



Universidad Austral de Chile

Facultad de Ciencias

Instituto de Farmacia

**PROFESOR PATROCINANTE: Alejandro Jerez M.**  
**INSTITUCION: Universidad Austral de Chile**  
**FACULTAD: Ciencias**

**PROFESOR CO-PATROCINANTE: Edda Costa C.**  
**INSTITUCION: Universidad de Chile**  
**FACULTAD: Ciencias Químicas y Farmacéuticas.**

***“EVALUACIÓN Y COMPARACIÓN DE LOS PERFILES DE DISOLUCIÓN DE  
COMPRIMIDOS DE USO VETERINARIO A BASE DE ENROFLOXACINO Y  
KETOPROFENO”***

**Tesis de grado presentada como  
parte de los requisitos para optar  
al título de Químico Farmacéutico.**

**KAREN JOSSETTE SALDIVIA HARO**

**VALDIVIA – CHILE**

**2007**

## **I. AGRADECIMIENTOS**

Quisiera agradecer, en primera instancia, a mis padres Aliro y Mireya y a mis hermanos Danny y Marcelo; por apoyarme en cada momento de mi desarrollo como profesional, por darme una palabra de aliento en los momentos buenos y malos vividos, por sentirlos tan cerca aunque la distancia nos separaba. Gracias por entregarme día a día su amor y comprensión. Los quiero mucho.

Al profesor Alejandro Jerez, le agradezco el haber confiado en mí para llevar a cabo éste proyecto. Gracias por ayudarme en cada momento en que necesité su apoyo, tanto en el ámbito intelectual como emocional, le estaré agradecida siempre.

Agradecer también a las profesoras Edda y Annamarie por su tiempo y dedicación en el desarrollo de éste trabajo.

Gracias a todo el cuerpo docente de la Universidad, por la formación que me entregaron y el tiempo dedicado en mi desarrollo profesional.

A Rodrigo, Juan Pablo y Vero les agradezco el haberme ayudado en la realización de mis cinéticas, la dedicación que entregaron sin pedir nada a cambio. Sin ellos no hubiese podido llegar al término de ésta proyecto.

Gracias a Joel y a don Eduardo porque siempre me ayudaron en lo que necesitaba, por los momentos gratos vividos en el laboratorio, por su solidaridad y generosidad que los caracteriza.

Agradecer también al profesor Guido Ruiz, por apoyarme en el momento en que necesitaba de su ayuda.

Mis amigos Vero, Naty, Eve, Carola, Juan Pablo y Germán. Que importante es para una persona sentirse apoyado por amigos durante su desarrollo profesional. Gracias a todos ellos por los momentos gratos vividos durante todos éstos años de universidad, por su apoyo, su compañía y comprensión.

Rodrigo, eres la persona más especial de mi vida. Gracias por estar en todos los momentos buenos y malos, por tu comprensión, por los consejos que me entregabas en los momentos precisos, por apoyarme incondicionalmente. Te amo mi amor.

## **II.ÍNDICE**

I. AGRADECIMIENTOS.....	1
II. ÍNDICE.....	3
II. ÍNDICE DE FIGURAS.....	6
III. ÍNDICE DE TABLAS.....	8
IV. ABREVIATURAS.....	11
V. RESUMEN.....	12
VI. SUMMARY.....	13
1. INTRODUCCIÓN.....	14
1.1 Principios activos veterinarios estudiados.....	16
1.1.1 <i>Enrofloxacino</i> .....	16
1.1.2 <i>Ketoprofeno</i> .....	18
1.2 Fundamentación y planteamiento del problema.....	19
2.HIPÓTESIS.....	22
3.OBJETIVOS.....	22
3.1 Objetivo general.....	22
3.2 Objetivos específicos.....	22
4. MATERIALES Y METODOLOGÍA.....	23
4.1 Materiales.....	23
4.1.1 <i>Muestras</i> .....	23
4.1.2 <i>Reactivos</i> .....	23

	4
4.1.3 <i>Materiales de laboratorio</i> .....	23
4.1.4 <i>Equipos</i> .....	24
4.2 Metodología.....	25
4.2.1 <i>Curva de calibración</i> .....	25
4.2.2 <i>Equipo de disolución</i> .....	30
4.2.3 <i>Ensayo de disolución</i> .....	33
4.2.4 <i>Mecanismo de liberación de los fármacos</i> .....	36
5. RESULTADOS.....	41
5.1 Curva de calibración.....	41
5.1.1 <i>Enrofloxacino</i> .....	41
5.1.2 <i>Ketoprofeno</i> .....	44
5.2 Cinética de disolución.....	48
5.2.1 <i>Cinéticas de comprimidos a base de enrofloxacino</i> .....	48
5.2.2 <i>Cinética de comprimidos a base de ketoprofeno de 10 mg</i> .....	52
5.3 Mecanismos de liberación de los fármacos.....	54
5.3.1 <i>Cinética de orden cero</i> .....	54
5.3.2 <i>Cinética de orden uno</i> .....	62
5.3.3 <i>Factores de similitud y diferencia</i> .....	68
6. DISCUSIÓN.....	70
6.1 Curva de calibración de enrofloxacino y ketoprofeno.....	70
6.2 Perfiles de disolución.....	70
6.2.1 <i>Comprimidos a base de enrofloxacino</i> .....	70

6.2.2 <i>Comprimidos a base de ketoprofeno</i> .....	72
6.3 Mecanismo de liberación de los fármacos.....	72
6.3.1 <i>Comprimidos a base de enrofloxacino</i> .....	72
6.3.2 <i>Comprimidos a base de ketoprofeno</i> .....	74
7. CONCLUSIONES.....	76
8. REFERENCIAS CITADA.....	77
9. ANEXOS.....	79

## **II. ÍNDICE DE FIGURAS**

<b>FIGURA N° 1:</b> Estructura enrofloxacino.....	18
<b>FIGURA N° 2:</b> Estructura ketoprofeno.....	19
<b>FIGURA N° 3:</b> Curva de calibración de enrofloxacino.....	41
<b>FIGURA N° 4:</b> Curva de calibración ketoprofeno.....	45
<b>FIGURA N° 5:</b> Comparación de los perfiles de disolución del producto de referencia y el de prueba de comprimidos de enrofloxacino de 50 mg.....	50
<b>FIGURA N° 6:</b> Comparación de los perfiles de disolución del producto de referencia y el de prueba de comprimidos de enrofloxacino de 150 mg.....	52
<b>FIGURA N° 7:</b> Comparación de los perfiles de disolución de producto de referencia y el de prueba de comprimidos de ketoprofeno de 10 mg.....	54
<b>FIGURA N° 8:</b> Gráfico del porcentaje disuelto en función del tiempo para el producto de referencia de comprimidos a base de enrofloxacino de 50 mg.....	55
<b>FIGURA N° 9:</b> Gráfico del porcentaje disuelto en función del tiempo para el producto de prueba de comprimidos a base de enrofloxacino de 50 mg.....	56
<b>FIGURA N° 10:</b> Gráfico del porcentaje disuelto en función del tiempo para el producto de referencia de comprimidos a base de enrofloxacino de 150 mg.....	58
<b>FIGURA N° 11:</b> Gráfico del porcentaje disuelto en función del tiempo para el producto de prueba de comprimidos a base de enrofloxacino de 150 mg.....	59
<b>FIGURA N° 12:</b> Gráfico del porcentaje disuelto en función del tiempo para el producto de referencia de comprimidos a base de ketoprofeno de 10 mg.....	60

<b>FIGURA N° 13:</b> Gráfico del porcentaje disuelto en función del tiempo para el producto de prueba de comprimidos a base de ketoprofeno de 10 mg.....	61
<b>FIGURA N° 14:</b> Gráfico del logaritmo del porcentaje no disuelto versus tiempo para el producto de referencia a base de enrofloxacino de 50 mg.....	63
<b>FIGURA N° 15:</b> Gráfico del logaritmo del porcentaje no disuelto versus tiempo para el producto de prueba a base de enrofloxacino de 50 mg.....	64
<b>FIGURA N° 16:</b> Gráfico del logaritmo del porcentaje no disuelto versus tiempo para el producto de referencia a base de enrofloxacino de 150 mg.....	65
<b>FIGURA N° 17:</b> Gráfico del logaritmo del porcentaje no disuelto versus tiempo para el producto de prueba a base de enrofloxacino de 150 mg.....	66
<b>FIGURA N° 18:</b> Gráfico del logaritmo del porcentaje no disuelto versus tiempo para el producto de referencia a base de ketoprofeno de 10 mg.....	67



### **III. ÍNDICE DE TABLAS**

<b>TABLA N° 1:</b> Producto de referencia y de prueba a base de enrofloxacino de 50 mg.....	34
<b>TABLA N° 2:</b> Producto de referencia y de prueba a base de enrofloxacino de 150 mg.....	35
<b>TABLA N° 3:</b> Producto de referencia y de prueba a base de ketoprofeno de 10 mg.....	36
<b>TABLA N° 4:</b> Resultados obtenidos en el estudio de linealidad del método espectrofotométrico para enrofloxacino.....	42
<b>TABLA N° 5:</b> Resultados de repetibilidad del método espectrofotométrico utilizando las concentraciones señaladas.....	43
<b>TABLA N° 6:</b> Resultados de la determinación de exactitud del método espectrofotométrico.....	44
<b>TABLA N° 7:</b> Resultados obtenidos en el estudio de linealidad del método espectrofotométrico para ketoprofeno.....	46
<b>TABLA N° 8:</b> Resultados de repetibilidad del método espectrofotométrico de ketoprofeno en las concentraciones señaladas.....	47
<b>TABLA N° 9:</b> Resultados de la determinación de exactitud del método espectrofotométrico.....	48
<b>TABLA N° 10:</b> Resultados de las cinéticas de disolución del producto de referencia de comprimidos de enrofloxacino de 50 mg.....	49

<b>TABLA N° 11:</b> Resultados de las cinéticas de disolución del producto de prueba de comprimidos de enrofloxacino de 50 mg.....	50
<b>TABLA N° 12:</b> Resultados de las cinéticas de disolución del producto de referencia de comprimidos de enrofloxacino de 150 mg.....	51
<b>TABLA N° 13:</b> Resultados de las cinéticas de disolución del producto de prueba de comprimidos de enrofloxacino de 150 mg.....	52
<b>TABLA N° 14:</b> Resultados de las cinéticas de disolución del producto de referencia de ketoprofeno de 10 mg.....	53
<b>TABLA N° 15:</b> Resultados de las cinéticas de disolución del producto de prueba de ketoprofeno de 10 mg.....	53
<b>TABLA N° 16:</b> Tiempo y porcentaje disuelto para el producto de referencia de comprimidos a base de enrofloxacino de 50 mg.....	55
<b>TABLA N° 17:</b> Tiempo y porcentaje disuelto para el producto de prueba de comprimidos a base de enrofloxacino de 50 mg.....	56
<b>TABLA N° 18:</b> Tiempo y porcentaje disuelto para el producto de referencia de comprimidos a base de enrofloxacino de 150 mg.....	57
<b>TABLA N° 19:</b> Tiempo y porcentaje disuelto para el producto de prueba de comprimidos a base de enrofloxacino de 150 mg.....	58
<b>TABLA N° 20:</b> Tiempo y porcentaje disuelto para el producto de referencia de comprimidos a base de ketoprofeno de 10 mg.....	60
<b>TABLA N° 21:</b> Tiempo y porcentaje disuelto para el producto de prueba de comprimidos a base de ketoprofeno de 10 mg.....	61

<b>TABLA N° 22:</b> Tiempo y logaritmo del porcentaje no disuelto para el producto de referencia a base de enrofloxacino de 50 mg.....	62
<b>TABLA N° 23:</b> Tiempo y logaritmo del porcentaje no disuelto para el producto de prueba a base de enrofloxacino de 50 mg.....	63
<b>TABLA N° 24:</b> Tiempo y logaritmo del porcentaje no disuelto para el producto de referencia a base de enrofloxacino de 150 mg.....	64
<b>TABLA N° 25:</b> Tiempo y logaritmo del porcentaje no disuelto para el producto de prueba a base de enrofloxacino de 150 mg.....	65
<b>TABLA N° 26:</b> Tiempo y logaritmo del porcentaje no disuelto para el producto de referencia a base de ketoprofeno de 10 mg.....	67
<b>TABLA N° 27:</b> Factor de diferencia y similitud calculado al producto de referencia y de prueba.....	68
<b>TABLA N° 28:</b> Factor de diferencia y similitud calculado al producto de referencia y de prueba.....	69
<b>TABLA N° 29:</b> Factor de diferencia y similitud calculado al producto de referencia y de prueba.....	69

#### **IV. ABREVIATURAS**

**AINE:** Antiinflamatorio No Esteroidal.

**BCS:** Sistema de Clasificación Biofarmacéutico.

**Col.:** Colaboradores

**CV:** Coeficiente de Variación.

**DNA:** Ácido Desoxirribonucleico.

**FDA:** *Food and Drug Administration.*

**f<sub>1</sub>:** Factor de Diferencia.

**f<sub>2</sub>:** Factor de Similitud.

**HCl:** Ácido Clorhídrico.

**IVIVC:** Correlación *in vivo-in vitro.*

**NaOH:** Hidróxido de Sodio.

**r.p.m:** Revoluciones por minuto.

**SD:** Desviación Estándar.

**USP:** United States Pharmacopeia.

## V. RESUMEN

Los comprimidos no sólo se utilizan en medicina humana, sino que también son usados en medicina veterinaria, tanto en animales mayores como menores. Entre los utilizados habitualmente en medicina de animales menores se encuentran el enrofloxacino (50 y 150 mg) y el ketoprofeno (10 mg). En las farmacopeas existen especificaciones para pruebas de disolución de comprimidos de uso humano, sin embargo, en el caso de los de uso de veterinario no siempre es posible encontrar este tipo de información. En la actualidad, las pruebas que se realizan a los productos de uso veterinario son basadas en los textos oficiales utilizados en el control de calidad.

En este trabajo se evaluaron los perfiles de disolución de comprimidos de uso veterinario de enrofloxacino y ketoprofeno. La selección de las condiciones para el análisis de éste trabajo se basaron en las **características fisicoquímicas** del principio activo, utilizando el método de paleta, con una velocidad de agitación de 50 r.p.m.,  $37\pm 0,5^{\circ}\text{C}$  de temperatura y como medios de disolución: ácido clorhídrico 0,01N para el enrofloxacino y en el caso de ketoprofeno, buffer fosfato pH  $7,2\pm 0,05$ .

Se utilizó una comparación modelo dependiente e independiente. Al aplicar el modelo dependiente, se obtuvieron aproximaciones al modelo cinético de orden cero en el caso de ketoprofeno de 10 mg y de orden uno para enrofloxacino de 50 y 150 mg. Al aplicar el modelo independiente, los factores de similitud y diferencia arrojaron como resultado diferencias en los perfiles de disolución de ambos fármacos.

Finalmente, la aplicación de estudios de disolución a comprimidos fabricados para uso veterinario resulta útil al momento de establecer calidad lote a lote y en la comparación entre una formulación de referencia y una de prueba.

## **VI. SUMMARY**

Tablets are pharmaceutical dosage forms not used only in human medicine, but in small and large animals veterinary medicine also. In fact, enrofloxacin and ketoprofen tablets among the most used drugs in small animals therapy. Whereas pharmacopeia include commonly specifications for dissolution test of tablets used in human medicine, it is not as easy to find such information for veterinary use tablets. Currently, the test applied to veterinary pharmaceutical products are based on official guidelines used for quality control.

In this study, the dissolution profiles of tablets for veterinary use, enrofloxacin and ketoprofen were evaluated. The paddle method was conducted, being the conditions based on the physicochemical properties of the active principle, with an agitation velocity of 50 r.p.m. and a temperature  $37 \pm 0,5$  °C. The dissolution media were chlorhydric acid 0,01 N for enrofloxacin and a  $7,2 \pm 0,05$  pH phosphate buffer for ketoprofen.

Both, dependant and independent model comparisons were used. With the independent model approach, approximated kinetic models of zero and first order were obtained for ketoprofen and enrofloxacin, respectively. By applying the independent model analysis, the difference and similarity factors showed differences in the dissolution profiles of the drugs.

The application of dissolution studies to tablets produced for veterinary use is a useful tool to establish quality batch to batch when comparing a reference formulation a test formulation.

