



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA**

UNIDAD XOCHIMILCO

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

DEPARTAMENTO DE SISTEMAS BIOLÓGICOS

MAESTRÍA EN CIENCIAS FARMACÉUTICAS

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

DISEÑO Y EVALUACIÓN DE FORMAS FARMACÉUTICAS

**“DESARROLLO DE UN SISTEMA AUTOEMULSIFICABLE PARA  
ADMINISTRACIÓN DE FÁRMACOS (SEDDS) QUE INCREMENTE LA  
SOLUBILIDAD DE ENROFLOXACINA PARA SU ADMINISTRACIÓN ORAL”**

IDÓNEA COMUNICACIÓN DE RESULTADOS PARA OBTENER EL GRADO  
DE MAESTRA EN CIENCIAS FARMACÉUTICAS

PRESENTA

**L.F. MIRIAM ISABEL MORALES FLORIDO**

MATRÍCULA: 2162800153

COMITÉ TUTORAL

Tutor: Dr. Jorge Esteban Miranda Calderón

Asesor: Dr. Carlos Tomás Quirino Barreda

Asesor: Dr. Ponciano García Gutiérrez

SEPTIEMBRE, 2018.

**Desarrollo de un Sistema Autoemulsificable para Administración de  
Fármacos (SEDDS) que incremente la solubilidad de Enrofloxacin para  
su administración oral**

Dr. Jorge Esteban Miranda Calderón

---

Dr. Carlos Tomás Quirino Barreda

---

Dr. Ponciano García Gutiérrez

---

L.F. Miriam Isabel Morales Florido

---

**Desarrollo de un Sistema Autoemulsificable para Administración de  
Fármacos (SEDDS) que incremente la solubilidad de Enrofloxacin para  
su administración oral**

Jurado del Examen de Grado

Presidente. Dr. José Juan Escobar Chávez

\_\_\_\_\_

Vocal. Dr. Roberto Díaz Torres

\_\_\_\_\_

Secretario. Dr. Jorge Esteban Miranda Calderón

\_\_\_\_\_

## Resumen

La baja solubilidad es la principal limitante para la formulación de fármacos clase II (baja solubilidad y alta permeabilidad) esto debido a que para ser absorbidos deben presentarse en su forma disuelta y no ionizada.

La enrofloxacin es un antibiótico de uso veterinario derivado del ácido nalidíxico, que presenta baja solubilidad en agua (0.6 mg/mL) y alta lípofilidad (log P=4.7 a pH=7) por lo cual, en el presente trabajo se formuló utilizando un sistema automicroemulsificable (SEDDS).

Los SEDDS han demostrado que son capaces de incrementar la solubilidad de fármacos lipofílicos y liberarlos directamente sobre la membrana apical en su forma disuelta y no ionizada, lo cual tiene como resultado el incremento de su velocidad de absorción y, por tanto, la concentración plasmática del fármaco, aumentando su efecto terapéutico. Esto es especialmente importante para antibióticos dosis-dependientes donde se requiere una concentración plasmática mayor que la concentración mínima inhibitoria, que para el caso de la enrofloxacin la relación anterior que se requiere es de 8 a 10 veces.

Así mismo, se han reportado las ventajas de formular microemulsiones finas con tamaño de partícula menor a 50 nm de diámetro, como en el caso de la reformulación de Neoral para Ciclosporina A que incrementa sus concentraciones plasmáticas y su biodisponibilidad.

Los resultados de este proyecto mostraron un incremento de la solubilidad de enrofloxacin de al menos 10 veces su solubilidad acuosa, con un tamaño de partícula de 40 d.nm y un pH=6.39.

El SEDDS obtenido fue estable a pH=1 y pH=6.8, valores que simulan el paso a través del tracto gastrointestinal sin presentar precipitación. Sin embargo, aún se requiere hacer estudios de absorción para determinar un ajuste de dosis y evitar así, toxicidades causadas por altas concentraciones plasmáticas del fármaco.

## Agradecimientos Institucionales

Agradezco principalmente a la UAM-Xochimilco por abrirme sus puertas y hacerme parte de su gran comunidad universitaria, por haberme brindado tanto conocimiento y apoyo para la realización de este proyecto.

A CONACYT por la beca otorgada para los estudios de posgrado con número de apoyo 438502 inscrito en el PNPC No. 001546. Así mismo, al apoyo PRODEP No. UAM-PTC-624.

A la Dra. María Josefa Bernard de la Facultad de Química-UNAM y al Dr. Ponciano García del Departamento de Química- UAMI por el préstamo de equipo indispensable para la realización de este proyecto.

Y finalmente al programa de becas para eventos de difusión y de investigación en ciencia y tecnología perteneciente a UAM que me permitió hacer difusión de mi proyecto de investigación.

## Agradecimientos personales

Mi más grande admiración y agradecimiento a mi madre que siempre me ha apoyado en cada decisión, tropiezo y acierto, a ella que siempre está a mi lado impulsando mis proyectos.

A mi padre que nunca me ha dejado rendirme, que me enseñó que un “no puedo” no debe estar en mi vocabulario, a él que se despertaba antes que yo para hacerme el desayuno con tal de darme fuerzas para seguir adelante.

A ellos que siempre han sido y serán mi más grande regalo, que me llenan de orgullo y de ganas de seguir adelante.

A mi tutor Jorge Miranda por la dirección de este proyecto, por la confianza que siempre me otorgo y por cada uno de los consejos de vida que me dio.

A mis asesores el Dr. Quirino y el Dr. Ponciano por sus enseñanzas, su confianza y su disposición.

