experimentación clínica con humanos. Fue así, como a través del tiempo, se denominó a esta iniciativa como “Animal Rule” o “Animal Efficacy Rule” (**US Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, 2002**).

6.2 Experimentos de eficacia en humanos vs Experimentos de eficacia en animales.

La FDA establece que se podrán realizar experimentos en animales bajo circunstancias controladas de estudio, mediante las cuales se debe demostrar que un producto de uso humano, probado en animales expuestos a agentes mortales, puede ofrecer una protección similar en humanos. El objetivo principal de las pruebas en animales, será no solamente probar la eficacia del producto, también

deberá dar detalle de la patogénesis y mecanismo de acción (**US Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, 2002**). Lo anterior, supondría un estándar más alto de prueba de eficacia, al estar bajo experimentación con animales.

Para poder estar bajo mandato del Animal Rule, se deben conocer ciertos criterios estipulados por la FDA (**US Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, 2020**):

- Los animales podrán ser usados en experimentos que pongan en riesgo la vida humana o expongan a humanos a sustancias letales (de origen biológico, químico, radiológico o nuclear) que puedan invalidarlo permanentemente.
- Si un producto demuestra ser eficaz y seguro en animales, se deberá continuar con las pruebas clínicas de seguridad en humanos, para demostrar que la dosificación es correcta.
- Estar bajo la implementación del Animal Rule, no excluye del requisito de realizar pruebas y estudios preclínicos de toxicidad en animales, considerando que se deben hacer los análisis pertinentes que permitan recabar información en vida y en tejido *postmortem*. Lo anterior es la base para la correcta selección de dosis y ofrece información previa de potencial tóxico de una sustancia.
- El Animal Rule no podrá ser aplicado en productos que puedan ser aprobados dentro de los múltiples estándares regulatorios de la FDA.

Para poder comercializar un producto bajo los criterios del Animal Rule, se necesita cumplir con 4 requisitos fundamentales (**US Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, 2009**):

1. Se demuestra tener un entendimiento claro del mecanismo patofisiológico de la toxicidad del agente en humanos, mecanismo por el cual se deberán prevenir o reducir eventos adversos en humanos.
2. El efecto terapéutico se ha demostrado en más de una especie animal con respuesta predictiva en humanos.
3. El resultado del estudio en animales está claramente relacionado con el efecto deseado en humanos, aumentando la supervivencia, mejorando la prevención o representa una morbilidad significativa.
4. La información farmacocinética y farmacodinámica está disponible y se puede usar para seleccionar una dosis efectiva en humanos.

Queda claro, entonces, la justificación para poder utilizar animales en un contexto de pruebas de laboratorio.

La existencia de este tipo de directrices, sirven como una guía de procedimiento, pero sobre todo, una guía ética para ofrecer un trato digno en la implementación de animales en técnicas de laboratorio.

Como profesionales de la salud, hemos de encargarnos de tener el conocimiento suficiente para poder crear un punto de vista informado y actualizado.

Es necesario comprender, que la utilización de animales de laboratorio, ya sea en testeo de productos, pruebas de farmacocinética/farmacodinamia, toxicidad, etc., han permitido un gran avance en la medicina y en la ciencia en general.

Es una obligación moral de cada profesional de la salud que trabaja con animales de laboratorio, asegurarse de dominar las técnicas de manejo de animales, para poder ofrecer una manipulación siempre digna y respetuosa. Lo anterior implica un gran compromiso en el dominio de vías de administración, conociendo las características fisiológicas del animal que se encuentren involucradas, con el fin de evitar todo daño causado por un error humano. También incluye aplicar técnicas ejemplares de eutanasia, para evitar en todo momento, un sufrimiento innecesario en la especie animal, el cual, en ningún momento es ni debe ser el objetivo de un estudio científico. El profesional de la salud, deberá mostrar siempre respeto en el trato y cuidados hacia el animal de experimentación, no viendo a los animales de prueba como objetos, si no como un medio que nos permitirá tener grandes avances en la ciencia, percibiéndolos como seres no inferiores a nosotros los humanos.

Parte del progreso y evolución en la ciencia, han permitido el desarrollo de nuevas técnicas y sistemas para disminuir y en algunos casos, eliminar el uso de animales en los laboratorios.