## **1. INTRODUCCIÓN**

La industria farmacéutica, además de desarrollar y producir especialidades farmacéuticas de uso humano, también se ocupa de producir especialidades farmacéuticas de uso animal, que cubran las necesidades sanitarias de éstos con la finalidad de entregar bienestar a los animales y proteger a los seres humanos de enfermedades por ellos transmitidos. En los últimos años, se ha mostrado un interés creciente por los medicamentos de uso animal para tratar de forma eficaz cualquier problema sanitario de los animales.

En la terapéutica de animales, al igual que en la humana, la administración de un fármaco requiere su incorporación previa a una estructura de mayor complejidad conocida como forma farmacéutica (De Pedro, J., 2005).

Las formas farmacéuticas pueden ser definidas como preparados constituidos por uno o más principios activos y sustancias inertes (excipientes), que cumplen diversos objetivos dentro de la formulación (Cid, E., 1992).

Es así como la forma farmacéutica desempeña importantes funciones tecnológicas, tales como (De Pedro, J., 2005):

- Contribuir a que el fármaco mantenga su estabilidad, tanto física como química.
- Condicionar de manera decisiva la absorción del fármaco, tanto en lo que se refiere a la dosis que alcanza en la circulación general, como en lo relativo a la velocidad con que se produce esta absorción, garantizando una adecuada biodisponibilidad (cantidad relativa de la dosis administrada de un fármaco que llega intacta a la circulación sistémica y la velocidad en que lo hace).

Para que un fármaco sea eficaz, debe llegar una cantidad suficiente al lugar o lugares de acción y permanecer ahí el tiempo suficiente para ejercer su efecto farmacológico. Esto depende de la vía y la formulación (Aulton, M., 2004).

La vía oral constituye la vía más utilizada para administrar fármacos y entre las formas posológicas orales, los comprimidos son los más frecuentes, los cuales pueden ser de liberación inmediata o modificada. Las formas de liberación inmediata, se caracterizan por liberar sus componentes activos de manera inmediata quedando el principio activo disponible así para la absorción (Gordon, L. A., 2003).

Los comprimidos deben cumplir varias especificaciones sobre sus propiedades químicas, físicas y biológicas. Los aspectos de calidad relacionados con el producto definitivo deben tenerse en cuenta desde las primeras etapas de proceso de desarrollo, ya que sirven para lograr el objetivo que se debe alcanzar durante el desarrollo y fabricación de los comprimidos (Aulton, M., 2004).

Las pruebas y especificaciones se encuentran en las farmacopeas. Dentro de ellas se encuentran: uniformidad de contenido, liberación del fármaco en relación con la disgregación del comprimido, calidad microbiana del preparado y la disolución del fármaco.

La absorción de un fármaco desde una forma de dosificación sólida tras la administración oral depende de la liberación del principio activo del producto farmacéutico; de la disolución o solubilización del fármaco bajo condiciones fisiológicas y de la permeabilidad en el sistema gastrointestinal. Debido a la naturaleza crítica de estos dos primeros pasos, la disolución *in vitro* puede ser relevante en cuanto a la predicción del comportamiento *in vivo*. En base a esto, se utilizan pruebas de disolución



*in vitro* para las formas sólidas de dosificación oral, como comprimidos y cápsulas, para (FDA, 1997):

- Evaluar la calidad de un producto farmacéutico lote a lote.
- Desarrollo de nuevas formulaciones.
- Asegurar la calidad y rendimiento continuado del producto después de ciertos cambios tales como cambios en la formulación, en el proceso de fabricación, sitio de fabricación y aumento en escala del proceso de fabricación.

En base a la solubilidad y permeabilidad de los fármacos, se recomienda el siguiente Sistema de Clasificación Biofarmacéutica (BCS) (Amidon, 1995)

- Clase I: Fármacos de alta solubilidad y alta permeabilidad.
- Clase II: Fármacos de baja solubilidad y alta permeabilidad.
- Clase III: Fármacos de alta solubilidad y baja permeabilidad.
- Clase IV: Fármacos de baja solubilidad y baja permeabilidad.

Se puede utilizar esta clasificación como base para establecer las especificaciones de disolución *in vitro* y también puede proveer una base para predecir la probabilidad de lograr una correlación *in vivo* – *in vitro* (IVIVC) exitosa.

## **1.1 Principios activos veterinarios estudiados**

### **1.1.1 Enrofloxacino**

El enrofloxacino es una 6-fluoroquinolona sintética, cuyo corazón estructural es idéntico al ácido nalidíxico. Su nombre químico es el 1-ciclopropil-7-(4-etil-1-piperazinil)-6-fluoro.1,4-dihidro-4-oxo-3 ácido quinolincarboxílico. Como resultado en los cambios

graduales de la molécula básica, las propiedades antimicrobianas aumentaron mejorando su farmacocinética y disminuyendo los efectos adversos (Bayer, 2001).

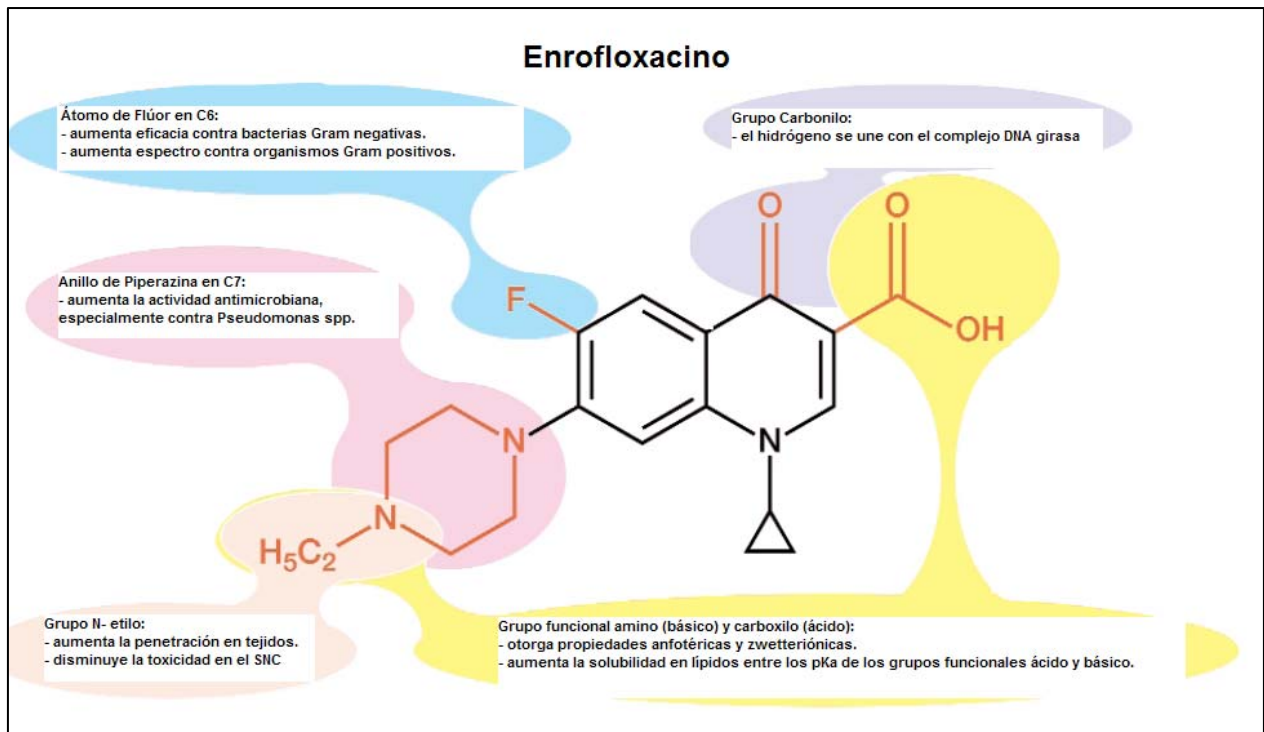
El enrofloxacino es un polvo amarillo pálido, cristalino y con alto grado de pureza. Es levemente soluble en agua. Los comprimidos de enrofloxacino deben ser almacenados en envases a temperaturas menores a 30°C, protegidos de la luz (Donald, C., 1999).

El mecanismo de acción de esta fluoroquinolona es interferir con el metabolismo del DNA bacteriano por medio de la inhibición de dos enzimas, Topoisomerasa II y Topoisomerasa IV (Bayer, 1999).

El enrofloxacino es metabolizado en el hígado, donde experimenta una pérdida del grupo etilo, transformándose en ciprofloxacino, el cual es responsable de la actividad antimicrobiana (Otero, J. y col., 2001).

En perros y gatos, el enrofloxacino es absorbido rápidamente por vía oral, con una biodisponibilidad aproximadamente del 80%. Es distribuido a través de todo el organismo, presentando un volumen de distribución de 2,8 L/kg. Es eliminado vía renal y aproximadamente el 15-50% del fármaco se elimina por la orina por secreción tubular y filtración glomerular (Donald, C., 1999).

Este medicamento está indicado en enfermedades asociadas con bacterias susceptibles a enrofloxacino como *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella sp.*, *E. coli*, *Enterobacter*, *Campilobacter*, *Shigella*, *Salmonella*, *Aeromonas*, *Haemophilus*, *Proteus*, *Yersinia*, *Serratia*, *Vibrio*, *Brucella sp.*, *Chlamydia trachomatis*, *Staphylococcus*, *Mycoplasma*, *Mycobacterium sp* (Donald, C., 1999).

**FIGURA N° 1:** Estructura enrofloxacino (Bayer, 1999)

### 1.1.2 Ketoprofeno

El ketoprofeno es un analgésico antiinflamatorio no esteroideo (AINE), derivado del ácido propiónico, cuyo mecanismo de acción es la inhibición de la actividad de las ciclooxigenasas, las cuales son enzimas que convierten el ácido araquidónico que se encuentra en las membranas celulares en endoperóxidos cíclicos inestables, los cuales se transforman en prostaglandinas y tromboxanos (Florez, J., 1997).

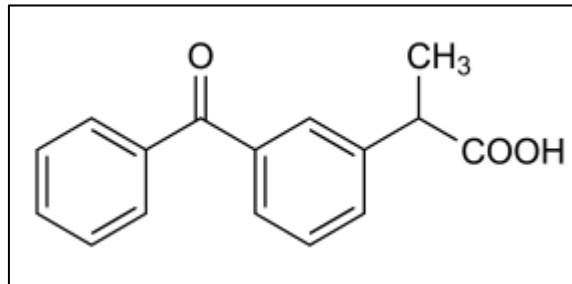
El ketoprofeno es un polvo cristalino blanco, prácticamente insoluble en agua, pero soluble en alcohol a 20°C, acetona, etilacetato, cloroformo y éter (Donald, C., 1999; Clarke's, 2004).

Se absorbe bien por vía oral, teniendo una biodisponibilidad cercana al 100%. Su  $t_{máx}$  es de 0,5 a 2 horas. Se fija en el 99,2 % a proteínas plasmáticas. Se elimina por la

orina (menos del 1% sin metabolizar) como glucurónido. Su semivida de eliminación es de unas 2 horas (Florez, J., 1997).

Este medicamento es indicado preferentemente como analgésico en el tratamiento del dolor agudo, leve/moderado, alivio de la inflamación y dolores asociados con desórdenes musculares (Florez, J., 1997; Donald, C., 1999).

**FIGURA N° 2:** Estructura Ketoprofeno (Florez, J., 1997)



## 1.2 Fundamentación y planteamiento del problema

El mercado actual ofrece medicamentos que ayudan en la prevención, tratamiento y curación de una gran gama de afecciones en los animales, los cuales son fabricados por laboratorios que se han dedicado a la formulación de este tipo de productos abarcando diferentes especies animales tales como equinos, bovinos, porcinos, caninos y felinos, entre otros.

Los medicamentos veterinarios se utilizan con la finalidad de entregar bienestar a los animales y proteger a los seres humanos de enfermedades por ellos transmitidas. Es por ello que es necesario verificar la seguridad, calidad y eficacia de ellos con el fin de proteger la salud de los animales, la salud pública y el medio ambiente.

Dentro de la *Food and Drug Administration* (FDA), el Centro de Medicina Veterinaria (CVM), regula y aprueba productos farmacéuticos veterinarios, incluyendo formas sólidas de dosificación oral. Generalmente para los productos veterinarios se realizan solamente pruebas de desintegración, como control de calidad, en reemplazo de pruebas de disolución. Una prueba de disolución apropiada demuestra correspondencia con el producto innovador, lo cual podría, en algunos casos, ser un aspecto concluyente en la determinación de bioequivalencia de un producto genérico (Fahmy, R., 2002).

La FDA y la Farmacopea de los Estados Unidos (USP) reconocen la importancia del test de disolución para el control de calidad de formas sólidas de dosificación oral sólida (Fahmy, R. y col., 2001).

Entre los productos farmacéuticos más utilizados en medicina de animales menores se encuentran los antiinfecciosos como el enrofloxacino, antiinflamatorios como el ketoprofeno y antiparasitarios como praziquantel, febantel y embonato de pirantel.

Sin embargo, en literatura no es posible encontrar suficiente información acerca de este tema en productos de uso veterinario, así como tampoco información dentro de las monografías especificadas en la Farmacopea de Estados Unidos (USP) para comprimidos que contengan enrofloxacino y ketoprofeno como principio activo usados en veterinaria (USP, 2004).

En la actualidad, las pruebas que se realizan a los productos de uso veterinario son basadas en los textos oficiales utilizados en control de calidad, los cuales no consideran, además de que no existe información en literatura respecto de estudios cinéticos de disolución entre productos veterinarios innovadores y genéricos.

No cabe duda entonces, que es una necesidad realizar análisis en este contexto de los productos de uso veterinario existentes en el mercado, ya que estos medicamentos son de igual importancia que un producto de uso humano.

Teniendo en cuenta lo anteriormente descrito, es conveniente realizar ensayos cinéticos que permitan determinar el comportamiento que tendrán estos productos farmacéuticos veterinarios de uso en animales menores con alta prescripción: enrofloxacino de 50 y 150 mg (Laboratorio Bayer y DragPharma) y comprimidos de ketoprofeno de 10 mg (Laboratorio Merial y DragPharma), los cuales se encuentran disponibles en el comercio (farmacia privada). Como parte de este estudio se realizarán perfiles de liberación de cada producto y se compararán con los de su respectivo producto de referencia.

## **2. HIPÓTESIS**

“No existen diferencias significativas entre los perfiles de disolución de comprimidos veterinarios de enrofloxacino y ketoprofeno usados en animales menores”.

## **3. OBJETIVOS**

### **3.1 Objetivo general**

Evaluar perfiles de disolución de comprimidos veterinarios formulados a base de enrofloxacino y ketoprofeno disponibles en el comercio.

### **3.2 Objetivos específicos**

3.2.1 Estudiar la cinética de liberación de enrofloxacino desde los comprimidos, utilizando como medio HCl 0,01 N.

3.2.2 Estudiar la cinética de liberación de ketoprofeno desde los comprimidos, utilizando como medio buffer fosfato pH 7,2.

3.2.3 Calcular el factor de diferencia y el factor de similitud para las formulaciones en estudio, en los medios especificados.

## **4. MATERIALES Y METODOLOGÍA**

### **4.1 Materiales**

#### **4.1.1 Muestras**

- Comprimidos de enrofloxacino de 50 mg.
- Comprimidos de enrofloxacino de 150 mg.
- Comprimidos de ketoprofeno de 10 mg.

#### **4.1.2 Reactivos**

- Ácido Clorhídrico fumante 37% p/p, Merck®
- Potasio Dihidrógeno Fosfato, Merck Química Chilena Soc. LTDA.
- Hidróxido de Sodio, Merck®
- Estándar de enrofloxacino con un 99,93% de pureza.
- Estándar de ketoprofeno con un 99% de pureza.

#### **4.1.3 Materiales de Laboratorio**

- Pipetas aforadas de 10 mL.
- Tubos de ensayo.
- Embudos.
- Probeta.
- Matraz aforado.
- Matraz Erlenmeyer 3000 mL.
- Material de vidrio en general.
- Papel filtro, Advantec n° 2.



#### 4.1.4 Equipos

- Estufa WTC Binder.
- Balanza Analítica modelo ADAM AAA 250 LE, máx. 250 mg  $\pm$  0,1 mg.
- Balanza GX 230.
- Baño termorregulado.
- pHmetro Hanna Hi 9321 microprocessor.
- Equipo de disolución modelo Erweka DT – 60, con calibración al día.
- Espectrofotómetro UV-VIS Unicam Helios  $\alpha$ .