A mis amigos y colegas Carlos Velázquez, Guillermo Romero, Cesar Gazga, Ignacio Vázquez, Oss y Miguelon por todos los momentos compartidos, viajes, risas, lagrimas, trabalenguas y consejos farmacéuticos. A ustedes que siempre me han brindado su amistad, gracias por formar parte de esta gran etapa de mi vida.

A mis amigos de Norte a Sur, Antonio García que nunca me ha dejado olvidar mis sueños, a Carlos Miguel, Karina Guerra, Mafer Navarro, Yuno y Alejandro Ortiz que, si bien no estuvieron hombro a hombro, siempre me han apoyado personal y profesionalmente.

A trofiño por darme paz y alegría cada día.

<b>CONTENIDO</b>	<b>Pág.</b>
ÍNDICE DE FÍGURAS	I, II, III
ÍNDICE DE TABLAS	IV, V
ABREVIATURAS	VI, VII
<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<b>2. ANTECEDENTES</b>	<b>2</b>
<b>3. MARCO TEÓRICO</b>	<b>4</b>
<b>3.1 Solubilidad y disolución</b>	<b>4</b>
3.1.1 Mecanismos de solubilización de un fármaco	7
3.1.2 Cálculo de la solubilidad de fármacos no polares: Ecuación de Hildebrand y el parámetro de solubilidad.	9
3.1.3 Sistema de Clasificación Biofarmacéutica	13
<b>3.2 Formulaciones basadas en lípidos</b>	<b>15</b>
3.2.1 Clasificación de sistemas lipídicos	16
3.2.2 Anfifílos y tensoactivos	18
3.2.3 Tipos de tensoactivos	19
3.2.4 Actividad superficial	21
3.2.5 Formación de micelas	22
3.2.6 Escala HLB (Balance Hidrofílico-Lipofílico)	23
<b>3.3 Sistemas dispersos</b>	<b>23</b>
3.3.1 Estabilidad termodinámica de los sistemas dispersos	26
3.3.2 Modelo matemático de la estabilidad termodinámica	27
<b>3.4 SEDDS: Sistemas autoemulsificables para la administración de fármacos</b>	<b>29</b>
3.4.1 Digestión de SEDDS	32
3.4.2 Diagramas de fase ternarios	37
<b>3.5 Caracterización de los SEDDS (Sistemas Autoemulsificables para Administración de Fármacos)</b>	<b>38</b>
3.5.1 Prueba visual de autoemulsificación	38
3.5.2 Propiedades organolépticas	38

3.5.3 Tamaño de partícula	39
3.5.4 Potencial z	39
<b>3.6 Enrofloxacin</b>	<b>40</b>
3.6.1 Propiedades físicas, químicas y fisicoquímicas	40
3.6.2 Indicación terapéutica	41
3.6.3 Farmacocinética de la enrofloxacin	41
3.6.4 Farmacodinamia de la enrofloxacin	42
<b>3.7 Ventajas de formulación de enrofloxacin en SEDDS</b>	<b>43</b>
<b>4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b>	<b>45</b>
<b>5. HIPÓTESIS</b>	<b>45</b>
<b>6. OBJETIVO GENERAL</b>	<b>46</b>
6.1 Objetivos particulares	46
<b>7. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>47</b>
<b>7.1 Excipientes y principio activo</b>	<b>47</b>
<b>7.2 Material y equipo</b>	<b>47</b>
<b>7.3 Validación del método analítico para la cuantificación de enrofloxacin por absorbancia UV/Vis</b>	<b>47</b>
7.3.1 Linealidad del sistema: Curva estándar de calibración para cuantificar enrofloxacin por absorbancia UV/vis	47
7.3.2 Precisión del sistema	48
7.3.3 Linealidad del método	48
7.3.4 Exactitud y repetibilidad del método	48
7.3.5 Precisión intermedia	48
<b>7.4 Métodos generales de caracterización</b>	<b>49</b>
7.4.1 Saturación del sistema lipídico	49
7.4.2 Prueba visual de autoemulsificación	49
7.4.3 Cuantificación del fármaco	49
7.4.4 Determinación del tamaño de partícula	50
<b>7.5 Propuesta de sistema lipídico que incremente la solubilidad de enrofloxacin</b>	<b>50</b>

<b>7.6 Selección del sistema autoemulsificante</b>	51
7.6.1 Elaboración de diagramas de fase pseudoternarios por turbidez	51
7.6.2 Elaboración de diagramas de fase pseudoternarios por tamaño de partícula (para el Sistema A y B)	52
7.6.3 Elaboración de diagramas de fase pseudoternarios por tamaño de partícula (para el Sistema C y D)	53
<b>7.7 Diseño de experimentos para el sistema C</b>	54
<b>7.8 Estudio de estabilidad física del SEDDS en pH 1 y 6.8</b>	55
<b>7.9 Cinética de la formulación óptima de enrofloxacin</b>	55
<b>7.10 Cinética de liberación: formulación óptima de enrofloxacin vs solución oral comercial de enrofloxacin al 0.5%</b>	56
<b>8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	57
<b>8.1 Validación del método analítico para la cuantificación de enrofloxacin por absorbancia UV/Vis</b>	57
<b>8.2 Propuesta de sistema lipídico que incremente la solubilidad de enrofloxacin</b>	58
<b>8.3 Selección del sistema autoemulsificante</b>	60
8.3.1 Elaboración de diagramas de fase pseudoternarios por turbidez	60
8.3.2 Elaboración de diagramas de fase pseudoternarios por tamaño de partícula (para el Sistema C y D)	64
<b>8.4 Diseño de experimentos para el sistema C</b>	68
<b>8.5 Estudio de estabilidad física del SEDDS en pH 1 y 6.8</b>	73
<b>8.6 Cinética de la formulación óptima de enrofloxacin</b>	77
<b>8.7 Cinética de liberación: formulación óptima de enrofloxacin vs solución oral comercial de enrofloxacin al 0.5%</b>	78
<b>9. CONCLUSIONES</b>	82
<b>10. REFERENCIAS</b>	83