Un ejemplo notable acerca de este progreso, son los constantes esfuerzos de Procter & Gamble por mantener su postura de eliminar el uso de animales. Hasta el momento han logrado (**Procter and Gamble, 2020**):

- Invertir más de 410 millones de dólares para el desarrollo de métodos de prueba alternativos que no incluyan animales.
- Implementar 50 alternativas sin animales, de las cuales, la mitad inventadas o co-inventadas por ellos.

- Inventar el primer método alternativo sin animales para las pruebas de alergia cutánea.
- Desarrollar modelos de piel sintéticos.

Los profesionales de la salud y todos aquellos involucrados en la experimentación con animales, deberán ser parte de ese progreso e implementar las medidas necesarias para que de manera paulatina se logre disminuir o incluso eliminar el número de animales de laboratorio. Mientras tanto, es nuestra responsabilidad que nuestra ética profesional contribuya a un trato digno, respetuoso y de excelencia al estar manejando modelos animales.

Conclusiones

Es posible aumentar la solubilidad de fármacos de uso veterinario y así contrarrestar la problemática que representa la insolubilidad de fármacos y medicamentos para uso en animales. Para ello es necesario que el Químico Farmacéutico Biólogo en investigación y desarrollo de nuevas moléculas, sepa y conozca las características fisiológicas de la especie animal en la cual se busca un efecto terapéutico, ya que éstas son únicas e impactan a la solubilidad y biodisponibilidad del fármaco de manera singular. También es de vital importancia saber la influencia de la vía de administración, que combinada con las características inherentes al principio activo podrá favorecer que se cumpla el propósito del medicamento.

El poseer conocimiento de los enfoques farmacéutico, fisicoquímico y regulatorio, le permitirán al QFB, diseñar nuevas moléculas bajo condiciones que afecten positivamente a la solubilidad o emplear estrategias ya existentes para mejorar la solubilidad de fármacos. Al estar al tanto de las directrices regulatorias, se podrá cumplir con los estatutos nacionales e internacionales, para ofrecer medicamentos de uso veterinarios seguros, eficaces y de calidad.

Bibliografía

1. Abe C, Tashiro T, Tanaka K, Ogihara R, Morita HJ. (2009). *A novel type of implantable and programmable infusion pump for small laboratory animals*. J Pharmacol Toxicol Methods 59:7–12.
2. Abbo L, Ko J, Maxwell L, Galinsky R, Moody D, Johnson B, Fang W (2008). *Pharmacokinetics of buprenorphine following intravenous and oral transmucosal administration in dogs*. Vet Ther 9:83–93
3. Abrahamsson B, Albery T, Eriksson A, Gustafsson I, Sjöberg M (2004) *Food effects on tablet disintegration*. Eur J Pharm Sci 22:165–172
4. Akbarzadeh, A.; Rezaei-Sadabady, R.; Davaran, S.; Joo, S.W.; Zarghami, N.; Hanifehpour, Y.; Samiei, M.; Kouhi, M.; Nejati-Koshki, K. (2013). *Liposome: Classification, preparation, and applications*. Nanoscale Res. Lett. 2013, 8, 102.
5. Apley, M., Crist, B., Gonzalez, M., Hunter, R., Martinez, M., Modric, S., Papich, M., Parr, A., Riviere, J. and Marques, M. (2017). *Solubility Criteria for Veterinary Drugs*. *Dissolution Technologies*, 24(1), pp.22-35.
6. Alsenz, J., Kansy, M. (2007). *High throughput solubility measurement in drug discovery and development*. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 59(7), 546–567.
7. Amidon GL, Lennernas H, Shah VP, and Crison JR,. (2014). *A Theoretical Basis for a Biopharmaceutic Drug Classification: The Correlation of In Vitro Drug Product Dissolution and In Vivo Bioavailability*. Pharm Res 12, 413-420, 1995-Backstory of BCS, The AAPS Journal, 16(5):894-898.
8. Atienza Boronat,, J. and Morais Ezquerro,, S. (2020). *Equilibrios de Solubilidad*. [ebook] ETSIAMN (Universitat Politècnica de València). Available

at:

<https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/83327/Morais%3BAtienza%20-%20Equilibrios%20de%20solubilidad.pdf?sequence=1> [Accessed 28 Feb. 2020].