## 4.2 Metodología

### 4.2.1 Curva de calibración

En este trabajo, se utilizará el método espectrofotométrico, razón por la cual se deberá elaborar una curva de calibración (relación existente entre la absorbancia obtenida y la concentración del analito en estudio) para poder cuantificar el principio activo y a la cual se le determinarán los diferentes parámetros de validación de un método analítico, linealidad, precisión (repetibilidad), exactitud, estabilidad.

El objetivo principal de la validación de un procedimiento analítico es demostrar que el procedimiento es conveniente para su propósito previsto (ICH Q2 (R1), 2005; VICH GL2, 1998).

Un método validado refleja:

- El buen diseño del método.
- La habilidad del investigador para el desarrollo.
- La organización y las buenas prácticas de laboratorio.

Se realizará la validación de la metodología analítica de acuerdo a los parámetros analíticos estipulados por la ICH Q2 (R1) y VICH GL2.

#### **4.2.1.1 Elaboración de la curva de calibración**

Para la realización de la curva de calibración de enrofloxacino, se trabajó a partir de una solución madre de concentración de 2,5 mg/mL (2500 µg/mL), la cual fue diluida a una concentración de 0,025 mg/mL (25 µg/mL), la cual es almacenada protegida de la luz y refrigerada y que corresponde a la solución *stock*

A partir de la solución *stock*, se elaboró la curva de calibración de enrofloxacino, realizando diluciones con HCl 0,01 N. De esta manera se obtuvo un rango de concentraciones que va de 2,5 a 25,0 µg/mL.

La longitud de onda a la cual se trabajó fue de 277 nm, obtenida mediante la realización de un barrido de una solución de enrofloxacino con una concentración de 2,5 µg/mL.

Para la realización de la curva de calibración de ketoprofeno, se preparó una solución madre con una concentración de 0,25 mg/mL (250 µg/mL). Esta fue diluida con buffer fosfato pH 7,2 ±0,05, obteniéndose una concentración de 0,0025 mg/mL (2,5 µg/mL).

A partir de la solución *stock* anteriormente descrita, se elaboró la curva de calibración de ketoprofeno, mediante diluciones, obteniéndose un rango de concentración de 0 a 2,5 µg/mL.

Para determinar la longitud de onda de trabajo, se realizó un barrido de la solución *stock* de ketoprofeno en el espectrofotómetro, la cual otorgó un pico a los 261 nm.

Cabe destacar que para ambas curvas de calibración, el rango de concentración se estimó considerando la concentración máxima más un 20% extra a obtener en la cinética de disolución.

#### **4.2.1.2 Linealidad**

Es la capacidad del método analítico para obtener resultados directamente proporcionales a la concentración o cantidad del analito en un rango definido. Se

determina mediante el tratamiento matemático de los resultados obtenidos en el análisis del analito a diferentes cantidades o concentraciones. La selección del rango y del número de puntos experimentales está estrictamente relacionada con la aplicación del método (Castillo, B., 1996).

Si hay una relación lineal, los resultados de la prueba se deben evaluar por métodos estadísticos apropiados, por ejemplo, el cálculo de regresión lineal por el método de los cuadrados mínimos (ICH Q2 (R1), 2005; VICH GL2, 1998).

Se recomienda, para el establecimiento de linealidades, un mínimo de 5 concentraciones y analizarlas por triplicado (Quattrochi, O.A., 1992). Así, se determina la curva de regresión:

$$y = bx + a$$

, donde:

- $b$  es la pendiente e indica la sensibilidad del método (respuesta a cambios de concentración del analito).
- $a$  es el intercepto y permite evaluar la proporcionalidad de la función analítica.
- $r$  es el coeficiente de regresión lineal e indica el grado de relación entre las variables. Es recomendable valores  $\geq 0,99$ .
- $r^2$  es el coeficiente de determinación y mide la proximidad del ajuste de la ecuación de la regresión de la muestra a los valores observados de  $y$ .

Para determinar este parámetro de validación se utilizó la curva de calibración de

enrofloxacin, la cual presenta un rango de concentraciones de 2,5 a 25,0 µg/mL y la curva de calibración de ketoprofeno con un rango de concentraciones de 0,25 a 2,5 µg/mL.

Para la verificación de la linealidad se puede tomar lo que indica el coeficiente de variación como expresión de la linealidad. Si este es mayor del 5% indica una falta de linealidad, no existe una relación fuerte entre las variables del estudio.

#### **4.2.1.3 Precisión**

La precisión de un procedimiento analítico expresa la proximidad (grado de la dispersión) entre una serie de medidas obtenidas del muestreo múltiple de la misma muestra homogénea bajo condiciones prescritas (ICH Q2 (R1), 1994; VICH GL2, 1998).

Este parámetro de validación se expresa matemáticamente como la desviación estándar (DS) o el coeficiente de variación (CV) (Quattrochi, O.A., 1992). La desviación estándar, es una medida de dispersión, a mayor desviación estándar, mayor amplitud de distribución, mayor error aleatorio y menor precisión del método y se calcula como:

$$DS = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}{n - 1}}$$

Donde n es el número de medidas,  $X_i$  es el valor medido en el ensayo i y  $\bar{X}$  es el promedio, calculado de la siguiente manera:

$$\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^n X_i}{n}$$

Por otra parte, el coeficiente de variación (CV), se calcula de la siguiente manera:

$$CV = \frac{DS}{\bar{X}} \cdot 100$$

La precisión se debe investigar usando muestras homogéneas y considera dos niveles: reproducibilidad y repetibilidad (ICH Q2 (R1), 1994; VICH GL2, 1998).

### **Repetibilidad**

Este expresa la precisión bajo mismas condiciones de funcionamiento sobre un intervalo corto del tiempo utilizando la misma muestra, analizada por el mismo analista, en el mismo laboratorio, con los mismos equipos y reactivos (ICH Q2 (R1), 1994; VICH GL2, 1998, Castillo, B., 1996).

La determinación de esta medida se llevó a cabo analizando tres concentraciones con seis mediciones cada una. Las concentraciones utilizadas para el enrofloxacino fueron 2,5; 10,0 y 25,0 µg/mL y para el ketoprofeno fueron 0,25; 1,0; 2,5 µg/mL.

El análisis de datos es correcto obteniéndose resultados del coeficiente de variación menores al 3%.

#### **4.2.1.4 Exactitud**

La exactitud es también conocida como el error sistemático o tendencia y corresponde a la diferencia entre el valor obtenido (media) y el valor verdadero.

Matemáticamente se expresa así (Quattrochi, O.A., 1992):

$$R = \frac{X_i}{X_c} \cdot 100$$

Donde  $R$  es el porcentaje de recuperación,  $X_i$  es el valor medio y  $X_0$  es el valor verdadero.

La exactitud debe ser tan pequeña como sea posible para que el valor medido se aproxime al de referencia. Dicho de otro modo, la recuperación del analito debe acercarse al 100%.

El análisis de datos cumple cuando los resultados del porcentaje de recuperación se encuentra entre 98-102%.

Este parámetro fue determinado analizando tres concentraciones por triplicado de soluciones de enrofloxacino y ketoprofeno, las cuales se prepararon a partir de la solución *stock*. Las concentraciones utilizadas para el enrofloxacino fueron 2,5; 10,0 y 25,0  $\mu\text{g/mL}$  y para el ketoprofeno fueron 0,25; 1,0; 2,5  $\mu\text{g/mL}$  respectivamente.

#### 4.2.2 Equipo de disolución

El equipo de disolución utilizado para la realización de este trabajo fue el aparato 2 de la USP, modelo Erweka DT-60.

##### **4.2.2.1 Partes del equipo**

- **Módulo agitador:** es un motor al cual se le conecta un aparato que gira y que permite regular la velocidad de agitación, las cuales están expresadas en rpm. Se recomienda que la velocidad de agitación no exceda de un límite de  $\pm 4\%$  con el fin de asegurar la uniformidad de los datos.
- **Módulo calefactor:** permite mantener la temperatura del baño donde se sumergen los vasos que contienen el medio de disolución.

- **Vasos:** están formados de policarbonato, presentan forma cilíndrica con un fondo semiesférico y con una capacidad de 1000 mL. Tienen una altura de 160 a 210 mm. y un diámetro interno de 98 a 106 mm. En ellos se introduce el medio de disolución, el cual debe mantener una temperatura de  $\pm 0,5$  °C.  
Cabe destacar que el modelo Erweka DT – 60 presenta 6 vasos los cuales son utilizados en el test o cinética de disolución respectivamente, además contiene 1 vaso de reposición.
- **Paletas:** están formadas por acero inoxidable recubierto por un material inerte. Presenta un vástago y un aspa, los cuales comprenden una sola unidad.

#### ***4.2.2.2 Calibración del equipo de disolución***

El ensayo de disolución es un proceso analítico preciso. Un control estricto de todas las operaciones es necesario para obtener resultados reproducibles o que concuerden con los obtenidos en el laboratorio.

Para la calibración del equipo se usan comprimidos calibradores (USP) cuya certificación sea trazable y el resultado de esta prueba deberá estar dentro de los límites de aceptación del lote evaluado.

El equipo de disolución modelo Erweka DT – 60 fue calibrado con comprimidos desintegrables de prednisona de 10 mg USP, Lote O0C056. Para ello se utilizó agua desaireada como medio de disolución, en un volumen de 500 mL. Cabe destacar, que el medio de disolución se mantuvo a una temperatura de  $37 \pm 0,5$  °C y la velocidad de agitación fue de 50 rpm.



La USP especifica para el lote O0C056 que el porcentaje disuelto de prednisona a los 30 minutos para el aparto 2 de la USP debe ser entre 27-48 %.

#### **4.2.2.3 Procedimientos previos a la utilización del equipo**

Para obtener buenos resultados, es importante verificar ciertos requisitos que debe cumplir el equipo previo a su utilización. Entre ellos destacan:

- Inspeccionar la limpieza de las paletas y vasos.
- Seleccionar la velocidad de agitación a la cual se desea trabajar, la cual no debe exceder el límite permitido de  $\pm 4\%$ .
- Controlar la temperatura del baño.
- Inspeccionar la linealidad de los vástagos de las paletas, ya que no deben tener balanceo al rotar.
- Corroborar el nivel del equipo con un nivel de burbuja.
- Comprobar el centrado de los vasos (los vástagos no deben variar más allá de 2 mm. con respecto al eje de los vasos).
- Verificar que el equipo no experimente vibración, de lo contrario, puede cambiar el flujo del líquido y puede introducir energía no deseada al sistema afectando así a la velocidad de disolución.
- La distancia que debe existir entre el fondo del vaso y el borde inferior de la paleta es de 25 mm.
- Verificar que no existan gases disueltos en el medio de disolución, ya que el aire se deposita en las paredes del vaso o en la superficie de la forma farmacéutica en estudio, afectando la velocidad de disolución.

- Controlar la temperatura de cada vaso, la cual debe ser de  $37 \pm 0,5$  °C.

#### 4.2.3 Ensayo de disolución

En esta investigación se realizaron cinéticas de disolución a comprimidos farmacéuticos de liberación inmediata de uso veterinario y con alta prescripción a base de enrofloxacino y ketoprofeno.

##### **4.2.3.1 Cinética de comprimidos de enrofloxacino de 50 mg.**

La USP establece monografías para los diversos principios activos presentes en los medicamentos. Sin embargo, no existe este tipo de información para comprimidos en base a enrofloxacino.

La elección de los medios experimentales de trabajo se basaron en las **propiedades fisicoquímicas del principio activo**, las cuales fueron:

- Aparato usado: aparato 2 de la USP.
- Velocidad de agitación: 50 rpm.
- Tiempo de duración de la cinética: 2:40 horas.
- Alícuota tomada: 10 mL.
- Medio de disolución: HCl 0,01 N.
- Volumen de disolución: 900 mL.
- Método de cuantificación: Espectrofotométrico.
- Longitud de onda utilizada: 277 nm.

En cuanto al producto veterinario usado, se puede decir que:

**TABLA N° 1:** Producto de referencia y de prueba a base de enrofloxacino de 50 mg.

	<b>Producto de Referencia</b>	<b>Producto de prueba</b>
Principio Activo	enrofloxacino	enrofloxacino
Serie	00205	061158/070517
Vencimiento	Abril 2008	Noviembre 2010/Mayo 2010
Registro SAG	917	0602

Los tiempos de muestreo fueron: 5, 7, 9, 12, 15, 25, 35, 45 y 60 minutos. La extracción de la muestra, según la USP, se realiza en el punto medio entre la superficie del líquido contenido en cada vaso y el borde superior de la paleta y a no menos de 1 cm de la pared del vaso.

Una vez finalizada la cinética de disolución, se procede a la cuantificación mediante el método espectrofotométrico del enrofloxacino, utilizando la curva de calibración elaborada y validada, a una longitud de onda de 277 nm.

#### **4.2.3.2 Cinética de comprimidos de enrofloxacino de 150 mg.**

Las condiciones experimentales se basaron en las **propiedades fisicoquímicas del principio activo**, siendo las mismas que las usadas para los comprimidos de enrofloxacino de 50 mg.

- Aparato usado: aparato 2 de la USP.
- Velocidad de agitación: 50 rpm.
- Tiempo de duración de la cinética: 2:40 horas.
- Alícuota tomada: 10 mL.
- Medio de disolución: HCl 0,01 N.
- Volumen de disolución: 900 mL.

- Longitud de onda utilizada: 277 nm.

En cuanto al producto veterinario usado, se puede decir que:

**TABLA N° 2:** Producto de referencia y de prueba a base de enrofloxacino de 150 mg.

	<b>Producto de referencia</b>	<b>Producto de prueba</b>
Principio Activo	enrofloxacino	enrofloxacino
Serie	00405	061158
Vencimiento	Diciembre 2008	Noviembre 2009
Registro SAG	0256	0721

Los tiempos en que se realizó la toma de cada alícuota fueron a los 3, 5, 7, 9, 12, 15, 25, 35, 45 y 60 minutos.

#### **4.2.3.3 Cinética de comprimidos de ketoprofeno de 10 mg.**

Las condiciones de trabajo se basaron en las **propiedades fisicoquímicas** del ketoprofeno, las cuales se trabajaron fueron:

- Aparato usado: aparato 2 de la USP.
- Velocidad de agitación: 50 rpm.
- Tiempo de duración de la cinética: 2:40 horas.
- Alícuota tomada: 10 mL.
- Medio de disolución: Buffer fosfato pH 7,2.
- Volumen de disolución: 900 mL.
- Método de cuantificación: Espectrofotométrico.
- Longitud de onda utilizada: 261 nm.

En cuanto al producto veterinario usado, se puede decir que:

**TABLA N° 3:** Producto de referencia y de prueba a base de ketoprofeno de 10 mg.

	<b>Producto de Referencia</b>	<b>Producto de prueba</b>
Principio Activo	ketoprofeno	ketoprofeno
Serie	A041026	070238
Vencimiento	Julio 2008	Febrero 2010
Registro SAG	853	0583

El medio de disolución fue preparado según lo estipulado en la USP 27 – NF 22, obteniéndose finalmente un pH  $7,2 \pm 0,05$ .

Los tiempos de muestreo fueron: 3, 5, 7, 9, 12, 15, 25, 35, 45 y 60 minutos. La extracción de la muestra, según la USP, se realiza en el punto medio entre la superficie del líquido contenido en cada vaso y el borde superior de la paleta y a no menos de 1 cm de la pared del vaso.

Una vez finalizada la cinética de disolución, se procede a la cuantificación mediante el método espectrofotométrico del ketoprofeno, utilizando la curva de calibración elaborada y validada a una longitud de onda de 261 nm.

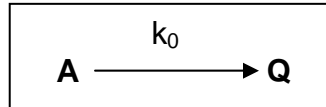
#### 4.2.4 Mecanismo de liberación de los fármacos

La realización de una cinética de disolución permite determinar el orden cinético del proceso de disolución y con ello la constante de velocidad.

Se analizó el mecanismo de liberación de los fármacos mediante modelos cinéticos de orden cero y uno. Además, se compararon los perfiles de disolución mediante el cálculo del factor de similitud y de diferencia.

#### 4.2.4.1 Cinética de orden cero

En este caso, la velocidad de disolución es independiente de la concentración del fármaco disuelto.



A representa la cantidad de la sustancia agregada inicialmente al sistema, Q es la cantidad de esta en solución y  $k_0$  es la constante de velocidad de disolución de orden cero, la variación de Q en función del tiempo queda definida por la ecuación:

$$\boxed{Q_t = k_0 \cdot t}$$

,donde  $Q_t$  es la cantidad de fármaco disuelto en un tiempo t.