<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>		<b>Pág.</b>
Figura 1	Mecanismo de solubilización de un fármaco.	8
Figura 2	Representación típica del Sistema de Clasificación Biofarmacéutica.	14
Figura 3	Estructura básica de un tensoactivo.	18
Figura 4	Orientación de un tensoactivo en una disolución.	22
Figura 5	Diagrama esquemático de microemulsiones y nanoemulsiones fabricadas a partir de aceite, agua y tensoactivo.	25
Figura 6	Moléculas de aceite incorporadas en tensoactivos.	26
Figura 7	Diagrama esquemático de la energía libre de los sistemas de microemulsión y nanoemulsión comparado con el estado separado de fase.	26
Figura 8	Influencia pronosticada del radio de las gotitas sobre la tensión interfacial para una monocapa de tensoactivo que tiene un radio óptimo de partícula de 5 nm.	29
Figura 9	Digestión de formulaciones a base de lípidos y formación de micelas en el TGI.	33
Figura 10	Esquema de los mecanismos por los cuales los fármacos poco solubles en agua son absorbidos a partir de formulaciones basadas en lípidos.	36
Figura 11	Construcción de un diagrama de fase ternario.	37

Figura 12	Estructura molecular de la enrofloxacin	41
Figura 13	Sistemas lipídicos saturados con fármaco dentro del baño de agua.	49
Figura 14	Diagrama de fase pseudoternario construido por titulación	52
Figura 15	Selección de puntos para el diagrama de fase pseudoternario por tamaño de partícula para el sistema C y D.	53
Figura 16	Selección de puntos para el diseño de mezclas	54
Figura 17	Montaje de disolutor para cinética de liberación	56
Figura 18	Solubilidades de enrofloxacin obtenidas en los diferentes sistemas lipídicos a 25°C	59
Figura 19	Solubilidades de enrofloxacin obtenidas en los diferentes sistemas lipídicos a 37°C	59
Figura 20	Diagrama de fase pseudoternario para el sistema A.	62
Figura 21	Diagrama de fase pseudoternario para el sistema B.	62
Figura 22	Diagrama de fase pseudoternario para el sistema C.	62
Figura 23	Diagrama de fase pseudoternario para el sistema D.	62
Figura 24	Diagrama de fase pseudoternario por tamaño de partícula para el sistema C.	64
Figura 25	Diagrama de fase pseudoternario por tamaño de partícula para el sistema D	65
Figura 26	SEDDES diluidos del sistema A.	67
Figura 27	SEDDES diluidos del sistema B.	67
Figura 28	SEDDES del sistema C.	67

Figura 29	SEDDS del sistema D.	67
Figura 30	Diseño simplex reticular aumentado	68
Figura 31	Gráfica de trazas para solubilidad del fármaco	71
Figura 32	Contornos de la superficie de respuesta estimada <sup>5</sup>	71
Figura 33	Curva de calibración Abs vs concentración de enrofloxacin a diferentes pH's	73
Figura 34	Estudio de estabilidad de la formula propuesta.	74
Figura 35	Estudio de estabilidad de la formula propuesta vs reformulación	75
Figura 36	Formulación con y sin Poloxámero expuesta a pH 1 después de 30min	75
Figura 37	Formulación con y sin Poloxámero expuesta a pH 6.8 después de 30min	75
Figura 38	Estudio de estabilidad por tamaño de partícula de la formula propuesta vs reformulación	76
Figura 39	Efecto de estabilización por repulsión estérica por uso de poloxámero	77
Figura 40	Cinética de solubilidad del fármaco en la formulación optima vs agua.	77
Figura 41	Cinética de liberación en medio intestinal simulado	78
Figura 42	Cinética de liberación en medio ácido, pH 1	79
Figura 43	Formación de microemulsión O/W por dilución	80

<b>ÍNDICE DE TABLAS</b>		<b>Pág.</b>
Tabla 1	Clasificación de los sistemas lipídicos	17
Tabla 2	Clasificación de agentes emulsionantes	19
Tabla 3	Relación entre los límites HLB y aplicación surfactante	23
Tabla 4	Diferencias entre emulsiones, microemulsiones y nanoemulsiones	24
Tabla 5	Grado de autoemulsificación	38
Tabla 6	Presentaciones comerciales de enrofloxacin	43
Tabla 7	Curva estándar de calibración para cuantificar enrofloxacin	47
Tabla 8	Propuesta de sistemas lipídicos	50
Tabla 9	Composición de los sistemas lipídicos	50
Tabla 10	Sistemas autoemulsificantes para la administración de fármacos.	51
Tabla 11	Composición de los puntos de partida para la construcción de diagramas pseudoternarios por titulación.	52
Tabla 12	Composición de los puntos para la construcción de diagramas de fase pseudoternario por tamaño de partícula para los sistemas C y D.	53
Tabla 13	Proporciones de los componentes para el diseño de experimentos	54
Tabla 14	Resultados de la validación del método analítico	57
Tabla 15	Tamaños de partícula para el sistema A (diluido)	63
Tabla 16	Tamaños de partícula para el sistema B (diluido)	63

Tabla 17	Tamaños de partícula para el sistema C	64
Tabla 18	Tamaños de partícula para el sistema D	65
Tabla 19	Resultados del modelo estadístico completo	69
Tabla 20	ANOVA para la Solubilidad del Fármaco	70
Tabla 21	Formulación estadísticamente optima	72
Tabla 22	Estabilidad de las propuestas de reformulación	74
Tabla 23	Modelos de liberación en medio intestinal simulado	79