9. Avdeef, A., Berger, C.M., Brownell, C. (2000). *pH-metric solubility.2: correlation between the acid-base titration and the saturation shake-flask solubility-pH methods*. *Pharmaceutical Research*, 17, 85–89.
10. Axiak-Bechtel, S.M.; Kumar, S.R.; Dank, K.K.; Clarkson, N.A.; Selting, K.A.; Bryan, J.N.; Rosol, T.J.; Espinosa, J.; Decedue, C.J. (2013). *Nanoparticulate paclitaxel demonstrates antitumor activity in PC3 and Ace-1 aggressive prostate cancer cell lines*. *Investig. New Drugs* 2013, 31, 1609–1615.
11. Ball AM, Smith KM. (2008). *Optimizing transdermal drug delivery*. *Am J Health Syst Pharm* 65:1337–1346.
12. Becker DE. (2006). *Drug therapy in dental practice: general principles. Part 1—pharmacokinetic considerations*. *Anesth Prog* 53:140–146.
13. Bhattachar, S.N., Deschenes, L.A. & Wesley, J.A. (2006). *Solubility: it's not just for physical chemists*. *Drug Discovery Today*, 11, 1012–1018.
14. Black MC. (2000). *Routes of administration for chemical agents*. In: Ostrander GK, editor. *The laboratory fish*. London (UK): Academic Press.
15. Bobo, D.; Robinson, K.J.; Islam, J.; Thurecht, K.J.; Corrie, S.R. (2016). *Nanoparticle-based medicines: A review of FDA-approved materials and clinical trials to date*. *Pharm. Res.* 2016, 33, 2373–2387.
16. Boudreau, E., Chen, G., Li, X., Buck, K., Hitzemann, R., & Hickman, D. (2010). *Intraperitoneal catheter placement for pharmacological imaging studies in conscious mice*. *Lab animal*, 39(1), 23–25.

17. Brown AP, Dinger N, Levine BS. (2000). *Stress produced by gavage administration in the rat*. Contemp Top Lab Anim Sci 39:17–21.
18. Camargo JA, Sapin A, Daloz D, (2010). *Ivermectin-loaded microparticles for parenteral sustained release: in vitro characterization and effect of some formulation variables*. J Microencapsul 27:609–17.
19. CDER / FDA. (2017). *Guidance for Industry: Waiver of In Vivo Bioavailability and Bioequivalence Studies for Immediate Release Dosage Forms Based on a Biopharmaceutical Classification System*. Center for Drug Evaluation and Research, Available at: <https://www.fda.gov/media/70963/download>
20. CDER / FDA. (2015). *Product Development Under the Animal Rule, which replaced the 2009 draft guidance for industry Animal Models – Essential Elements to Address Efficacy Under the Animal Rule.*, Available at: <https://www.fda.gov/media/88625/download>
21. Chang, R. (2013). *General Chemistry: The Essential Concepts*. 11th edn.
22. Clauss, Marcus; Hofmann, R R (2014). *The digestive system of ruminants, and peculiarities of (wild) cattle*. In: Melletti, M; Burton, J. *Ecology, evolution and behaviour of wild cattle: implications for conservation*. Cambridge: Cambridge University Press, 57-62. McGraw Hill, New York.
23. Coria-Avila GA, Gavrilá AM, Ménard S, Ismail N, Pfaus JG. (2007). *Cecum location in rats and the implications for intraperitoneal injections*. Lab Anim (NY) 36:25–30.
24. Daniel-Mwambete K, Torrado S, Cuesta-Bandera C, PonceGordo F, Torrado JJ. (2004). *The effect of solubilization on the oral bioavailability of three benzimidazole carbamate drugs*. Int J Pharm. 2004;272(1–2):29–36.

25. Delany, J.S. (2005). *Predicting aqueous solubility from structure*. Drug Discovery Today, 12, 289–295.
26. Diehl KH, Hull R, Morton D, Pfister R, Rabemampianina Y, Smith D, VidalJM, van de Vorstenbosch C; European Federation of Pharmaceutical Industries Association and European Centre for the Validation of Alternative Methods. (2001). *A good practice guide to the administration of substances and removal of blood, including routes and volumes*. J Appl Toxicol 21:15–23
27. Drug Development and Delivery. (2020). *FDA UPDATE - The FDA's New Drug Approval Process: Development & Premarket Applications*. [online] Available at:
<https://drug-dev.com/fda-update-the-fdas-new-drug-approval-process-development-premarket-applications/> [Accessed 28 Feb. 2020].
28. Dow Jones Newswires. (2003). *GlaxoSmithKline on Track to Launch 11 Drugs by Dec. 2003*. Dow Jones Newswires.
29. Eid E, Abdul A, Suliman FEA, Sukari MA, Rasedee A, Fatah SS. (2011). *Characterization of the inclusion complex of zerumbone with hydroxypropyl- β -cyclodextrin*. Carbohydr Polym. 2011;83(4):1707 – 14.
30. European Medicines Agency. (2020). *Committee for Medicinal Products Veterinary Use (CVMP) - European Medicines Agency*. [online] Available at:
<https://www.ema.europa.eu/en/committees/committee-medicinal-products-veterinary-use-cvmp> [Accessed 29 Feb. 2020].
31. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM), 2011.10ma ed. México.