La velocidad con que el sólido se disuelve en el disolvente es constante con el tiempo e independiente de la concentración del soluto. Luego, al representar la cantidad que se va disolviendo a diferentes tiempos ( $Q_t$ ) en función del tiempo, se obtiene un gráfico con una recta cuya pendiente o inclinación es la constante de la velocidad del proceso.

#### 4.2.4.2 Cinética de orden uno

Este tipo de cinética es probablemente la más frecuente en los métodos llamados "non sink". A medida que la cantidad de fármaco al estado sólido va disminuyendo, la solución se va enriqueciendo con el soluto. La velocidad de disolución es función de la concentración del fármaco disuelto.

Así se tiene:



Donde A es el fármaco agregado al medio de disolución o la cantidad de fármaco incluido en la forma farmacéutica en estudio, Q es la cantidad de fármaco que aparece en el líquido de disolución en forma disuelta y  $k_d$  es la constante de velocidad de disolución de primer orden. Se puede establecer que la disminución de A en función del tiempo puede expresarse por la siguiente ecuación:

$$\boxed{A_t = A_0 e^{-k_d t}}$$

Donde  $A_t$  es la cantidad de fármaco no disuelto a tiempo t y  $A_0$  es la cantidad de fármaco agregado inicialmente.

Para presentar los resultados de disolución de manera gráfica, se relaciona el porcentaje del fármaco no disuelto y el tiempo:

$$\boxed{\% \text{ no disuelto} = (1 - Q_t/Q_\infty) \times 100}$$

#### **4.2.4.3 Factor de similitud y diferencia**

Los perfiles de disolución pueden considerarse similares en razón de la similitud global de los perfiles y en la similitud en cada punto temporal de disolución de la muestra.

Un enfoque independiente utiliza un factor de diferencia ( $f_1$ ) y un factor de similitud ( $f_2$ ) para comparar los perfiles de disolución (Moore, 1996). El factor de diferencia ( $f_1$ ) calcula la diferencia porcentual (%) entre las dos curvas en cada punto

temporal y es una medida del error relativo entre las dos curvas. Está expresado de la siguiente manera:

$$f_1 = \left\{ \frac{\sum (1-n) (T_{ti} - R_{ti})}{\sum (1-n) R_{ti}} \right\} \times 100$$

Donde n es el número de puntos temporales,  $R_t$  es el valor de disolución del lote de referencia en el tiempo t, y  $T_t$  es el valor de disolución del lote de prueba en el tiempo t.

El factor de similitud ( $f_2$ ) es una transformación de raíz cuadrada recíproca logarítmica de la suma del error cuadrado y es una medición de la similitud en la disolución porcentual (%) entre las dos curvas.

$$f_2 = 50 \log \left\{ \left( 1 + \frac{1}{n} \sum (1-P) D^2 \right)^{-1/2} \right\} \times 100$$

Donde n es el número de puntos y D es la diferencia del porcentaje disuelto en el mismo punto.

Para determinar los factores de diferencia y similitud, hay que considerar lo siguiente:

- Determinar el perfil de disolución de dos productos (12 unidades cada uno): el producto de prueba y el de referencia.
- Usando los valores de disolución medios de ambas curvas en cada intervalo de tiempo, se calcula el factor de diferencia ( $f_1$ ) y el factor de similitud ( $f_2$ ) usando las ecuaciones descritas anteriormente.



- Para que las curvas se consideren similares, los valores de  $f_1$  deberán estar cercanos a cero, y los valores de  $f_2$  deberán estar cerca de 100. Por lo general, los valores de  $f_1$  hasta 15 (0-15) y los valores de  $f_2$  mayores de 50 (50-100) aseguran la igualdad o equivalencia de las dos curvas y, por lo tanto, del rendimiento de los productos de prueba y referencia.

Este método independiente de modelo es más conveniente para la comparación de los perfiles de disolución cuando hay tres a cuatro o más puntos temporales de disolución disponibles. También deben considerarse las siguientes recomendaciones como sugerencias adicionales para el enfoque general:

- Las mediciones de disolución de los lotes de prueba y referencia deben realizarse exactamente bajo las mismas condiciones. Los puntos temporales de disolución para ambos perfiles deberán ser los mismos (por ejemplo, 15, 30, 45, 60 minutos). El lote de referencia utilizado debe ser el del producto fabricado más recientemente antes del cambio.
- Sólo se debe considerar una medición después de la disolución del 85% de ambos productos.
- Para permitir el uso de datos medios, el coeficiente porcentual de variación en los puntos temporales más tempranos no debe ser más del 20%, y en otros puntos temporales no debe ser más del 10%.

## **5. RESULTADOS**

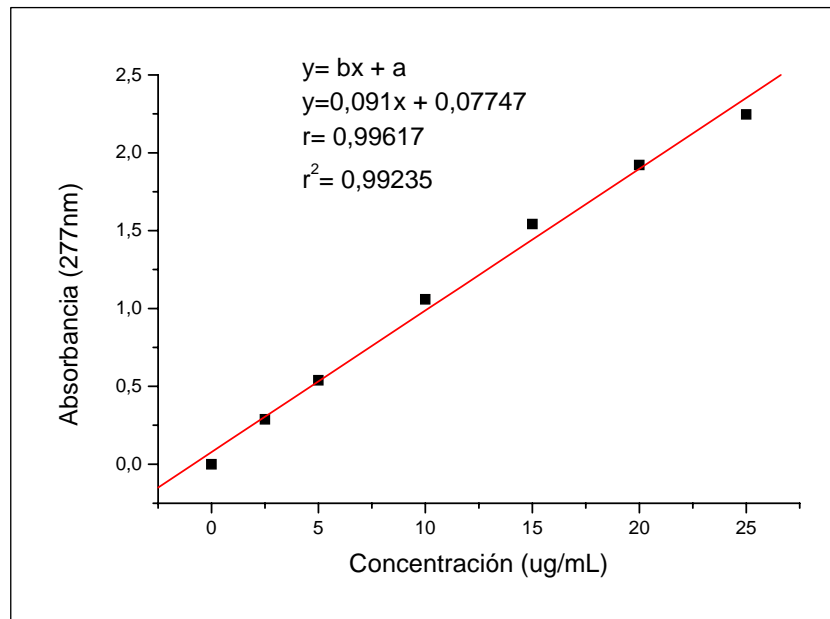
### **5.1 Curva de calibración**

A continuación se presentan los resultados obtenidos de la curva de calibración de enrofloxacin y ketoprofeno.

#### **5.1.1 Enrofloxacin**

Determinación de los distintos parámetros para validar el método analítico utilizado en la cuantificación de enrofloxacin.

**FIGURA N° 3:** Curva de calibración de enrofloxacin



#### **5.1.1.1 Linealidad**

En la tabla N° 4 se observan los resultados obtenidos en el estudio de la linealidad del método espectrofotométrico para enrofloxacin. En ella se presentan las concentraciones preparadas a partir de la solución *stock*, valores de absorbancia

obtenidos por el espectrofotómetro, promedio de las absorbancias obtenidas, desviación estándar y el coeficiente de variación. Además, se detalla la ecuación de la recta obtenida mediante el cálculo de regresión lineal por el método de los cuadrados mínimos.

**TABLA N° 4:** Resultados obtenidos en el estudio de linealidad del método espectrofotométrico para enrofloxacino.

<b>Concentración (µg/mL)</b>	<b>Absorb.1</b>	<b>Absorb.2</b>	<b>Absorb.3</b>	<b>Promedio</b>	<b>D.S</b>	<b>C.V</b>
0,0000	-0,0001	0,0001	0,0000	0,0000	0,0001	0,00 %
2,5000	0,2880	0,2831	0,2900	0,2870	0,0036	1,24 %
5,0000	0,5393	0,5455	0,5583	0,5477	0,0097	1,77 %
10,0000	1,0586	1,0909	1,1057	1,0851	0,0241	2,22 %
15,0000	1,5424	1,5879	1,6135	1,5813	0,0360	2,28 %
20,0000	1,9207	1,9913	2,0156	1,9759	0,0493	2,49 %
25,0000	2,2456	2,2800	2,3197	2,2818	0,0371	1,63 %

La ecuación de la recta se expresa de la siguiente manera:  $y = bx + a$ , donde  $y$  es la absorbancia,  $b$  es la pendiente,  $x$  es la concentración expresada en µg/mL y  $a$  es el intercepto.

De esta manera, se obtuvieron los siguientes valores de coeficiente de correlación, coeficiente de determinación, intercepto y pendiente de la recta:  $r = 0,99557$ ,  $r^2 = 0,99116$ ,  $a = 0,07813$ ,  $b = 0,09306$ , cumpliendo con las especificaciones otorgada por la ICH Q2 (R1) y VICH GL2.

### **5.1.1.2 Precisión**

Los resultados de la precisión del enrofloxacino como repetibilidad se pueden visualizar en la tabla N° 5, donde se presentan los valores de las diferentes absorbancias obtenidas en condiciones de repetibilidad para soluciones de

enrofloxacino con concentraciones de 2,5; 10,0 y 25,0 µg/mL. Además, se indica el promedio de las absorbancias obtenidas, la desviación estándar y el coeficiente de variación.

**TABLA N° 5:** Resultados de repetibilidad del método espectrofotométrico utilizando las concentraciones señaladas.

<b>Conc. (µg/mL)</b>	<b>Absorbancias obtenidas</b>						<b>X</b>	<b>D.S</b>	<b>C.V</b>
2,5	0,289	0,272	0,275	0,273	0,275	0,288	0,279	0,0077	2,77%
10,0	1,077	1,060	1,060	1,064	1,056	1,053	1,062	0,0084	0,79%
25,0	2,258	2,257	2,254	2,260	2,263	2,268	2,260	0,0049	0,22%

De acuerdo a estos resultados, se cumple con lo estipulado por la ICH Q2 (R1) y VICH GL2.

### **5.1.1.3 Exactitud**

Los resultados para la determinación de este parámetro son presentados en la tabla N° 6, donde se indican las concentraciones de las soluciones preparadas de enrofloxacino, la absorbancia y concentración obtenida, promedio de las concentraciones, desviación estándar, coeficiente de variación y el porcentaje de recuperación.

La diferencia entre el valor obtenido (media) y el valor verdadero se expresa así:

$$R = \frac{X_i}{X_c} \cdot 100$$

**TABLA N° 6:** Resultados de la determinación de exactitud del método espectrofotométrico.

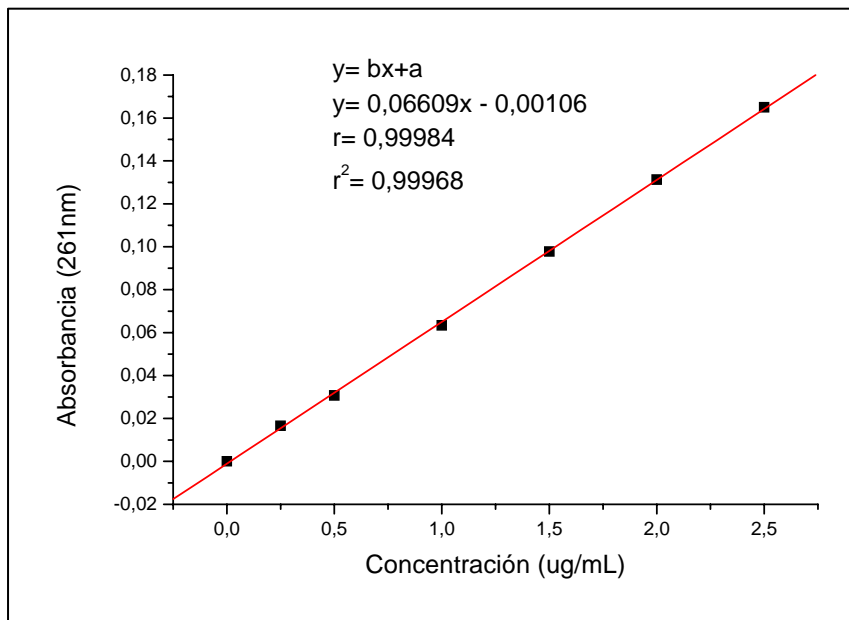
Conc. (µg/mL)	Absorb.	Conc. determinada	X	D.S	C.V	% de Recup.
2,5	0,304	2,4861	2,4876	0,0013	0,05 %	99,44 %
2,5	0,304	2,4883				99,53 %
2,5	0,304	2,4883				99,53 %
10,0	1,091	10,1130	10,114	0,0006	0,01 %	101,13 %
10,0	1,901	10,1140				101,14 %
10,0	1,901	10,1140				101,14 %
25,0	2,241	24,7760	24,786	0,0140	0,06 %	99,10 %
25,0	2,241	24,7800				99,12 %
25,0	2,243	24,8020				99,21 %
<b>Promedio</b>				0,0053	0,04 %	100,10 %

Los resultados obtenidos cumplen con lo especificado por la ICH Q2 (R1) y VICH GL2.

### 5.1.2 Ketoprofeno

Se determinaron los distintos parámetros para validar el método analítico utilizado en la cuantificación de ketoprofeno.

En la figura N° 4 se presenta la curva de calibración utilizada para ketoprofeno. En ella se puede observar, además, la ecuación de la recta obtenida mediante el cálculo de regresión lineal, donde se detalla el coeficiente de correlación, el de determinación, el intercepto y la pendiente de la recta.

**FIGURA N° 4:** Curva calibración ketoprofeno

### 5.1.1.1 Linealidad

En la tabla N° 7 se observan los resultados obtenidos en el estudio de la linealidad del método espectrofotométrico para ketoprofeno. En ella se presentan las concentraciones preparadas a partir de la solución *stock*, valores de absorbancia, promedio de las absorbancias obtenidas, desviación estándar y el coeficiente de variación. Además, se detalla la ecuación de la recta obtenida mediante el cálculo de regresión lineal por el método de los cuadrados mínimos.

**TABLA N° 7:** Resultados obtenidos en el estudio de linealidad del método espectrofotométrico para ketoprofeno.

Concentración (µg/mL)	Absorb.1	Absorb.2	Absorb.3	Promedio	D.S	C.V
0,0000	0,0000	0,0000	-0,0001	0,0000	0,0001	0,00 %
0,2500	0,0166	0,0167	0,0140	0,0158	0,0015	9,71 %
0,5000	0,0307	0,0357	0,0311	0,0325	0,0028	8,55 %
1,0000	0,0634	0,0679	0,0655	0,0656	0,0023	3,43 %
1,5000	0,0978	0,1003	0,1003	0,0995	0,0014	1,45 %
2,0000	0,1313	0,1328	0,1307	0,1316	0,0011	0,82 %
2,5000	0,1650	0,1630	0,1603	0,1628	0,0024	1,45 %

Matemáticamente, la ecuación de la recta se expresa como:  $y = bx + a$ , donde  $y$  es la absorbancia,  $b$  es la pendiente,  $x$  es la concentración expresada en µg/mL y  $a$  es el intercepto.

Mediante el cálculo de regresión lineal, se obtiene que:  $r = 0,99993$ ,  $r^2 = 0,99986$ ,  $a = -4,64164 \times 10^{-5}$ ,  $b = 0,06556$ , cumpliendo de ésta manera por lo especificado por la ICH Q2 (R1) y VICH GL2.

#### **5.1.1.2 Precisión**

Los resultados de la determinación de precisión de la curva de calibración de ketoprofeno como repetibilidad se pueden visualizar en la tabla N° 8, donde se presentan los valores de las diferentes absorbancias obtenidas en condiciones de repetibilidad para soluciones de ketoprofeno preparadas en concentraciones de 0,25; 1,0 y 2,5 µg/mL. Es importante destacar que en ella se indica el promedio de las absorbancias obtenidas, la desviación estándar y el coeficiente de variación.

**TABLA N° 8:** Resultados de repetibilidad del método espectrofotométrico de ketoprofeno en las concentraciones señaladas.

<b>Conc. (µg/mL)</b>	<b>Absorbancias obtenidas</b>						<b>X</b>	<b>D.S</b>	<b>C.V</b>
0,25	0,012	0,013	0,013	0,013	0,013	0,013	0,013	0,0004	3,18%
1,00	0,060	0,061	0,060	0,061	0,062	0,062	0,061	0,0009	1,47%
2,50	0,166	0,165	0,164	0,165	0,164	0,164	0,165	0,0008	0,50%

Los resultados obtenidos cumple con lo estipulado por la ICH Q2 (R1) y VICH GL2.