## ABREVIATURAS

%p/p	Por ciento peso peso
AIC	Criterio de información de Akaike
BCS	Sistema de Clasificación Biofarmacéutica
CDER	Centro para la Evaluación e Investigación de Medicamentos
CMC	Concentración micelar crítica
CMI	Concentración mínima inhibitoria
CsA	Ciclosporina A
CV	Coeficiente de variación
d.nm	Nanometros de diámetro
DLS	Dispersión dinámica de la luz
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DW	Estadístico de Durbin-Watson
FDA	Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos
HCl	Ácido clorhídrico
HLB	Balance Hidrofilico-Lipofílico
IR	Índice de refracción
IV	Intravenosa
kDa	kilodaltons
LBF	Formulaciones base lipídicas

L-SEDDS	Sistemas autoemulsificables para la administración de fármacos líquidos
MAE	Error medio absoluto
mV	milivolts
O/W	Aceite en agua
PEO	Óxido de polietileno hidrófilo
PG	Propilenglicol
PPO	Óxido de polipropileno hidrófobo
QELS	Dispersión de luz cuasi elástica
rpm	Revoluciones por minuto
SANS	Dispersión de neutrones de ángulo bajo
SAXS	Dispersión de rayos X de ángulo bajo
SEDDS	Sistema autoemulsificable para la administración de fármacos.
SMEDDS	Sistema automicroemulsificable para la administración de fármacos.
S-SEDDS	Sistemas autoemulsificables para la administración de fármacos sólido
TGI	Tracto gastrointestinal
UWL	Capa de agua no agitada
W/O	Agua en aceite

---

## 1. INTRODUCCIÓN

La vía de administración oral es la de mayor frecuencia en la ingesta de medicamentos, esto debido a la comodidad y practicidad que le otorga al paciente, por lo cual la solubilidad del fármaco y absorción gastrointestinal del mismo son factores determinantes en el desarrollo exitoso de moléculas bioactivas candidatas a su comercialización. En las últimas décadas el diseño de nuevas moléculas con actividad farmacológica se ha enfocado en mejorar las propiedades farmacocinéticas resultando en fármacos que tienden a un alto peso molecular y un coeficiente de partición elevado, que permite la capacidad de ser permeables, lo que en la mayoría de los casos repercute en una baja solubilidad. Se estima que aproximadamente el 40-50% de los fármacos actualmente comercializados y hasta el 75% de los compuestos en fase de desarrollo presentan baja solubilidad (Gowree *et al.* 2012, Williams *et al.* 2013)

En el presente trabajo se realizó el desarrollo de distintos sistemas lipídicos para determinar la capacidad de cada uno de producir SEDDS (Sistemas autoemulsificables para la administración de fármacos) estables, finos y con un incremento de solubilidad del fármaco (enrofloxacin) por al menos 10 veces su solubilidad en agua. Los resultados obtenidos mostraron que el uso de tensoactivos con HLB menor a 12 presentan una separación de los componentes, “efecto de cremado” y tensoactivos con HLB mayor a 12 producen dispersiones muy finas. La aplicación del diseño de experimentos de mezclas permitió establecer la región donde se logra la máxima solubilidad con el sistema autoemulsificable. La formulación óptima está compuesta por, 50% Transcutol HP, 24% propilenglicol, 15% Tween 80, 1% poloxámero 407 y 10% agua. Ésta formulación alcanzó una solubilidad mayor a 6 mg/mL lo que representa un incremento de solubilidad de al menos 10 veces la solubilidad en agua, la formulación se observa con un tamaño de partícula de 40 d.nm y estable físicamente en pH 1 (HCl 0.1N) y pH 6.8 (medio intestinal simulado).

---

## 2. ANTECEDENTES

Las moléculas candidatas a fármacos nuevos presentan en su mayoría escasa solubilidad acuosa la cual es una barrera significativa para el desarrollo efectivo de medicamentos. Típicamente, compuestos poco solubles tienen absorción errática en el tracto gastrointestinal, se ha estimado que entre 70 y 90% de todos los compuestos descubiertos tienen una solubilidad limitada. La absorción errática plantea problemas de seguridad como respuestas irreproducibles que pueden conducir a efectos adversos o falta de efecto terapéutico (Persson, 2013).

El sistema de administración basado en lípidos tiene un enfoque altamente prometedor para mejorar la biodisponibilidad de compuestos poco solubles en agua, ya que presenta al fármaco en el tracto gastrointestinal (TGI) en un estado solubilizado. Existen numerosos informes en la literatura que describen las ventajas de los sistemas autoemulsificables para la administración de fármacos (SEDDS), sistemas automicroemulsificables para la administración de fármacos (SMEDDS), sistemas autonanoemulsificables para la administración de fármacos (SNEDDS), etc. Sin embargo, la aplicación comercial de esta tecnología es todavía limitada, ya que solo hay unos pocos productos disponibles basados en lípidos, una de las principales razones es la falta de difusión de la aplicación de estas formulaciones (Gumaste, 2013).

La disolución de los fármacos en los lípidos puede mejorar significativamente la biodisponibilidad de fármacos poco solubles en agua. Por ejemplo, el seocalcitol es un fármaco lipofílico cuya solubilidad en agua es 20 ng/g, mientras que su solubilidad en triglicéridos de cadena media y triglicéridos de cadena larga es 5.3 y 1.7 mg/g, respectivamente. Grove *et al.*, en 2005 investigaron la biodisponibilidad de seocalcitol en ratas después de la administración oral de su sistema lipídico y reportó un doble aumento de biodisponibilidad en comparación con una formulación de referencia que contiene propilenglicol (Grove, 2005; Mu, 2013). En otro estudio se demostró que la griseofulvina tiene mayor solubilidad en Cremophor® EL (4.96 mg/mL) en comparación con agua (0.0074 mg/mL) observaron que las formulaciones lipídicas fueron capaces de aumentar significativamente la velocidad de disolución

---

en comparación con el fármaco puro (Elkordy *et al.* 2013). Por otro lado, Czajkowska y cols, desarrollaron un SEDDS líquido para atorvastatina con ácido oleico o Capryol 90 como fase oleosa, Tween 80 como agente tensioactivo y 1,2-propilenglicol como cotensioactivo sin embargo, sus resultados mostraron que las mejores propiedades de solubilización fueron exhibidas por formulaciones sólidas S-SEDDS preparadas por medio de la técnica de secado por pulverización (Czajkowska-Kośnik, 2015).