32. Friesen, D., Shanker, R., Crew, M., Smithey, D., Curatolo, W., & Nightingale, J. (2008). *Hydroxypropyl Methylcellulose Acetate Succinate-Based Spray-Dried Dispersions: An Overview*. *Molecular Pharmaceutics*, 5(6), 1003-1019.
33. *From the Gut to the Brain: Journey and Pathophysiological Effects of the Food-Associated Trichothecene Mycotoxin Deoxynivalenol* - Scientific Figure on ResearchGate. Available from: https://www.researchgate.net/figure/Regional-pH-and-bacterial-densities-in-the-digestive-tract-pH-and-bacterial-density-per_fig8_236276704 [accessed 29 Feb, 2020].
34. Furka, Á. (2019). *Components of the Heats of Reactions*. SpringerBriefs in Molecular Science, pp.105-124.
35. Gelatt, K. (2018). *Eye Structure and Function in Dogs - Dog Owners - Veterinary Manual*. Veterinary Manual. Retrieved 10 August 2020, from <https://www.msdsvetmanual.com/dog-owners/eye-disorders-of-dogs/eye-structure-and-function-in-dogs>.
36. Gobierno de México. Productora Nacional de Biológicos Veterinarios. (2018). *Industria Veterinaria Indispensable Para Preservar La Salud Animal: SAGARPA*. [online] Available at: <https://www.gob.mx/pronabive/es/articulos/industria-veterinaria-indispensable-para-preservar-la-salud-animal-sagarpa-181596?idiom=es> [Accessed 6 April 2020].
37. Gobierno de México. Productora Nacional de Biológicos Veterinarios. (2019). *México Está Libre De Rabia Humana Transmitida Por Perros*. [online] Available at: <https://www.gob.mx/pronabive/prensa/mexico-esta-libre-de-rabia-humana-transmitida-por-perros> [Accessed 6 April 2020].

38. Gobierno de México. Productora Nacional de Biológicos Veterinarios. (2019). *Baja California Sur Libre De Brucelosis Delos Animales*. [online] Available at: <<https://www.gob.mx/pronabive/prensa/baja-california-sur-libre-de-brucelosis-de-los-animales-211218>> [Accessed 6 April 2020].
39. Good Laboratory Practice. (2008). *Geneva: World Health Organization*, pp.5-9.
40. Gotloib L, Wajsbrot V, Shostak A. 2005. *A short review of experimental peritoneal sclerosis: from mice to men*. *Int J Artif Organs* 28:97–104.
41. Grinari, J.M. & Bauman, D.E.; (2006). *Milk fat depression: concepts, mechanisms and management applications*. In: *Ruminant physiology: Digestion, metabolism and impact of nutrition on gene expression, immunology and stress*. Eds. Sejrsen, K., Hvelplund, T. and Nielsen, M.O., Wageningen Academic Publishers, Wageningen, Netherlands. pp.389-409.
42. Guy RH. (2010). *Transdermal drug delivery*. *Handb Exp Pharmacol* 197:399–410.
43. Hall LW, Clarke KW, Trim CM, editors. (2001). *Veterinary anaesthesia*, 10th ed. Philadelphia (PA): Saunders
44. Hatton, G., Yadav, V., Basit, A., & Merchant, H. (2015). *Animal Farm: Considerations in Animal Gastrointestinal Physiology and Relevance to Drug Delivery in Humans*. *Journal Of Pharmaceutical Sciences*, 104(9), 2747-2776.
45. Hendriksen, B.A., Felix, M.V. & Bolger, M.B. (2003). *The composite solubility versus pH profile and its role in intestinal absorption prediction*. *AAPS PharmSci*, 5, Article 4.
46. Hurst, M. O., & Fortenberry, R. C. (2015). *Factors affecting the solubility of ionic compounds*. *Computational and Theoretical Chemistry*, 1069, 132–137.