### **5.1.1.3 Exactitud**

En la tabla N° 9 son presentados los resultados para la determinación de este parámetro, donde se indican las concentraciones de las soluciones preparadas de ketoprofeno, la absorbancia y concentración obtenida, promedio de las concentraciones dadas por el espectrofotómetro, desviación estándar, coeficiente de variación y el porcentaje de recuperación.

La exactitud corresponde a la diferencia entre el valor obtenido (media) y el valor verdadero. Matemáticamente se expresa como:

$$R = \frac{X_i}{X_c} \cdot 100$$



**TABLA N° 9:** Resultados de la determinación de exactitud del método espectrofotométrico.

<b>Conc. (µg/mL)</b>	<b>Absorb.</b>	<b>Conc. determinada</b>	<b>X</b>	<b>D.S</b>	<b>C.V</b>	<b>% de Recup.</b>
0,25	0,0164	0,2475	0,2470	0,0009	0,35 %	99,00 %
0,25	0,0163	0,2475				99,00 %
0,25	0,0162	0,2460				98,40 %
1,00	0,0678	1,0158	1,0100	0,0075	0,74 %	101,58 %
1,00	0,0680	1,0126				101,26 %
1,00	0,0675	1,0015				101,15 %
2,50	0,1590	2,5367	2,5341	0,0032	0,12 %	101,47 %
2,50	0,1585	2,5351				101,40 %
2,50	0,1570	2,5306				101,22 %
<b>Promedio</b>				0,0038	0,41 %	100,39 %

Se puede apreciar que estos resultados cumple con lo especificado por la ICH Q2 (R1) y VICH GL2.

## 5.2 Cinética de disolución

Se realizaron cinéticas de disolución de comprimidos de uso veterinario a base de enrofloxacino de 50 y 150 mg y ketoprofeno de 10 mg, analizando el producto de referencia y el de prueba. Cabe destacar que las cinéticas fueron estudiadas por duplicado (12 unidades en total).

A continuación se presentan los resultados obtenidos de las cinéticas realizadas.

### 5.2.1 Cinéticas de comprimidos a base de enrofloxacino

Se evaluaron cinéticas de los comprimidos del producto de referencia y el de prueba por duplicado.

### **5.2.1.1 Cinéticas de comprimidos a base de enrofloxacino de 50 mg del producto de referencia y de prueba**

En las tablas N° 10 y 11 se presentan los resultados obtenidos para la cinética del producto de referencia y el de prueba. En ambas tablas se indica el tiempo de muestreo, el porcentaje disuelto promedio de los 12 comprimidos utilizados, además, de la desviación estándar y el coeficiente de variación.

En la figura N° 5 se puede apreciar la comparación de los perfiles de disolución del producto de referencia y el de prueba.

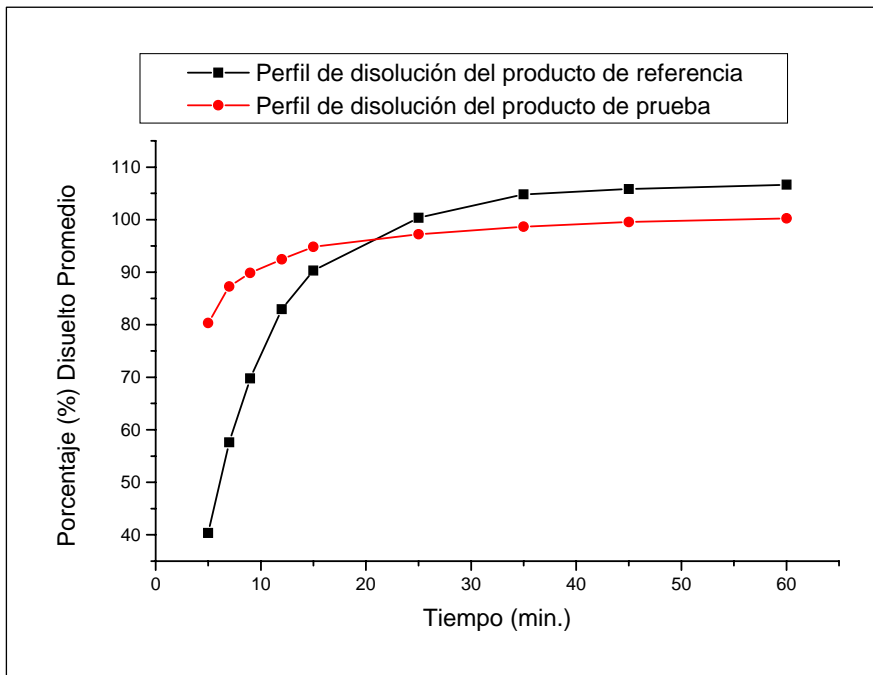
**TABLA N° 10:** Resultados de las cinéticas de disolución del producto de referencia de comprimidos de enrofloxacino de 50 mg.

<b>Tiempo (min.)</b>	<b>Porcentaje Disuelto Promedio</b>	<b>D.S</b>	<b>C.V</b>
5	40,35	8,64	21,41 %
7	57,59	8,09	14,04 %
9	69,76	6,05	8,67 %
12	82,95	4,42	5,33 %
15	90,30	5,43	6,01 %
25	100,32	5,25	5,24 %
35	104,82	3,99	3,81 %
45	105,90	3,52	3,33 %
60	106,67	3,14	2,94 %

**TABLA N° 11:** Resultados de las cinéticas de disolución del producto de prueba de comprimidos de enrofloxacino de 50 mg.

Tiempo (min.)	Porcentaje Disuelto Promedio	D.S	C.V
5	80,32	11,56	14,39 %
7	87,27	9,48	10,86 %
9	89,87	7,48	8,32 %
12	92,45	6,84	7,39 %
15	94,81	7,84	8,27 %
25	97,22	7,27	7,48 %
35	98,66	7,04	7,13 %
45	99,54	6,59	6,62 %
60	100,24	6,27	6,25 %

**FIGURA N° 5:** Comparación de los perfiles de disolución del producto de referencia y el de prueba de comprimidos de enrofloxacino de 50 mg.



### **5.2.1.2 Cinéticas de comprimidos a base de enrofloxacino de 150 mg del producto de referencia y de prueba**

Los resultados obtenidos para las respectivas cinéticas se presentan en las tablas N° 12 y 13 donde se indica el tiempo de muestreo, el porcentaje disuelto promedio de los 12 comprimidos utilizados, además de la desviación estándar y el coeficiente de variación.

En la figura N° 6 se puede apreciar la comparación de los perfiles de disolución del producto de referencia y el de prueba.

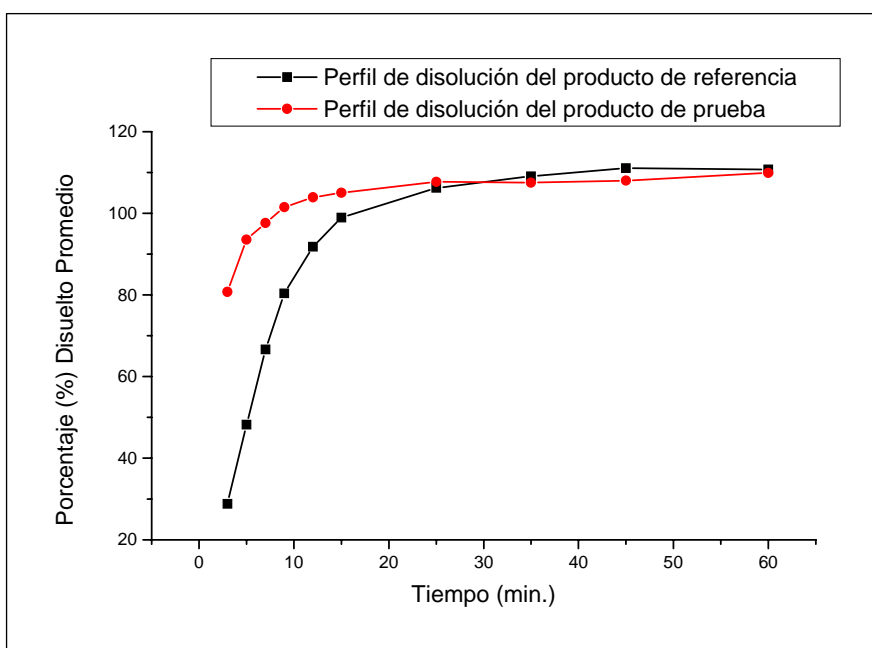
**TABLA N° 12:** Resultados de las cinéticas de disolución del producto de referencia de comprimidos de enrofloxacino de 150 mg.

<b>Tiempo (min.)</b>	<b>Porcentaje Disuelto Promedio</b>	<b>D.S</b>	<b>C.V</b>
3	28,79	5,14	17,84 %
5	48,20	6,92	14,35 %
7	66,65	10,42	15,64 %
9	80,38	10,80	13,44 %
12	91,79	8,85	9,64 %
15	98,96	5,54	5,59 %
25	106,22	1,67	1,57 %
35	109,06	1,50	1,37 %
45	111,07	1,43	1,28 %
60	110,75	1,02	0,92 %

**TABLA N° 13:** Resultados de las cinéticas de disolución del producto de prueba de comprimidos de enrofloxacin de 150 mg.

Tiempo (min.)	Porcentaje Disuelto Promedio	D.S	C.V
3	80,76	7,38	9,13 %
5	93,54	6,99	7,47 %
7	97,61	6,18	6,33 %
9	101,47	5,91	5,82 %
12	103,89	5,27	5,07 %
15	105,01	5,46	5,20 %
25	107,70	3,48	3,23 %
35	107,50	4,30	4,00 %
45	108,03	4,91	4,54 %
60	109,87	4,46	4,06 %

**FIGURA N° 6:** Comparación de los perfiles de disolución del producto de referencia y el de prueba de comprimidos de enrofloxacin de 150 mg.



### 5.2.2 Cinética de comprimidos a base de ketoprofeno de 10 mg.

En las tablas N° 14 y 15 se presentan los resultados obtenidos para las cinéticas del producto de referencia y de prueba, donde se indica el tiempo de muestreo, el

porcentaje disuelto promedio de los 12 comprimidos utilizados, además de la desviación estándar y el coeficiente de variación.

En la figura N° 7 se puede apreciar la comparación de los perfiles de disolución del producto de referencia y el de prueba.

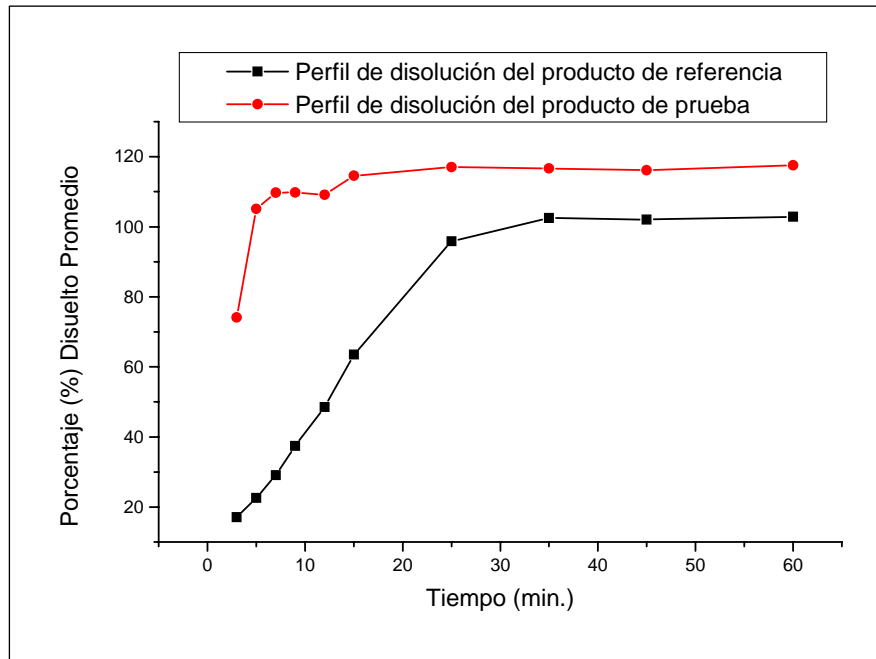
**TABLA N° 14:** Resultados de las cinéticas de disolución del producto de referencia de ketoprofeno de 10 mg.

<b>Tiempo (min.)</b>	<b>Porcentaje Disuelto Promedio</b>	<b>D.S</b>	<b>C.V</b>
3	17,05	3,73	21,86 %
5	22,59	3,18	14,09 %
7	29,08	3,07	10,55 %
9	37,42	4,86	13,00 %
12	48,54	6,03	12,41 %
15	63,49	9,78	15,40 %
25	95,10	6,21	6,53 %
35	102,48	3,87	3,78 %
45	102,06	2,91	2,85 %
60	102,86	3,02	2,94 %

**TABLA N° 15:** Resultados de las cinéticas de disolución del producto de prueba de ketoprofeno de 10 mg.

<b>Tiempo (min.)</b>	<b>Porcentaje Disuelto Promedio</b>	<b>D.S</b>	<b>C.V</b>
3	74,09	13,77	18,58 %
5	105,14	14,39	13,69 %
7	109,75	13,05	11,89 %
9	109,82	13,98	12,73 %
12	109,11	10,83	9,92 %
15	114,55	6,64	5,80 %
25	117,04	7,43	6,35 %
35	116,65	7,84	6,72 %
45	116,16	9,14	7,87 %
60	117,59	10,51	8,94 %

**FIGURA N° 7:** Comparación de los perfiles de disolución de producto de referencia y el de prueba de comprimidos de ketoprofeno de 10 mg.



### 5.3 Mecanismos de liberación de los fármacos

Se analizó el mecanismo de liberación de los fármacos mediante modelos cinéticos de orden cero y uno. Además, se compararon los perfiles de disolución calculando el factor de similitud y de diferencia.

#### 5.3.1 Cinética de orden cero

En una cinética de orden cero, la velocidad de disolución es independiente de la concentración del fármaco disuelto.

##### **5.3.1.1 Comprimidos a base de enrofloxacin de 50 mg.**

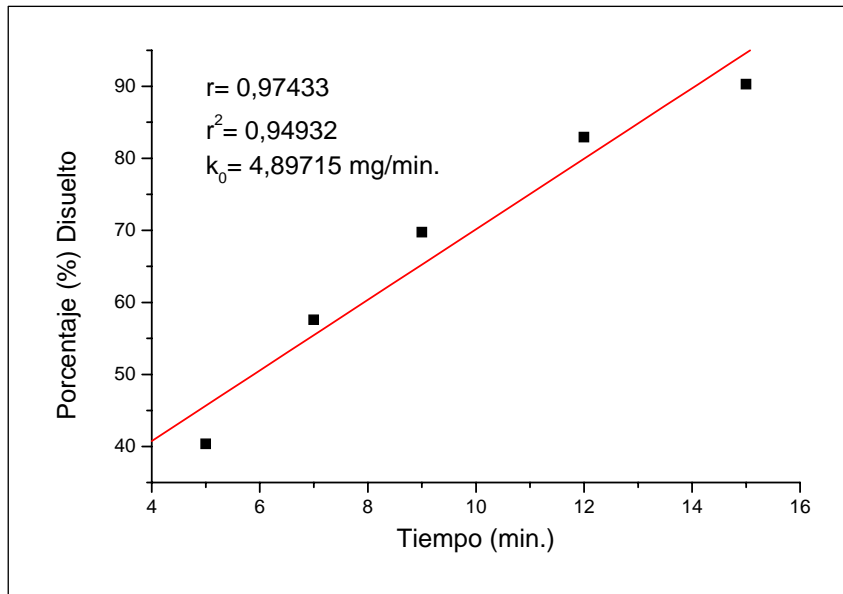
En las tablas N° 16 y 17 se presenta el tiempo y el porcentaje disuelto obtenidos luego de realizar las cinéticas pertinentes a comprimidos a base de enrofloxacin de 50 mg.

En las figuras N° 8 y 9 se ilustran los gráficos del porcentaje disuelto en función del tiempo tanto para el producto de referencia como para el de prueba, considerando hasta el tiempo donde se supera el 85% de disolución para el producto de referencia.

**TABLA N° 16:** Tiempo y porcentaje disuelto para el producto de referencia de comprimidos a base de enrofloxacin de 50 mg.