Dentro de las estrategias que se han realizado para mejorar la solubilidad de la enrofloxacin existe una forma de solvato de enrofloxacin, como clorhidrato (Enro-C) la cual presenta una mayor solubilidad en agua que el compuesto original, así como, una curación clínica un día antes que los perros tratados con ciprofloxacina (Miranda-Calderón, 2018). En otro estudio utilizaron nanopartículas lipídicas sólidas de ácido docosanoico cargadas con enrofloxacin que se administraron a monocitos de perro pastor de Anatolia, lo que resultó en un tratamiento más eficaz de las infecciones intracelulares que cuando se utilizaron medicamentos no nanoparticulados (Xie, 2017).

El objetivo de formular un SEDDS cargado con enrofloxacin se basa en la necesidad de incrementar su solubilidad para mejorar su absorción y por tanto su biodisponibilidad, este tipo de sistemas a diferencia de las sales farmacéuticas sugiere presentar al fármaco en su forma disuelta y no ionizada.

---

### 3. MARCO TEÓRICO

#### 3.1 Solubilidad y disolución

La solubilidad es una medida de la capacidad de una determinada sustancia para disolverse en otra, con gran influencia en los procesos farmacéuticos. El término solubilidad se utiliza tanto para designar el fenómeno cualitativo del proceso de disolución como para expresar cuantitativamente la concentración de un soluto en una disolución, entendiéndose que una disolución está saturada cuando el potencial químico o actividad termodinámica del soluto disuelto es igual al soluto no disuelto.

La disolución de un principio activo constituye uno de los procedimientos más empleados en *Tecnología Farmacéutica*, ya sea como proceso intermedio, o como producto final en la elaboración de medicamentos.

La solubilidad de una sustancia depende de las propiedades fisicoquímicas del disolvente y del soluto, además de la temperatura y la presión del sistema. Así pues, la solubilidad que presenta un fármaco concreto en medio acuoso condiciona la absorción y distribución del fármaco en el organismo, cuanto más soluble sea una sustancia en medio acuoso, cabe esperar que sus propiedades farmacocinéticas sean mejores, alcanzando de esta manera una mayor biodisponibilidad y un mejor aprovechamiento del fármaco (Dios, 2013).

La solubilidad y disolución son conceptos diferentes, pero están relacionados. La solubilidad es la cantidad máxima de soluto que el disolvente puro puede contener en solución a condiciones estándar. La solubilidad es una función de equilibrio termodinámico, es decir, que el sistema tenderá a llegar al punto más bajo de la energía libre de Gibbs, que es la de mayor estabilidad termodinámica. Cuando hablamos de solubilidad, se entiende en el sentido del resultado final, sin tener en cuenta la rapidez con que se produce (Serajuddin, 2007).

Los solutos varían no sólo en la medida en la que se disuelven, sino también en el tiempo que tardan en llegar a sus respectivos límites de solubilidad. La velocidad de disolución es un proceso cinético. Un soluto puede tener escasa solubilidad en un

---

disolvente, sin embargo, su velocidad de disolución puede ser rápida y a la inversa, un soluto puede ser muy soluble, sin embargo, requerir una cantidad de tiempo prolongado para llegar a la concentración final de saturación.

La velocidad de disolución se describe con la ecuación de Noyes-Whitney (ecuación 1):

$$\frac{dQ}{dt} = \frac{DA(C_s - C)}{L}$$

Donde:

$A$  es el área superficial del sólido.

$C$  es la concentración del fármaco en el seno de la disolución.

$C_s$  es la concentración del fármaco en la capa de difusión que rodea al sólido.

$D$  es el coeficiente de difusión.

$L$  es el grosor de la capa de difusión

La ecuación de Noyes-Whitney proporciona mucha información práctica relevante para el proceso de disolución. Cuando nos fijamos en los parámetros de la ecuación, vemos que la ecuación predice lo siguiente:

- El coeficiente de difusión ( $D$ ) se puede disminuir al aumentar la viscosidad del disolvente, por otro lado,  $D$  es directamente proporcional a la velocidad de disolución.
- La velocidad de disolución ( $dQ / dt$ ) será más rápida con partículas pequeñas porque la superficie área ( $A$ ) aumenta a medida que el tamaño de partícula disminuye. Por lo tanto, la trituración o la micronización de partículas generalmente acelera la disolución.
- Si el soluto es ionizable y / o un electrolito débil, alterando el pH del disolvente se puede modificar la concentración superficial / saturación,  $C_s$ . Dependiendo de las características del soluto y disolvente, este cambio podría aumentar o disminuir  $C_s$ , ya sea disminuyendo o aumentando el gradiente de concentración, respectivamente, y aumentar o disminuir la velocidad de disolución, respectivamente (Iborra, 2008).