47. IUPAC gold book. <http://goldbook.iupac.org/S05740.html>.
48. Jung, E. and Maibach, H. (2014). Animal models for percutaneous absorption. *Journal of Applied Toxicology*, 35(1), pp.1-10.
49. Kagan L, Gershkovich P, Mendelman A, Amsili S, Ezov N, Hoffman A. (2007). *The role of the lymphatic system in subcutaneous absorption of macromolecules in the rat model*. *Eur J Pharm Biopharm* 67:759–765.
50. Kapural L, Szabova A, Mehkail MA (2003). *Intraspinal drug delivery routes for treatment of chronic pain and spasticity*. *Seminars in Pain Medicine* 1:254–259.
51. Kasim, N.A., Whitehouse, M., Ramachandran, C., Bermejo, M., Lennernöds, H., Hussain, A.S., Junginger, H.E., Stavchansky, S.A., Midha, K.K., Shah, V.P., & Amidon, G.L. (2004). *Molecular properties of WHO essential drugs and provisional biopharmaceutical classification*. *Molecular Pharmaceutics*, 1, 85–96.
52. Kern, P. (2010); *Clinical features and treatment of alveolar echinococcosis*. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 23(5), pp.505-512.
53. Kim MS, Lim JH, Hwang YH, Park BK, Song IB, Yun HI.; (2010). *Plasma disposition of toltrazuril and its metabolites, toltrazuril sulfoxide and toltrazuril sulfone, in rabbits after oral administration*. *Vet Parasitol.* 2010;169(1–2):51–56.
54. Ku, M.S., Dulin, W. (2012). *A biopharmaceutical classification-based Right-First-Time formulation approach to reduce human pharmacokinetic variability and project cycle time from First-In-Human to clinical Proof-Of-Concept*. *Pharm. Dev. Technol.*, 17, 285–302.

55. Kusumaningrum, I., Ashadi, A., Indriyanti, N. (2017). *Scientific Approach and Inquiry Learning Model in the Topic of Buffer Solution: A Content Analysis. Journal of Physics: Conference Series*, 895, p.012042.
56. Kerns, E.H., Di, L. & Carter, G.T. (2008). *In vitro solubility assays in drug discovery. Current Drug Metabolism*, 9, 879–885.
57. Lahiani-Skiba M, Coquard A, Bounoure F, Verite P, Arnaud P, Skiba M. (2007). *Mebendazole complexes with various cyclodextrins: preparation and physicochemical characterization. J Incl Phenom Macro. 2007;57:197–201*
58. Lathem WW, Crosby SD, Miller VL, Goldman WE.; (2005). *Progression of primary pneumonic plague: a mouse model of infection, pathology, and bacterial transcriptional activity. Proc Natl Acad Sci U S A 102:17786-17791.*
59. Lau(deceased), E. (2001). *Preformulation studies. Separation Science and Technology, 173–233.*
60. Loftsson T, Brewster ME, Másson M. (2004). *Role of cyclodextrins in improving oral drug delivery. Am J Drug Del. 2004;2(4):261–75.*
61. Lu, M., Xiong, D., Sun, W., Yu, T., Hu, Z., Ding, J., Cai, Y., Yang, S. and Pan, B. (2017). *Sustained release ivermectin-loaded solid lipid dispersion for subcutaneous delivery: in vitro and in vivo evaluation. Drug Delivery, 24(1), pp.622-631.*
62. Lu JX, Murray J. *Biochemistry, Dissolution and Solubility*. [Updated 2019 Apr 29]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK431100/>
63. Lukas G, Brindle SD, Greengard P. (1971). *The route of absorption of intraperitoneally administered compounds. J Pharmacol Exp Ther 178:562–566.*