Tiempo (min.)	Porcentaje disuelto promedio
5	40,35 %
7	57,59 %
9	69,76 %
12	82,95 %
15	90,30 %
25	100,32 %
35	104,82 %
45	105,90 %
60	106,67 %

**FIGURA N° 8:** Gráfico del porcentaje disuelto en función del tiempo para el producto de referencia de comprimidos a base de enrofloxacin de 50 mg.

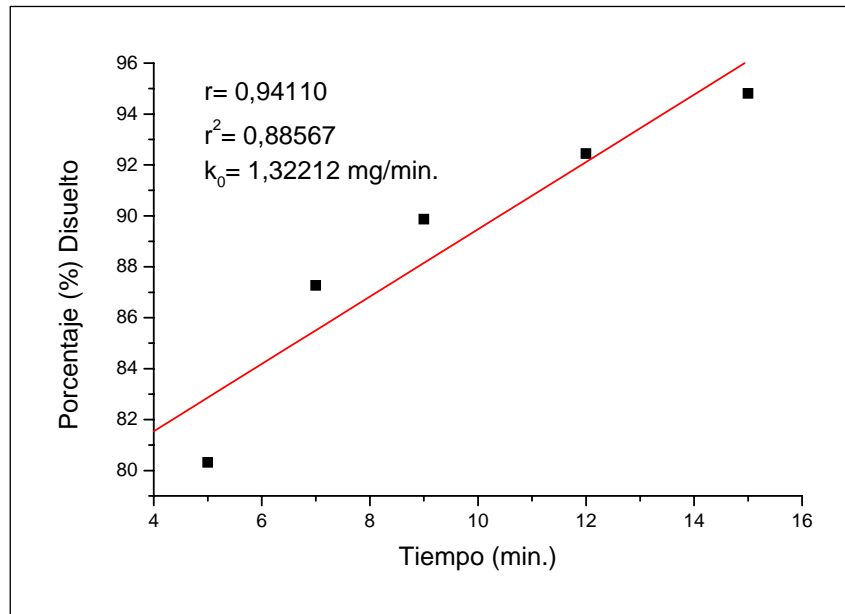




**TABLA N° 17:** Tiempo y porcentaje disuelto para el producto de prueba de comprimidos a base de enrofloxacino de 50 mg.

Tiempo (min.)	Porcentaje disuelto promedio
5	80,32 %
7	87,27 %
9	89,87 %
12	92,45 %
15	94,81 %
25	97,22 %
35	98,66 %
45	99,54 %
60	100,24 %

**FIGURA N° 9:** Gráfico del porcentaje disuelto en función del tiempo para el producto de prueba de comprimidos a base de enrofloxacino de 50 mg.



### **5.3.1.2 Comprimidos a base de enrofloxacino de 150 mg.**

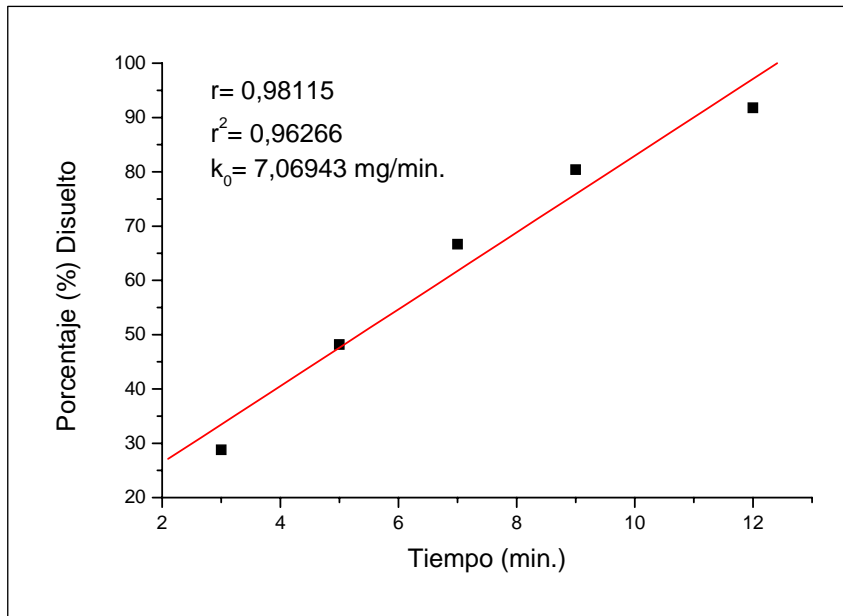
El tiempo y el porcentaje disuelto promedio obtenidos luego de realizar las cinéticas pertinentes se presenta en las tablas N° 18 y 19.

En las figuras N° 10 y 11 se ilustran los gráficos del porcentaje disuelto en función del tiempo tanto para el producto de referencia como para el de prueba, considerando hasta el tiempo donde existe un punto superior al 85% de disolución para el producto de referencia.

**TABLA N° 18:** Tiempo y porcentaje disuelto para el producto de referencia de comprimidos a base de enrofloxacino de 150 mg.

<b>Tiempo (min.)</b>	<b>Porcentaje disuelto promedio</b>
3	28,79 %
5	48,20 %
7	66,65 %
9	80,38 %
12	91,76 %
15	98,96 %
25	106,22 %
35	109,06 %
45	111,07 %
60	110,75 %

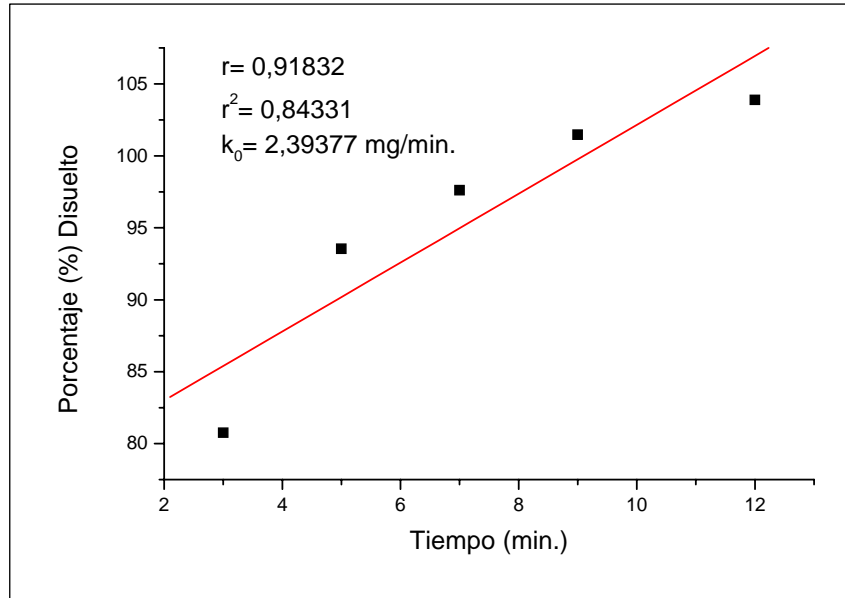
**FIGURA N° 10:** Gráfico del porcentaje disuelto en función del tiempo para el producto de referencia de comprimidos a base de enrofloxacinó de 150 mg.



**TABLA N° 19:** Tiempo y porcentaje disuelto para el producto de prueba de comprimidos a base de enrofloxacinó de 150 mg.

Tiempo (min.)	Porcentaje disuelto promedio
3	80,76 %
5	93,54 %
7	97,61 %
9	101,47 %
12	103,89 %
15	105,01 %
25	107,70 %
35	107,50 %
45	108,03 %
60	109,87 %

**FIGURA N° 11:** Gráfico del porcentaje disuelto en función del tiempo para el producto de prueba de comprimidos a base de enrofloxacino de 150 mg.



### **5.3.1.3 Comprimidos a base de ketoprofeno de 10 mg.**

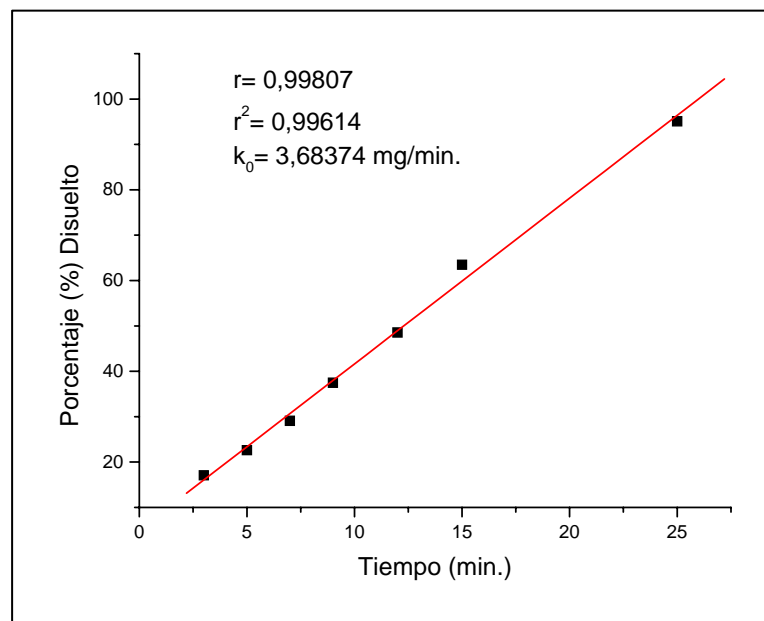
En las tablas N° 20 y 21 se presenta el tiempo, la cantidad de fármaco disuelto, el porcentaje disuelto y el valor de la constante de velocidad obtenidos luego de realizar las cinéticas a comprimidos de uso veterinario a base de ketoprofeno de 10 mg.

En las figuras N° 12 y 13 se ilustran los gráficos del porcentaje disuelto en función del tiempo, tanto para el producto de referencia como para el de prueba, considerando hasta el tiempo donde existe un punto superior al 85% de disolución para el producto de referencia.

**TABLA N° 20:** Tiempo y porcentaje disuelto para el producto de referencia de comprimidos a base de ketoprofeno de 10 mg.

Tiempo (min.)	Porcentaje disuelto promedio
3	17,05 %
5	22,59 %
7	29,08 %
9	37,48 %
12	48,54 %
15	63,49 %
25	95,10 %
35	102,49 %
45	102,07 %
60	102,86 %

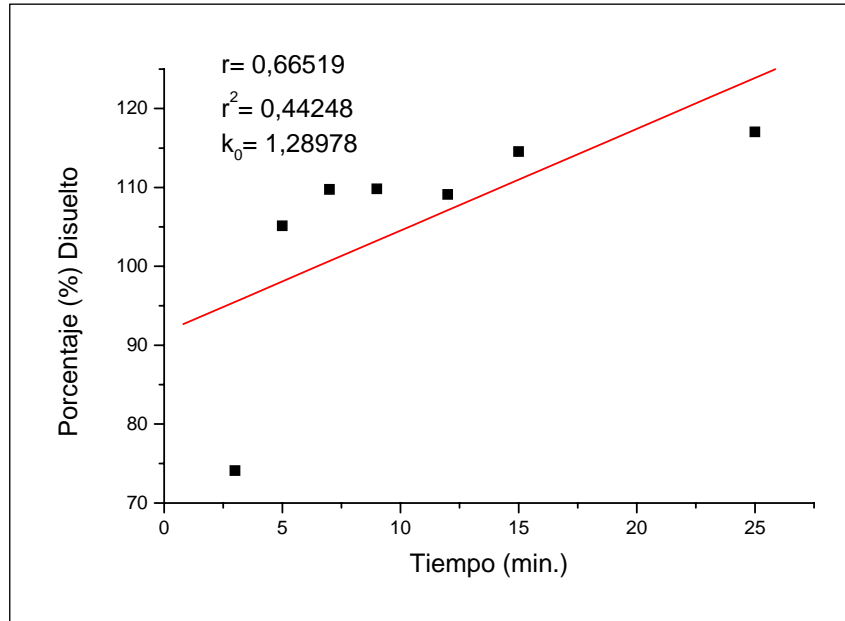
**FIGURA N° 12:** Gráfico del porcentaje disuelto en función del tiempo para el producto de referencia de comprimidos a base de ketoprofeno de 10 mg.



**TABLA N° 21:** Tiempo y porcentaje disuelto para el producto de prueba de comprimidos a base de ketoprofeno de 10 mg.

Tiempo (min.)	Porcentaje disuelto promedio
3	74,09 %
5	105,14 %
7	109,75 %
9	109,82 %
12	109,11 %
15	114,55 %
25	117,04 %
35	116,65 %
45	116,16 %
60	117,59 %

**FIGURA N° 13:** Gráfico del porcentaje disuelto en función del tiempo para el producto de prueba de comprimidos a base de ketoprofeno de 10 mg.



### 5.3.2 Cinética de orden uno

En una cinética de orden uno, la velocidad del proceso depende de la cantidad de fármaco.

#### **5.3.2.1 Comprimidos en base a enrofloxacino de 50 mg.**

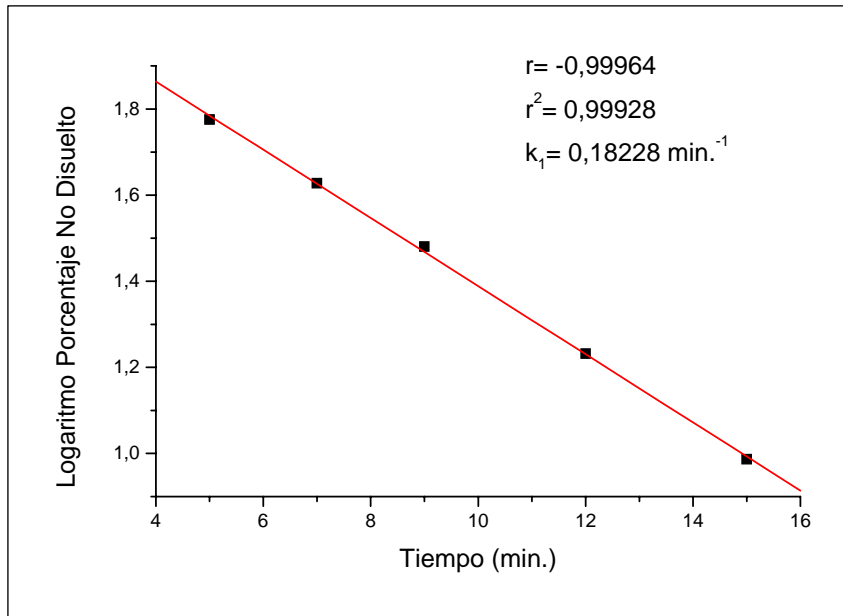
En las tablas N° 22 y 23 se presenta el tiempo y el logaritmo del porcentaje no disuelto, considerando hasta el tiempo donde existe un punto superior al 85% de disolución para el producto de referencia, obtenido luego de realizar las cinéticas pertinentes a comprimidos de uso veterinario a base de enrofloxacino de 50 mg.

En las figuras N° 14 y 15 se ilustran los gráficos del logaritmo del porcentaje no disuelto en función del tiempo tanto para el producto de referencia como para el de prueba, considerando hasta el tiempo donde existe un punto superior al 85% de disolución para el producto de referencia.

**TABLA N° 22:** Tiempo y logaritmo del porcentaje no disuelto para el producto de referencia a base de enrofloxacino de 50 mg.

<b>Tiempo (min.)</b>	<b>Log porcentaje no disuelto promedio</b>
5	1,7756
7	1,6275
9	1,4806
12	1,2318
15	0,9868

**FIGURA N° 14:** Gráfico del logaritmo del porcentaje no disuelto versus tiempo para el producto de referencia a base de enrofloxacino de 50 mg.

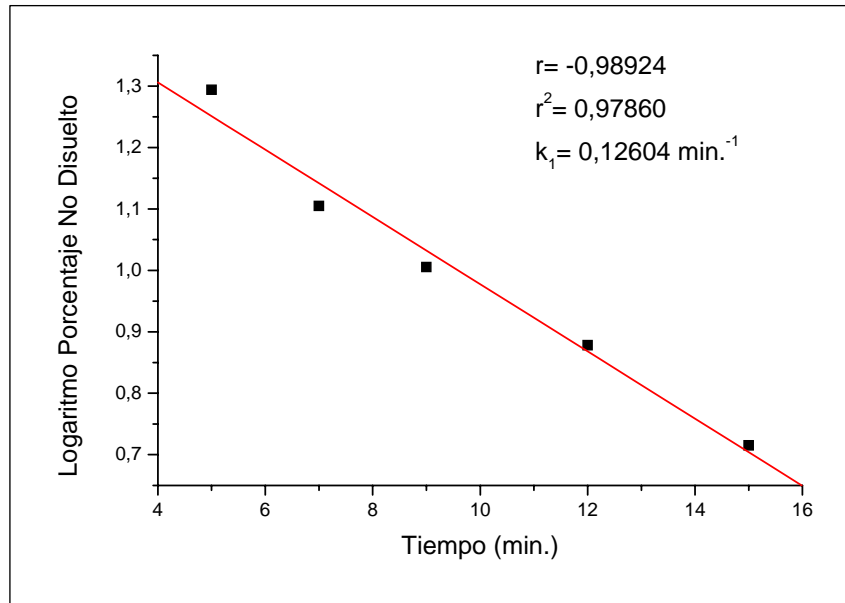


**TABLA N° 23:** Tiempo y logaritmo del porcentaje no disuelto para el producto de prueba a base de enrofloxacino de 50 mg.