---

Dado que la difusión es a menudo la limitación de velocidad, es de especial importancia dentro de la ecuación de Noyes-Whitney. Además, el coeficiente de difusión  $D$  es dependiente de varios parámetros, incluyendo la constante de Boltzmann, la temperatura absoluta, viscosidad del medio y el radio de la molécula de soluto y se describe por la ecuación de Stokes-Einstein (ecuación 2):

$$D = \frac{kT}{6\pi\eta r}$$

Donde:

$D$  = coeficiente de difusión del soluto en solución

$k$  = constante de Boltzmann

$T$  = temperatura absoluta

$\eta$  = viscosidad del disolvente

$r$  = radio de la molécula de soluto.

Las ecuaciones Noyes-Whitney y de Stokes-Einstein revelan los parámetros que pueden afectar la velocidad de disolución de los solutos en disolventes. Por ejemplo, al aumentar la temperatura de solución también lo hace el coeficiente de difusión, y por lo que aumenta la velocidad de disolución. A medida que aumenta la viscosidad de los disolventes, la velocidad de disolución disminuye. Como el radio del soluto disminuye, aumenta el área de superficie total de soluto, y aumenta la velocidad de disolución y, por último, a medida que aumenta el área de superficie de soluto, también lo hace la velocidad de disolución (Smith, 2015).

El valor en el cual la solubilidad limitada empieza a afectar la absorción depende de una serie de otras variables del sistema, incluyendo permeabilidad de fármacos, dosis y el medio ambiente presente dentro del TGI.

Comprender estas variables, y por lo tanto, los factores que tienen un impacto en la solubilidad requerida para un fármaco candidato es de gran importancia para cuando se pretende desarrollar nuevas formas farmacéuticas (Williams *et al.* 2013).

---

### 3.1.1. Mecanismos de la solubilización de un fármaco

En general, se considera que la solubilidad depende de tres pasos: 1) la energía necesaria para desprender una molécula del soluto de la red cristalina, 2) la energía necesaria para crear un espacio en el disolvente capaz de incluir la molécula del soluto y 3) la energía para que la molécula del soluto ocupe el espacio en el disolvente (ver fig. 1). Desde el punto de vista termodinámico, para moléculas hidrosolubles puede explicarse de la siguiente manera:

Tanto el desprendimiento de una partícula del soluto como la creación de un espacio en el disolvente son procesos endotérmicos, ya que requieren de energía para llevarse a cabo por lo que tendremos un valor de entalpía mayor a 0. Para la entropía, en ambos casos se está llevando a un mayor desorden en el sistema por lo que la entropía aumenta, y podemos decir que los primeros dos pasos son procesos entrópicamente favorables.

En el tercer paso se observa un proceso exotérmico, es decir, que libera energía y por lo tanto presenta una entalpía menor a 0. Referente a su entropía, aunque el sistema sufre un acomodo lo que supondría un valor menor a 0, esto no es así, se observa que el reacondo que sufre sigue siendo más desordenado que el estado inicial, por lo que la entropía sigue siendo mayor a 0 o ligeramente menor que 0. Por lo tanto, si tomamos en cuenta que el proceso de solubilidad es un proceso global, se dice que los fármacos que presentan un alto grado de solubilidad son procesos espontáneos, es decir, con un valor de energía libre de Gibbs menor a 0. Por ejemplo, si sustituimos la entalpía total (sumatoria de las entalpías de cada paso)  $\Delta H_T = \Delta H_1 + \Delta H_2 + (-\Delta H_3)$  y la entropía total (sumatoria de las entropías)  $\Delta S_T = \Delta S_1 + \Delta S_2 + \Delta S_3$  en la ecuación de Gibbs  $\Delta G = \Delta H - T\Delta S$  entonces tendríamos un  $\Delta H_T < 0$  y un  $\Delta S_T > 0$  y por tanto un  $-\Delta G$  característico de un proceso espontáneo (Williams, 2013).

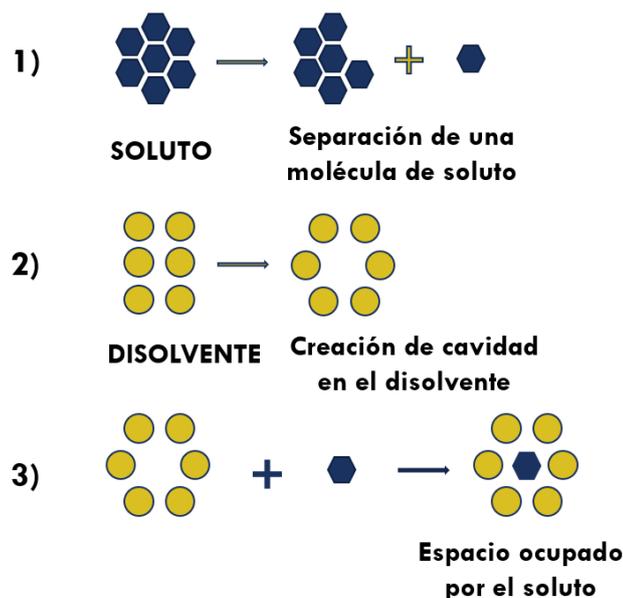


Figura 1. Mecanismo de solubilización de un fármaco (modificado de Williams et al. 2013).

El proceso en fármacos solubles en agua será espontáneo lo cual se representa con un  $\Delta G$  negativo por el contrario, los fármacos con baja solubilidad acuosa presentan en general  $\Delta G$  positivo, proceso no espontáneo ( $\Delta H > 0$ ,  $\Delta S > 0$ ) (Smith 2015).

En fármacos poco solubles, tenemos dos comportamientos particulares: el polvo de ladrillo “brick dust” y las bolas de grasa “grease balls”. Los fármacos que se comportan como polvo de ladrillo tienen una solubilidad limitada, lo cual se muestra en el primer paso de la fig.1, es decir, que la energía necesaria para liberar una molécula del soluto es muy alta por lo tanto el valor de la entalpía total sigue siendo mayor a 0, haciendo de este un proceso no espontáneo. Dentro de las estrategias para mejorar la solubilidad de este tipo de fármacos se incluyen dispersiones sólidas o disminución del tamaño de partícula.