64. Maresca M. (2013). *From the gut to the brain: journey and pathophysiological effects of the food-associated trichothecene mycotoxin deoxynivalenol*. *Toxins (Basel)*. 2013;5(4):784-820.
65. Marín Carrillo, P. (2008). *Aplicación De Fluoroquinolonas En Medicina Veterinaria: Criterios Farmacocinéticos Y Criterios Farmacocinéticos/Farmacodinámicos /PK/PD)*. [ebook] pp.4,5. Available at: <<https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/10796/MarinCarrillo.pdf>> [Accessed 9 April 2020].
66. Martinez, M. N.; Fahmy R.(2012). *The scientific basis for establishing solubility criteria for veterinary species*. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 2012, 35 (S1), 81–86.
67. Martinez, M. N., & Papich, M. G. (2012). *Drug solubility classification in the dog*. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 35, 87–91.
68. Martinez, M. (2002). *Applying the biopharmaceutics classification system to veterinary pharmaceutical products Part II. Physiological considerations*. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 54(6), 825-850.
69. Martinez, M.; Mahmood, I.; Hunter, R. P. (2006). *Interspecies allometric scaling: prediction of clearance in large animal species: Part II: mathematical considerations*. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 2006, 29 (5), 425–432.
70. Martinez, M. N.; Apley, M. D.; (2012). *Drug solubility classification in the bovine*. *J. Vet. Pharmacol. Ther.*, 35 (s1), 93–97.
71. McConnell, E. L., Basit, A. W., Murdan, S. (2008). *Measurements of rat and mouse gastrointestinal pH, fluid and lymphoid tissue, and implications for in-vivo experiments*. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 60(1), 63–70.
72. Medlicott, N., Waldron, N. and Foster, T. (2004). *Sustained release veterinary parenteral products*. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 56(10), pp.1345-1365.

73. Melillo, N., Aarons, L., Magni, P. and Darwich, A. (2018). *Variance based global sensitivity analysis of physiologically based pharmacokinetic absorption models for BCS I–IV drugs. Journal of Pharmacokinetics and Pharmacodynamics*, 46(1), pp.27-42.
74. Merchant HA, McConnell EL, Liu F, Ramaswamy C, Kulkarni RP, Basit AW, Murdan S. (2011). *Assessment of gastrointestinal pH, fluid and lymphoid tissue in the guinea pig, rabbit and pig, and implications for their use in drug development. Eur J Pharm Sci* 42(1–2):3–10.
75. Mesallati, H.; Umerska, A.; Tajber, L. (2019). *Fluoroquinolone Amorphous Polymeric Salts and Dispersions for Veterinary Uses. Pharmaceutics*. 11, 268.
76. Morton DB, Jennings M, Buckwell A, Ewbank R, Godfrey C, Holgate B, Inglis I, James R, Page C, Sharman I, Verschoyle R, Westall L, Wilson AB; Joint Working Group on Refinement. (2001). *Refining procedures for the administration of substances*. Report of the BVAAWF/FRAME/RSPCA/UFAW Joint Working Group on Refinement. British Veterinary Association Animal Welfare Foundation/Fund for the Replacement of Animals in Medical Experiments/Royal Society for the Prevention of Cruelty to Animals/Universities Federation for Animal Welfare. *Lab Anim* 35:1–41.
77. Murphy M, Carmichael AJ. (2000). *Transdermal drug delivery systems and skin reactions. Incidence and management. Am J Clin Dermatol* 1:361–368.
78. Nakamura, A., Mori, D. and Tojo, K. (2012). *Evaluation of the Predicted Time–Concentration Profile of Serum Tulobuterol in Human after Transdermal Application. Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 60(3), pp.300-305.
79. Ngo MA, Maibach HI. (2010). *Dermatotoxicology: historical perspective and advances. Toxicol Appl Pharmacol* 243:225–238.

80. Noah, D., Huebner, K., Darling, R. and Waeckerle, J. (2002). *The history and threat of biological warfare and terrorism*. *Emergency Medicine Clinics of North America*, 20(2), pp.255-271.
81. Ojewole E, Mackraj I, Naidoo P, Govender T. (2008). *Exploring the use of novel drug delivery systems for antiretroviral drugs*. *Eur J Pharm Biopharm* 70:697–710.
82. Oficina Regional de la FAO para América Latina y el Caribe. (2012). *Confirman Brote De Influenza Aviar De Alta Patogenicidad Tipo H7N3 En Jalisco, México* FAO. [online] Available at: <<http://www.fao.org/americas/noticias/ver/es/c/229681/>> [Accessed 6 April 2020].
83. Otberg N, Patzelt A, Rasulev U, Hagemester T, Linscheid M, Sinkgraven R, Sterry W, Lademann J. (2008). *The role of hair follicles in the percutaneous absorption of caffeine*. *Br J Clin Pharmacol* 65:488–492.
84. Phalen RF, Mendez LB. (2009). *Dosimetry considerations for animal aerosol inhalation studies*. *Biomarkers* 14 Suppl 1:63–66.
85. Pensel, P., Paredes, A., Albani, C., Allemandi, D., Sanchez Bruni, S., Palma, S. and Elisondo, M. (2018). *Albendazole nanocrystals in experimental alveolar echinococcosis: Enhanced chemoprophylactic and clinical efficacy in infected mice*. *Veterinary Parasitology*, 251, pp.78-84.
86. Procter and Gamble. (2020). *Política de bienestar animal* Latam.pg.com. Retrieved 3 August 2020, from <https://latam.pg.com/politicas-y-practicas/politica-de-bienestar-animal/>.
87. Proksch JW, Granvil CP, Ri Siou-Mermet TL, Comstock MRP, Ward KW. (2009). *Ocular pharmacokinetics of besifloxacin following topical*