Tiempo (min.)	Log porcentaje no disuelto promedio
5	1,2940
7	1,1048
9	1,0055
12	0,8782
15	0,7151



**FIGURA N° 15:** Gráfico del logaritmo del porcentaje no disuelto versus tiempo para el producto de prueba a base de enrofloxacino de 50 mg.



### 5.3.2.2 Comprimidos en base a enrofloxacino de 150 mg.

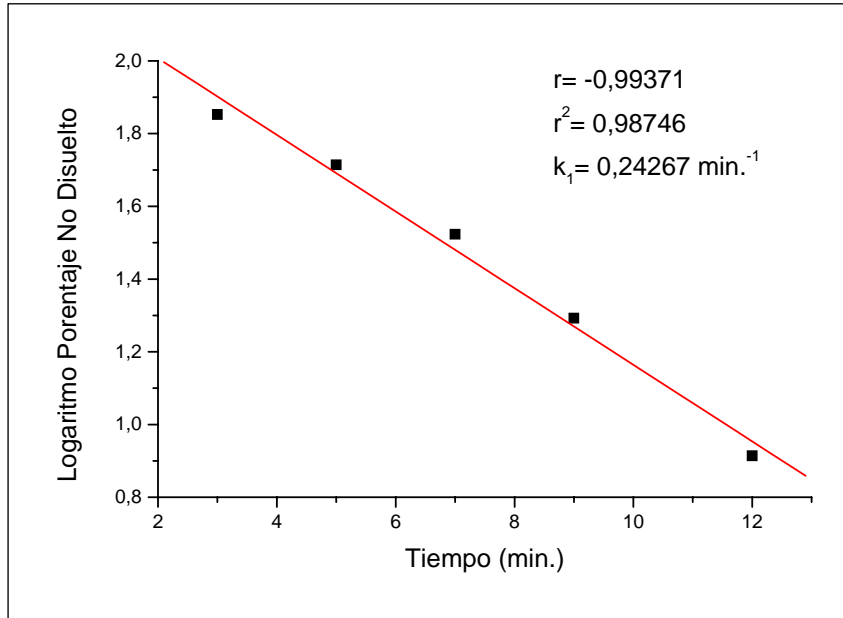
El tiempo y el logaritmo del porcentaje no disuelto del producto de referencia y el de prueba de comprimidos a base de enrofloxacino de 150 mg. se presentan en las tablas N° 24 y 25. Cabe destacar que se consideró hasta el tiempo donde existía un punto superior al 85% de disolución para el producto de referencia.

Los gráficos del logaritmo del porcentaje no disuelto en función del tiempo se ilustran en las figuras N° 16 y 17.

**TABLA N° 24:** Tiempo y logaritmo del porcentaje no disuelto para el producto de referencia a base de enrofloxacino de 150 mg.

Tiempo (min.)	Log porcentaje no disuelto promedio
3	1,8525
5	1,7143
7	1,5231
9	1,2927
12	0,9141

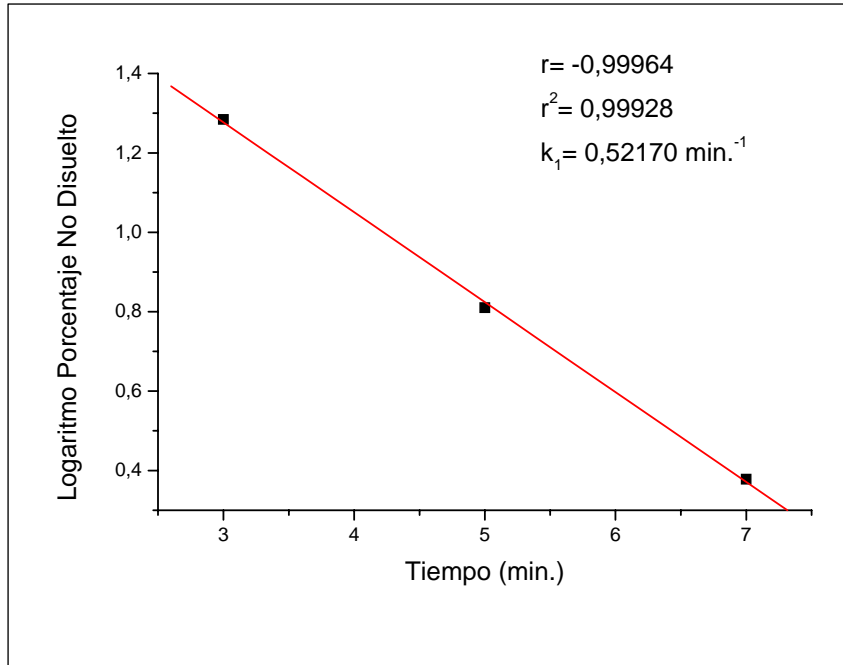
**FIGURA N° 16:** Gráfico del logaritmo del porcentaje no disuelto versus tiempo para el producto de referencia a base de enrofloxacino de 150 mg.



**TABLA N° 25:** Tiempo y logaritmo del porcentaje no disuelto para el producto de prueba a base de enrofloxacino de 150 mg.

Tiempo (min.)	Log porcentaje no disuelto promedio
3	1,2842
5	0,8100
7	0,3781

**FIGURA N° 17:** Gráfico del logaritmo del porcentaje no disuelto versus tiempo para el producto de prueba a base de enrofloxacino de 150 mg.



### 5.3.2.3 Comprimidos a base de ketoprofeno de 10 mg.

En la tabla N° 26 se presenta el tiempo y el logaritmo del porcentaje no disuelto del producto de referencia y de comprimidos a base de ketoprofeno de 10 mg, considerando hasta el tiempo donde existía un punto superior al 85% de disolución para el producto de referencia.

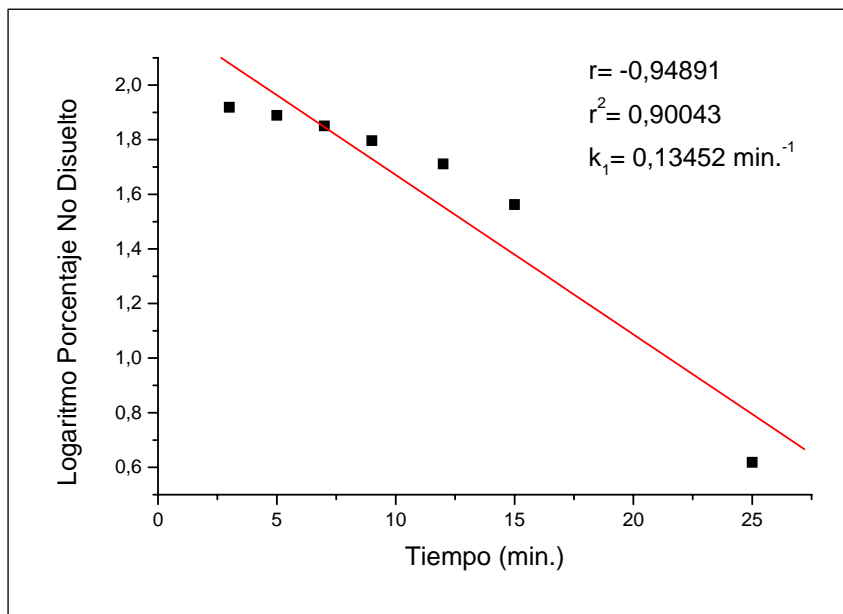
El gráfico del logaritmo del porcentaje no disuelto en función del tiempo se ilustra en las figuras N° 18.

No es posible graficar el producto de prueba, ya que presenta un porcentaje disuelto mucho mayor y a los 5 minutos se tiene más del 100% disuelto, por lo tanto, no existen suficientes puntos que permitan analizar este producto mediante el modelo cinético de orden uno.

**TABLA N° 26:** Tiempo y logaritmo del porcentaje no disuelto para el producto de referencia a base de ketoprofeno de 10 mg.

Tiempo (min.)	Log porcentaje no disuelto promedio
3	1,9188
5	1,8888
7	1,8507
9	1,7964
12	1,7115
15	1,5624
25	0,6902

**FIGURA N° 18:** Gráfico del logaritmo del porcentaje no disuelto versus tiempo para el producto de referencia a base de ketoprofeno de 10 mg.



### 5.3.3 Factores de similitud y diferencia

El factor de diferencia ( $f_1$ ) calcula la diferencia porcentual entre las dos curvas en cada punto temporal y es una medida del error relativo entre las dos curvas.

El factor de similitud ( $f_2$ ) es una transformación de raíz cuadrada recíproca logarítmica de la suma del error cuadrado y es una medición de la similitud en la disolución porcentual entre las dos curvas.

A continuación se presentan los resultados del cálculo de ambos factores para los comprimidos de enrofloxacino de 50 y 150 mg, y ketoprofeno de 10 mg.

#### **5.3.3.1 Comprimidos a base de enrofloxacino de 50 mg.**

En la tabla N° 27 se presentan los resultados obtenidos luego de calcular el factor de diferencia ( $f_1$ ) y el factor de similitud ( $f_2$ ), tanto para el producto de referencia como para el de prueba, además se indican los tiempos de muestreos y los porcentajes disueltos.

**TABLA N° 27:** Factor de diferencia y similitud calculado al producto de referencia y de prueba.

<b>Tiempo (min.)</b>	<b>Porcentaje disuelto producto de referencia</b>	<b>Porcentaje disuelto producto de prueba</b>	<b><math>f_1</math></b>	<b><math>f_2</math></b>
5	40,35	80,32	99,03	19,91
7	57,59	87,27	71,11	22,66
9	69,76	89,87	53,52	25,42
12	82,95	92,45	39,60	28,21
15	90,30	94,81	30,43	30,55

### 5.3.3.2 Comprimidos a base de enrofloxacino de 150 mg.

Los resultados obtenidos luego de calcular el factor de diferencia ( $f_1$ ) y el factor de similitud ( $f_2$ ), tanto para el producto de referencia como para el de prueba se presentan en la tabla N° 28, además se indican los tiempos de muestreos y los porcentajes disueltos.

**TABLA N° 28:** Factor de diferencia y similitud calculado al producto de referencia y de prueba.

Tiempo (min.)	Porcentaje disuelto producto de referencia	Porcentaje disuelto producto de prueba	$f_1$	$f_2$
3	28,79	80,76	180,47	14,21
5	48,20	93,54	126,37	15,59
7	66,65	97,61	89,29	18,00
9	80,38	101,47	66,67	20,31
12	91,79	103,89	51,12	22,47

### 5.3.3.3 Comprimidos a base de ketoprofeno de 10 mg.

Los resultados obtenidos luego de calcular el factor de diferencia ( $f_1$ ) y el factor de similitud ( $f_2$ ), tanto para el producto de referencia como para el de prueba de comprimidos de ketoprofeno de 10 mg se presentan en la tabla N° 29, además, se indican los tiempos de muestreos y los porcentajes disueltos.

**TABLA N° 29:** Factor de diferencia y similitud calculado al producto de referencia y de prueba.

Tiempo (min.)	Porcentaje disuelto producto de referencia	Porcentaje disuelto producto de prueba	$f_1$	$f_2$
3	17,05	74,09	334,57	12,19
5	22,59	105,14	352,12	7,45
7	29,08	109,75	320,49	6,44
9	37,48	109,82	275,71	6,58
12	48,54	109,11	228,35	7,31
15	63,49	114,55	185,30	8,24
25	95,10	117,04	136,05	9,73

## **6. DISCUSIÓN**

### **6.1 Curva de calibración de enrofloxacino y ketoprofeno**

Se elaboró una curva de calibración para cada uno de los principios activos y se evaluaron los diferentes parámetros de validación de un método analítico, según lo especificado por ICH Q2 (R1) y VICH GL2, ya que es imprescindible obtener resultados precisos y confiables.

De acuerdo a esto se puede apreciar que se cumplió con lo especificado por estas guías en cuanto a linealidad, precisión como repetibilidad y exactitud.

### **6.2 Perfiles de disolución**

#### **6.2.1 Comprimidos a base de enrofloxacino**

Se realizaron cinéticas de disolución de comprimidos de uso veterinario a base de enrofloxacino de 50 y 150 mg para el producto de referencia y el de prueba y se evaluaron y compararon sus perfiles de disolución.

Al analizar los resultados obtenidos tanto para el producto de referencia y de prueba de comprimidos a base de enrofloxacino de 50 mg, se pudo apreciar que en ambas cinéticas se obtuvieron coeficientes de variación cercanos al 20% en los primeros puntos y menores al 10% en los últimos, cumpliéndose lo especificado por la FDA en la guía de pruebas de disolución de formas de dosificación oral sólidas de liberación inmediata. El porcentaje disuelto promedio del producto de referencia fue gradual en el tiempo, sin embargo, este porcentaje para el producto de prueba fue mucho más elevado si se comparan los distintos tiempos de muestreo analizados. Es así, como se puede apreciar que a los 5 minutos el porcentaje disuelto para el producto

de referencia y de prueba fue de 40,35 y 80,32% respectivamente. Lo mismo ocurre con los demás tiempos de muestreo. Las causas posibles podrían ser atribuibles a diferencias en la formulación y a procesos de fabricación como lo señala Sandra Gracia y col. (2004) en su trabajo titulado: Comparación de la calidad de tabletas de patente, genéricas y elaboradas para el sector salud para control de diabetes.

Al realizar la comparación de los perfiles de disolución de comprimidos a base de enrofloxacino de 50 mg del producto de referencia y de prueba, se puede observar claramente que ambos perfiles son distintos.

En cuanto a las cinéticas realizadas para el producto de referencia y de prueba de comprimidos de enrofloxacino de 150 mg, se obtuvieron resultados del coeficiente de variación menores al 20% en los primeros tiempos de muestro y menores al 10% en los últimos puntos, cumpliéndose con lo descrito por la FDA en la guía de pruebas de disolución de formas de dosificación oral sólidas de liberación inmediata. Además, se puede apreciar que los porcentajes disueltos para el producto de referencia fueron mucho menores que el de prueba hasta los 25 minutos aproximadamente, siendo de un 28,79% a los 3 minutos para el producto de referencia y de un 80,76% para el producto de prueba considerando el mismo tiempo.

Se puede apreciar claramente la diferencia existente entre los perfiles de disolución, sobre todo en los primeros puntos de muestreo. Esto puede deberse a diferencias en la formulación y a procesos de fabricación (Gracia y col., 2004).



### 6.2.2 Comprimidos a base de ketoprofeno

Se realizaron cinéticas de disolución para comprimidos de uso veterinario a base de ketoprofeno de 10 mg, tanto para el producto de referencia y el de prueba, los cuales se analizaron y se compararon los perfiles de disolución.

Se puede observar que los resultados de los coeficientes de variación son cercanos al 20% en los primeros puntos de muestreo y menores al 10% en los últimos tiempos, cumpliéndose con lo descrito por la FDA en la guía de pruebas de disolución de formas sólidas de dosificación oral de liberación inmediata. Además, se puede apreciar que los porcentajes disueltos promedios fueron muy diferentes, tomando el mismo tiempo de muestreo. Es así, como el producto de referencia presenta porcentajes disueltos graduales en el tiempo, mientras que el producto de prueba presentó porcentajes más elevados, manteniéndose sobre el 100% desde los 5 minutos de muestreo. Las causas posibles podrían ser atribuibles a diferencias en la formulación y a procesos de fabricación (Gracia y col., 2004).

## **6.3 Mecanismo de liberación de los fármacos**

Se analizó la cinética de liberación de los fármacos mediante modelos cinéticos de orden cero y uno. Además se compararon los perfiles de disolución calculando el factor de similitud y de diferencia.