Las moléculas que se comportan como bolas de grasa tienen como limitante para su disolución el tercer paso de la fig. 1, esto quiere decir que, aunque el fármaco es capaz de liberar una partícula sin requerir gran cantidad de energía, al no ser compatible con el disolvente, la energía para crear un espacio en el mismo es muy elevada (mala solvatación) dando como resultado final una entalpía mayor a 0, lo que lleva a un proceso no espontáneo. Entre las técnicas para mejorar la solubilidad

---

de estos fármacos tenemos la adición de cosolventes, surfactantes y las formulaciones lipídicas (Williams *et al.* 2013).

Dado que las transiciones de energía asociadas con los cambios a la estructura del disolvente son pequeñas, es evidente que hay dos determinantes principales de la solubilidad del fármaco: 1) la energía necesaria para superar las fuerzas intermoleculares del soluto en el estado sólido y 2) la energía generada en la interacción de moléculas de soluto y disolvente en solución (solvatación) (Williams *et al.* 2013).

Existen varias estrategias para mejorar la velocidad de disolución del fármaco, estas incluyen 1) reducción del tamaño de partícula para aumentar el área de superficie, aumentando así la velocidad de disolución del fármaco (micronización); 2) solubilización en sistemas tensioactivos; 3) formación de complejos solubles en agua; 4) uso de profármaco y derivatización del fármaco, formas que usualmente tienen una velocidad de disolución más alta; y 5) manipulación del estado sólido de la sustancia del fármaco para mejorar la disolución del fármaco (es decir, al disminuir la cristalinidad de la sustancia farmacológica a través de la formación de soluciones sólidas). Sin embargo, la micronización pudiera no ser la mejor opción para fármacos lipófilos como es el caso de la enrofloxacin ya que solo se incrementa el área superficial a la cual no es afín el medio, la formación de sales incrementa la solubilidad en medio acuoso, sin embargo, al estar en su forma iónica la velocidad de absorción puede verse disminuida (Craig, 1993).

3.1.2 Cálculo de la solubilidad de fármacos no polares: Ecuación de Hildebrand y el parámetro de solubilidad (Aragon, 2008).

La solubilidad ideal de un soluto sólido ( $X_2^{id}$ ) en un disolvente líquido para obtener una solución líquida se calcula mediante la expresión (ecuación 3):

$$\log X_2^{id} = - \frac{\Delta H_{fus}(T_{fus} - T)}{2.303RT_{fus}T}$$

La solubilidad ideal depende exclusivamente de las propiedades del soluto sin considerar en absoluto a las propiedades del disolvente, por lo cual en principio este valor es constante y solo depende de la temperatura. En una solución ideal se tiene que los cambios entálpicos y volumétricos, durante el proceso de disolución son iguales a cero y por lo tanto el proceso se conduce únicamente de forma entrópica. Naturalmente, las soluciones ideales son inexistentes y solo sirven para explicar el comportamiento de las soluciones reales, en términos de las desviaciones presentadas por estas respecto al comportamiento ideal. Estas desviaciones son debidas principalmente a interacciones intermoleculares soluto-disolvente o disolvente-disolvente y a efectos volumétricos.

La solubilidad real ( $X_2$ ) se calcula adicionando el término de no-idealidad ( $\log \gamma_2$ ) a la expresión anterior, para obtener (ecuación 4):

$$-\log X_2 = \frac{\Delta H_{fus}(T_{fus} - T)}{2.303RT_{fus}T} + \log \gamma_2$$

El coeficiente de actividad ( $\log \gamma_2$ ) es un parámetro que toma en cuenta las interacciones que se producen entre los distintos componentes de una disolución y debe ser determinado experimentalmente para soluciones reales, en las cuales como se indicó previamente, se presentan interacciones de diversa índole, sin embargo, se han desarrollado diferentes técnicas para hacer estimados razonables de este término. Un ejemplo específico de esto lo constituyen las soluciones regulares introducidas por Hildebrand y Scatchard, en las cuales, a diferencia de las soluciones ideales, se permite un ligero cambio entálpico positivo, esto es, se requiere suministrar una pequeña cantidad de energía para que se conduzca el proceso de solución, mientras que el cambio entrópico es el correspondiente a una solución ideal. La solubilidad en las soluciones regulares se obtiene a partir de (ecuación 5):

$$-\log X_2 = \frac{\Delta H_{fus}(T_{fus} - T)}{2.303RT_{fus}T} + \frac{V_2 \phi_1^2}{2.303RT} (\delta_1 - \delta_2)^2$$

---

en la que,  $V_2$  es el volumen molar parcial del soluto ( $\text{cm}^3/\text{mol}$ ),  $\phi_1$  es la fracción volumétrica del disolvente en la solución saturada y  $\delta_1$  y  $\delta_2$  son los parámetros de solubilidad del disolvente y del soluto respectivamente. El parámetro de solubilidad se define como la raíz cuadrada de la densidad de energía cohesiva y se calcula como (ecuación 6):

$$\delta = \left( \frac{\Delta H_v - RT}{V_l} \right)^{0.5}$$

donde,  $\Delta H_v$  es la entalpía de vaporización y  $V_l$  es el volumen molar del líquido. En la literatura se encuentran disponibles los valores de parámetro de solubilidad para muchos disolventes y también para algunos compuestos sólidos, entre ellos varios fármacos. Puesto que la mayoría de soluciones de interés farmacéutico se desvían notoriamente del comportamiento de las soluciones regulares (debido al tipo de interacciones presentes, en particular la formación de enlaces de hidrógeno, y a la diferencia en los volúmenes molares entre solutos y disolventes) Martin *et al.*, plantearon a comienzos de los años 80 la aproximación extendida de solubilidad de Hildebrand, la cual ha resultado muy útil para estimar la solubilidad de varios fármacos en sistemas codisolventes binarios y ternarios.