administration to rabbits, monkeys, and humans. J Ocul Pharmacol Ther 25:335–344

88. Rafiyath, S.M.; Rasul, M.; Lee, B.; Wei, G.; Lamba, G.; Liu, D. (2012). *Comparison of safety and toxicity of liposomal doxorubicin vs. conventional anthracyclines: A meta-analysis.* Exp. Hematol. Oncol. 2012, 1, 10.
89. Real, D., Leonardi, D., Williams, R., Repka, M. and Salomon, C. (2018). *Solving the Delivery Problems of Triclabendazole Using Cyclodextrins.* AAPS PharmSciTech, 19(5), pp.2311-2321.
90. Real, D., Hoffmann, S., Leonardi, D., Salomon, C. and Goycoolea, F. (2018). *Chitosan-based nanodelivery systems applied to the development of novel triclabendazole formulations.* PLOS ONE, 13(12), p.e. 0207625.
91. Robertson, S., Taylor, P., Sear, J. and Keuhnel, G. (2005). *Relationship between plasma concentrations and analgesia after intravenous fentanyl and disposition after other routes of administration in cats.* Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics, 28(1), pp.87-93.
92. Robertson SA, Lascelles BDX, Taylor PM, Sear JW.(2005). PK-PD modeling of buprenorphine in cats: intravenous and oral transmucosal administration 1. J Vet Pharmacol Ther 28:453–460.
93. Rodriguez-Spong, B.; Price, C.P.; Jayasankar, A.; Matzger, A.J.; Rodriguez-Hornedo, N. (2004). *General principles of pharmaceutical solid polymorphism: a supramolecular perspective.* Adv. Drug Deliv. Rev. 56, 241–274.
94. Savjani, K.T.; Gajjar, A.K.; Savjani, J.K. (2012); *Drug Solubility: Importance and Enhancement Techniques.* ISRN Pharm.

95. Schmid O, Möller W, Semmler-Behnke M, Ferron GA, Karg E, Lipka J, Schulz H, Kreyling WG, Stoeger T. (2009). *Dosimetry and toxicology of inhaled ultrafine particles*. *Biomarkers* 14 Suppl 1:67–73.
96. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. (1999). *NORMA Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio*.
p.<http://www.ibt.unam.mx/computo/pdfs/bioterio.NOM-062.pdf>.
97. Silakari, O. and Singh, P., (2018). *Key Heterocycle Cores For Designing Multitargeting Molecules. Chapter 2 - Benzimidazole: Journey From Single Targeting To Multitargeting Molecule*. Om Silakari, pp.31-52.
98. Singh, D. and Pathak, K. (2013). *Hydrogen bond replacement—Unearthing a novel molecular mechanism of surface solid dispersion for enhanced solubility of a drug for veterinary use*. *International Journal of Pharmaceutics*, 441(1-2), pp.99-110.
99. Sun, D., Xue, A., Zhang, B., Xue, X., Zhang, J., & Liu, W. (2016). *Enhanced oral bioavailability of acetylpuerarin by poly(lactide-co-glycolide) nanoparticles optimized using uniform design combined with response surface methodology*. *Drug design, development and therapy*, 10, 2029–2039.
100. Sutton, S. (2012). *Biopharmaceutics and Veterinary Drug Delivery*. *Advances in Delivery Science and Technology*, pp.97-106.
101. Takagi, T., Ramachandran, C., Bermejo, M., Yamashita, S., Yu, L.X., Amidon, G.L. (2006). *A provisional biopharmaceutical classification of the top 200 oral drug products in the United States*. *Mol. Pharm.* 3, 631–643