### 6.3.1 Comprimidos a base de enrofloxacino

El producto de referencia y de prueba a base de enrofloxacino de 50 mg no se ajustaron bien al modelo cinético de orden cero, puesto que al graficar el porcentaje

disuelto en función del tiempo, se obtuvieron resultados del coeficiente de correlación y determinación inferiores al criterio considerado para el parámetro de linealidad, siendo de 0,97433 y 0,94932 respectivamente para el producto de referencia y de 0,94110 y 0,88567 según corresponda para el producto de prueba.

Al analizar el modelo cinético de orden uno para el producto de referencia y el de prueba de enrofloxacino de 50 mg se puede apreciar que se ajustaron bastante mejor en este tipo de modelo, ya que al graficar el logaritmo del porcentaje no disuelto en función del tiempo, se obtuvieron mejores resultados del coeficiente de correlación y de determinación, siendo de -0,99964 y 0,99928 respectivamente para el producto de referencia y de -0,98924 y 0,997860 según corresponda para el producto de prueba, lo cual es habitual en productos de liberación convencional.

En cuanto al producto de referencia y de prueba para comprimidos a base de enrofloxacino de 150 mg se puede apreciar que, al igual que los productos a base de enrofloxacino de 50 mg, no se ajustó bien al modelo cinético de orden cero, pero se ajustó bastante mejor a la cinética de orden uno al analizar los coeficientes de correlación y determinación. Para el producto de referencia en una cinética de orden cero, se obtiene un coeficiente de correlación de 0,98115 y un coeficiente de determinación de 0,96266 y para el producto de prueba se obtuvieron un valor de 0,91832 para el coeficiente de correlación y el coeficiente de determinación es de 0,84331. En cambio, para una cinética de orden uno, se obtuvieron valores del coeficiente de correlación y de determinación de -0,99371 y 0,98746 respectivamente para el producto de referencia y, de -0,99964 y 0,99928 según corresponda para el producto de prueba, lo cual es habitual en productos de liberación convencional.

Para comparar los perfiles de disolución del producto de referencia y el de prueba se utilizó el factor de diferencia ( $f_1$ ) y el factor de similitud ( $f_2$ ). De esta manera, se puede observar que los perfiles son muy disímiles, considerando que los valores del factor de diferencia ( $f_1$ ) se consideran desde 0 hasta 15 y para el factor de similitud ( $f_2$ ) el valor debe ser mayor que 50, según lo especificado por la FDA en la guía de pruebas de disolución de formas sólidas de dosificación oral de liberación inmediata. Sin embargo, el trabajo propuesto por James E. Polli y col. describe que se utiliza el cálculo del factor de diferencia y similitud sólo para comparar perfiles de disolución y no como herramienta de control de calidad (Polli y col., 1996), lo cual se tomó como referencia para éste trabajo.

### 6.3.2 Comprimidos a base de ketoprofeno

El producto de referencia de comprimidos a base de ketoprofeno de 10 mg se ajusta bastante bien al modelo cinético de orden cero, ya que al graficar el porcentaje disuelto en función del tiempo se obtienen coeficientes de correlación y determinación de 0,99807 y 0,99614 respectivamente, debido a que la liberación del principio activo es rápida, sin embargo, éste tipo de liberación no afecta la finalidad terapéutica del medicamento. Mediante el mismo modelo cinético el producto de prueba no se ajusta a él, ya que se obtuvieron valores del coeficiente de correlación y determinación de 0,66519 y 0,44248 respectivamente.

El modelo cinético de orden uno sólo se puede analizar al producto de referencia, ya que el producto de prueba presenta porcentajes de disolución muy elevados superando el 100% a los 5 minutos de muestreo. Al graficar el logaritmo del porcentaje

no disuelto versus el tiempo, se obtienen resultados del coeficiente de correlación y de determinación de -0,94891 y 0,90043 respectivamente.

Se comparan los perfiles de disolución del producto de referencia y de prueba mediante el cálculo del factor de diferencia ( $f_1$ ) y factor de similitud ( $f_2$ ), que de acuerdo a los resultados obtenidos se puede apreciar que los perfiles son muy distintos, utilizando esto sólo para establecer una comparación y no como una herramienta de control de calidad, según lo especificado por James E. Polli y col. (Polli y col., 1996).

No cabe duda entonces, que es importante para los productos de uso veterinario realizar estudios cinéticos de disolución, ya que estos medicamentos revisten la misma importancia que los productos de uso humano.

## **7. CONCLUSIONES**

- La liberación desde los comprimidos de enrofloxacino de referencia de 50 y 150 mg fue más lenta que la formulación de prueba en los primeros tiempos de muestreo.
- En los comprimidos de enrofloxacino de 50 y 150 mg se obtuvo una liberación superior al 90% en las condiciones de trabajo, a los 15 minutos de muestreo.
- Los perfiles de disolución de los comprimidos de enrofloxacino de 50 y 150 mg no fueron similares al aplicar el factor de similitud y el factor de diferencia en las condiciones señaladas.
- La liberación desde los comprimidos de ketoprofeno de referencia fue más lenta que la formulación de prueba, alcanzándose sólo un 63,49% versus un 114,55%, respectivamente a los 15 minutos.
- Los perfiles de disolución de los comprimidos de ketoprofeno 10 mg fueron diferentes al aplicar los factores de similitud y de diferencia en las condiciones señaladas.
- Si bien los perfiles de disolución de ambos productos analizados -enrofloxacino y ketoprofeno-, (prueba y referencia) no fueron similares, su velocidad de liberación permite que estén disponibles para la acción terapéutica.

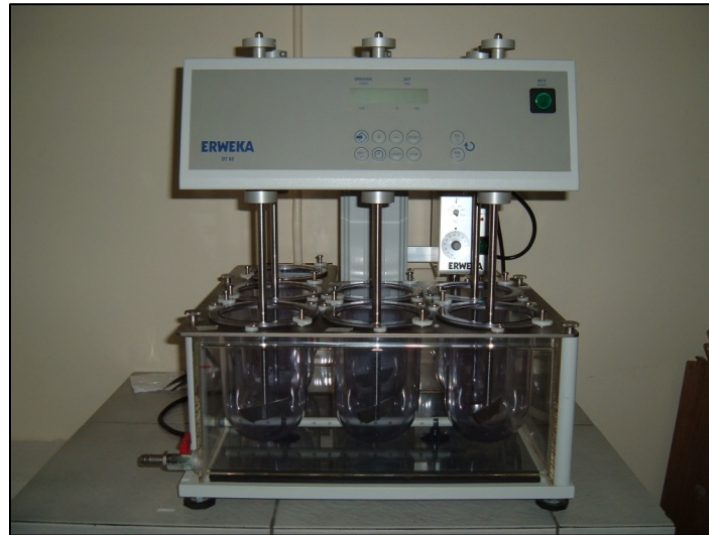
## **8. REFERENCIAS CITADA**

- Aulton, M. E. (2004). Farmacia: La ciencia del diseño de las formas farmacéuticas. 2° ed. Gea consultoria editorial, S.L.L. Cap. 15-27.
- Baytril Bayer HealthCare. (1999). (Disponible en: [http://www.baytril.com/8/Mechanism\\_of\\_Action.htm](http://www.baytril.com/8/Mechanism_of_Action.htm). Consultado el: 15 de abril de 2007).
- Baytril Bayer HealthCare. (2001). (Disponible en: <http://www.baytril.com/7/Chemistry.htm>. Consultado el: 15 de abril de 2007).
- Botana, L. M. (2002). Farmacología y Terapéutica Veterinaria. Pp. 350-374; 484-492.
- Castillo, A. B.; González, H. R. (1996). Protocolo de validación de métodos analíticos para la cuantificación de fármacos. Revista cubana de farmacia, 30(1).
- Cid, E. (1992). Control de Calidad Biofarmacéutico de Medicamentos. Santiago, Chile. 261 p.
- Clarke`s. (2004). Analysis of drugs and poisons. Version CD instalable.
- De Pedro, J. (2005). Formas farmacéuticas en veterinaria. Farmacia Profesional. 19 (2): 74-77.
- Donald, C. P. (1999). Veterinary drug handbook. 3° ed. Pp. 238-241; 370-371.
- Fahmy, R.; Marnane, W.; Hollenbeck, D. (2001). Dissolution Testing of Veterinary Products. Dissolution Technologies.
- Fahmy, R.; Marnane, B.; Bensley, D.; Hollenbeck, R. (2002). Dissolution Test Development for Complex Veterinary Dosage Forms: Oral Boluses. AAPS PharmSci. 4 (4).
- Farmacopea de Estados Unidos USP-27. (2004). Versión CD instalable.
- FDA. (1997). Centro de Evaluación e Investigación de Drogas (CDER) Guía para la industria: Pruebas de disolución de formas de dosificación oral sólidas de liberación inmediata.
- Florez, J. (1997). Farmacología Humana. 3° ed. Barcelona, Masson. Pp. 373-374.

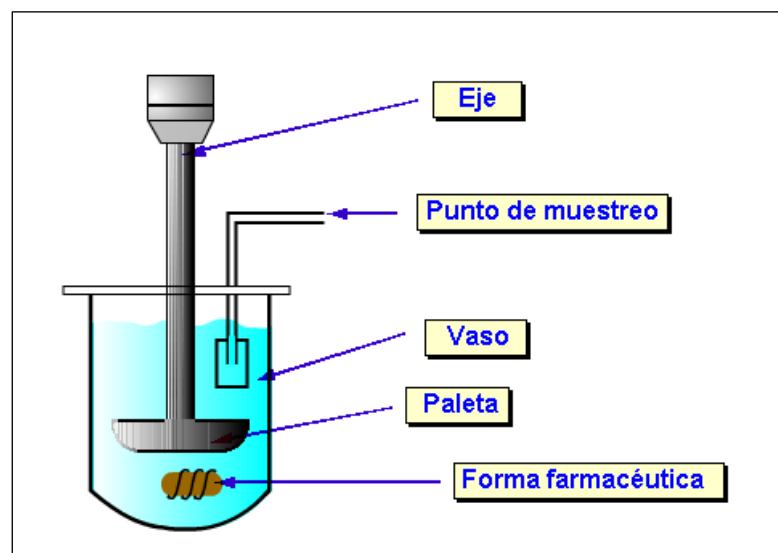
- Gracia, L. S. y col. (2004). Comparación de la calidad de tabletas de patente, genéricas y elaboradas para el sector salud para control de diabetes. *Ciencia UANL* 7 (002): 184-189.
- Gordon, L. A. (2003). *Biofarmacia Moderna*. Versión CD instalable.
- International conference on harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use. (2005). ICH Harmonised tripartite guideline. Validation of analytical procedures: text and methodology Q2 (R1).
- International cooperation on harmonization of technical requirements for registration of veterinary medicinal products. (1998). VICH GL 1. Validation of analytical procedures: Definition and terminology.
- International cooperation on harmonization of technical requirements for registration of veterinary medicinal products. (1998). VICH GL 2. Validation of analytical procedures: Methodology.
- Otero, J.L.; Mestorino, N.; Errecalde, J.O. (2001). Enrofloxacin una fluorquinolona de uso exclusivo en veterinaria parte II: farmacocinética y toxicidad. *Analecta Veterinaria*; 21(1): 42-49.
- Polli, J.; Rekhi, S.; Shah, V. (1996). Methods to Compare Dissolution Profiles. *Drug Information Journal*. 30: 1113-1120.
- Polli, J.; Rekhi, S.; Augsburger, L.; Shah, V. (1997). Methods to Compare Dissolution Profiles and a Rationale for Wide Dissolution Specifications for Metoprolol Tartrate Tablets. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 86(6): 690-700.
- Quattrochi, O. A.; Abelaira de Andrizzi, S.I.; Laba R.T. (1992). *Introducción a HPLC aplicación y práctica*. Buenos Aires, Argentina. Pp. 302-321.
- USP. (2003). *Veterinary Pharmaceutical Information Monographs – Antibiotics*. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. 26 (2).
- USP. USP Prednisone Tablets RS Lot O0C056. USP Dissolution Calibrator Disintegratin Type.

## 9. ANEXOS

**FIGURA N° 19:** Equipo de disolución modelo Erweka DT - 60

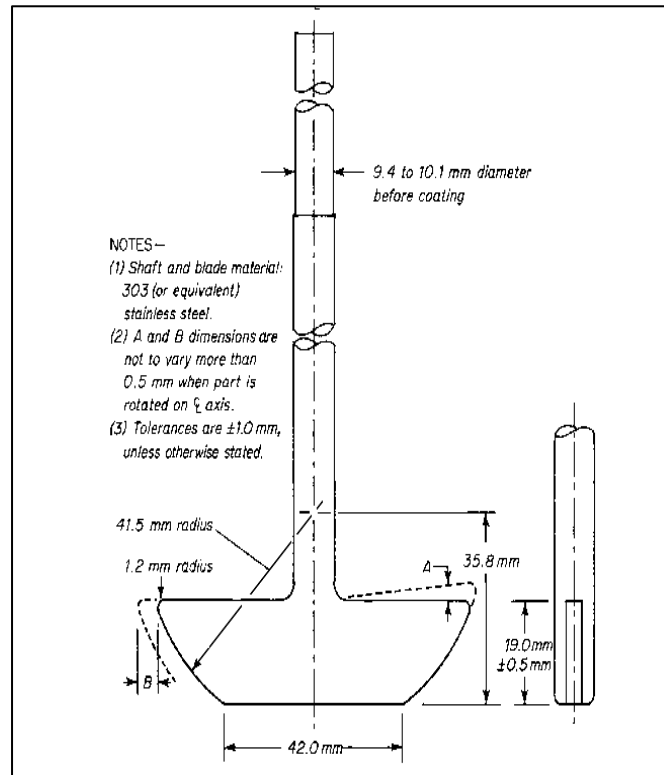


**FIGURA N° 20:** Aparato 2 de la USP





**FIGURA N° 21:** Paleta del aparato 2 de la USP



**FIGURA 22:** Espectrofotómetro UV-VIS Unicam Helios  $\alpha$ .



**TABLA N° 30:** Peso de los comprimidos a base de enrofloxacino de 50 mg del producto de referencia utilizados en las cinéticas realizadas.

<b>COMPRIMIDO</b>	<b>PESO (g)</b>
1	0.2091
2	0.2216
3	0.2106
4	0.1998
5	0.1976
6	0.2056
7	0.2164
8	0.2276
9	0.2193
10	0.2045
11	0.1956
12	0.2126

**TABLA N° 31:** Peso de los comprimidos a base de enrofloxacino de 50 mg del producto de prueba utilizados en las cinéticas realizadas.

<b>COMPRIMIDO</b>	<b>PESO (g)</b>
1	0.3006
2	0.2871
3	0.2900
4	0.2882
5	0.2943
6	0.2858
7	0.2888
8	0.2930
9	0.2721
10	0.2996
11	0.2866
12	0.2780

**TABLA N° 32:** Peso de los comprimidos a base de enrofloxacino de 150 mg del producto de referencia utilizados en las cinéticas realizadas.

<b>COMPRIMIDO</b>	<b>PESO (g)</b>
1	0.4219
2	0.4155
3	0.4216
4	0.4214
5	0.4280
6	0.4246
7	0.4164
8	0.4239
9	0.4305
10	0.4184
11	0.4193
12	0.4201

**TABLA N° 33:** Peso de los comprimidos a base de enrofloxacino de 150 mg del producto de prueba utilizados en las cinéticas realizadas.

<b>COMPRIMIDO</b>	<b>PESO (g)</b>
1	0.6218
2	0.6228
3	0.6206
4	0.6246
5	0.6298
6	0.6231
7	0.6193
8	0.6210
9	0.6223
10	0.6103
11	0.6205
12	0.6225

**TABLA N° 34:** Peso de los comprimidos a base de ketoprofeno de 10 mg del producto de referencia utilizados en las cinéticas realizadas.

<b>COMPRIMIDO</b>	<b>PESO (g)</b>
1	0.2501
2	0.2489
3	0.2482
4	0.2477
5	0.2475
6	0.2488
7	0.2518
8	0.2498
9	0.2483
10	0.2513
11	0.2487
12	0.2514

**TABLA N° 35:** Peso de los comprimidos a base de ketoprofeno de 10 mg del producto de prueba utilizados en las cinéticas realizadas.

<b>COMPRIMIDO</b>	<b>PESO (g)</b>
1	0.2606
2	0.2663
3	0.2630
4	0.2608
5	0.2601
6	0.2647
7	0.2607
8	0.2669
9	0.2616
10	0.2629
11	0.2602
12	0.2672