102. Tan RH, Dart AJ, Dowling BA. (2003). *Catheters: a review of the selection, utilization, and complications of catheters for peripheral venous access*. Aust Vet J 81:136–139
103. Teske, E.; Rutteman, G.R.; Kirpenstein, J.; Hirschberger, J. (2011). *A randomized controlled study into the efficacy and toxicity of pegylated liposome encapsulated doxorubicin as an adjuvant therapy in dogs with splenic haemangiosarcoma*. Vet. Comp. Oncol. 2011, 9, 283–289.
104. The United States Pharmacopeia, USP 36, (2013). NF 31, 2013. Vol. I.
105. Thomsen M, Caine SB. (2007). *Intravenous drug self-administration in mice: practical considerations*. Behav Genet 37:101–118.
106. Troncy E, Junot S, Keroack S, Sammut V, Pibarot P, Genevois JP, Cuvellez S. (2002). *Results of preemptive epidural administration of morphine with or without bupivacaine in dogs and cats undergoing surgery: 265 cases (1997–1999)*. J Am Vet Med Assoc 221:666–672.
107. Turner, P., Brabb, T., Pekow, C., Vasbinder, M. (2011). *Administration of Substances to Laboratory Animals: Routes of Administration and Factors to Consider*. Journal of the American Association for Laboratory Animal Science Vol 50, No 5, Pages 600–613.
108. US Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration. (2020). *Title 21 Code of Federal Regulations, Subpart I, Section 314.600*. [online] Available at: <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?CFRPart=601&showFR=1&subpartNode=21:7.0.1.1.2.8> [Accessed 17 Feb. 2020].

109. US Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration. (2009). *Draft Guidance for Industry—essential elements to address efficacy under the animal rule*. Fed Regist 74: 3610-3611.
110. Valverde, A., & Doherty, T. (2008). *Anesthesia and analgesia in laboratory animals (2nd ed.)*. Elsevier/Academic Press.
111. Valverde A. (2008). *Epidural analgesia and anesthesia in dogs and cats*. Vet Clin North Am Sm Anim Pract 38:1205–1230.
112. Vandamme, T., Ellis, K. (2004). *Issues and challenges in developing ruminal drug delivery systems*. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 56(10), 1415–1436.
113. Vippagunta, S.R., Brittain, H.G., Grant, D.J.W. (2001). *Crystalline solids*. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 48, 3–26.
114. Wang, C., Zhai, B., Guo, H., Wang, P., Liu, Z., & Gu, H. et al. (2020). *In vivo measurement of gastric fluid volume in anesthetized dogs*. *Journal Of Drug Delivery Science And Technology*, 55, 101488.
115. Whelan, N. (2014). *Routes of Administration for Ocular Medications*. MSD MANUAL Veterinary Manual. Retrieved 10 August 2020, from <https://www.msdvetermanual.com/pharmacology/systemic-pharmacotherapeutics-of-the-eye/routes-of-administration-for-ocular-medications>.
116. Williams, H.D., Trevaskis, N.L., Charman, S.A., Shanker, R.M., Charman, W.N., Pouton, C.W., Porter, C.J.H. (2013). *Strategies to address low drug solubility in discovery and development*. *Pharmacol. Rev.* 65, 315–499.
117. W.L. Chiou, H.Y. Jeong, S.M. Chung, T.C.Wu,(2000). *Evaluation of range of structural and functional changes which, in using dog as an animal model to study the fraction of oral. This dose absorbed of 43 drugs in humans*, Pharm. Res. 17

118. Zabielska-Koczywas, K., Lechowski, R. (2017). *The Use of Liposomes and Nanoparticles as Drug Delivery Systems to Improve Cancer Treatment in Dogs and Cats. Molecules (Basel, Switzerland)*, 22(12), 2167.
119. Zhang, Q., Lin, L. and Ye, W. (2018). *Techniques for extraction and isolation of natural products: a comprehensive review. Chinese Medicine*, 13(1).
120. Zhang, L., Liu, M., Lu, C., Ren, D., Fan, G., Liu, C., Liu, M., Shu, G., Peng, G., Yuan, Z., Zhong, Z., Zhang, W., & Fu, H. (2018). *The hydroxypropyl- β -cyclodextrin complexation of toltrazuril for enhancing bioavailability. Drug design, development and therapy*, 12, 583–589.