Si se define el término volumétrico-energético,  $A$ , como (ecuación 7):

$$A = \frac{V_2 \phi_1^2}{2.303RT}$$

entonces, la solubilidad real de un soluto en cualquier sistema disolvente se puede calcular a partir de (ecuación 8):

$$-\log X_2 = -\log X_2^{\text{id}} + A(\delta_1^2 + \delta_2^2 - 2W)$$

en la cual, el término  $W$  es igual a  $2K\delta_1\delta_2$ , donde  $K$  es el parámetro de Walker introducido inicialmente para el estudio de soluciones de polímeros, el factor  $W$  compensa las desviaciones respecto al comportamiento de soluciones regulares, y se calcula a partir de datos experimentales como (ecuación 9):

---

---

$$W = 0.5 \left( \delta_1^2 + \delta_2^2 - \frac{\log \gamma_2}{A} \right)$$

donde,  $\gamma_2$  como se indicó anteriormente, es el coeficiente de actividad del soluto en la solución y se calcula de acuerdo con (ecuación 10):

$$\gamma_2 = \frac{x_2^{\text{id}}}{x_2}$$

Los valores obtenidos experimentalmente para el factor  $W$  pueden ser correlacionados mediante análisis de regresión usando polinomios regulares de orden superior en función del parámetro de solubilidad de las mezclas disolventes así (ecuación 11):

$$W = C_0 + C_1 \delta_1 + C_2 \delta_1^2 + C_3 \delta_1^3 \dots C_n \delta_1^n$$

Estos modelos polinómicos pueden ser utilizados para estimar la solubilidad por retro-cálculo (regresión en el cálculo, usando la ecuación obtenida a partir de los datos experimentales), resolviendo esta propiedad a partir del factor  $W$  obtenido de la regresión (Martínez, 2005).

La solubilidad de un fármaco en solución acuosa es una propiedad de fundamental importancia que no afecta sólo el potencial de absorción del fármaco por vía oral después de la administración y la capacidad de administrar el fármaco parenteral, sino también la facilidad de manipulación y pruebas en el laboratorio durante la fabricación. La solubilidad del fármaco y la velocidad de disolución son críticamente importantes cuando el tiempo disponible para la disolución es limitado. Esta velocidad es particularmente relevante después de la administración oral, ya que el tiempo de tránsito intestinal es finito y la velocidad de disolución del fármaco debe exceder significativamente la velocidad de absorción a través del TGI. Por ejemplo, la absorción de un fármaco con solubilidad razonable todavía puede ser pobre si la velocidad de disolución es baja, ya que el límite de solubilidad puede ser que nunca se alcance durante el tiempo del tránsito intestinal. Por el contrario, si la velocidad de disolución es relativamente rápida, pero la solubilidad en equilibrio es baja, la

---

cantidad de fármaco disponible en solución no será suficiente para absorber la totalidad de la dosis de fármaco en el TGI (Williams *et al.* 2013).

En consecuencia, se ha reportado que los estudios clínicos de fase I de numerosos nuevos fármacos candidatos, han fracasado después de la administración oral, debido a una farmacocinética insatisfactoria. Por lo tanto, contrarrestar la baja solubilidad en agua sigue siendo un desafío para el desarrollo exitoso de un medicamento (Alskär, 2016).

### 3.1.3 Sistema de Clasificación biofarmacéutica

En 1995, Amidon introdujo el Sistema de Clasificación Biofarmacéutica (BCS) (Amidon, 1995), el cual identifica a la solubilidad del fármaco en el medio gastrointestinal, y su permeabilidad a través del epitelio intestinal, como los dos parámetros clave en la absorción intestinal (Wolk *et al.* 2014). De acuerdo con el BCS, las moléculas de clase I son las que tienen una alta solubilidad y alta permeabilidad; compuestos de clase II son las que tienen baja solubilidad y alta permeabilidad (donde la solubilidad es la limitación principal para la absorción); compuestos de la clase III tienen una alta solubilidad, pero baja permeabilidad (donde la absorción está limitada por la permeabilidad de la membrana y no por la solubilidad); y compuestos de la clase IV son aquellos en los que se tiene baja solubilidad y baja permeabilidad, lo cual no favorece en nada la absorción del fármaco, ver fig. 2 (Wolk *et al.* 2014).

Si un fármaco de clase II puede mantenerse en un estado solubilizado en la luz del intestino se puede lograr un perfil de absorción más parecido al de un fármaco de clase I (Williams, 2013). Las estrategias de formulación pueden hacer poco para mejorar la absorción de los fármacos clases I y III que están limitadas por su permeabilidad de la membrana (Pouton, 2006).

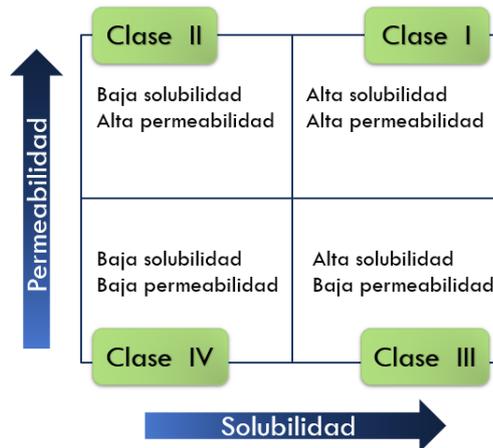


Figura 2. Representación típica del Sistema de Clasificación Biofarmacéutica (modificado de Pouton, 2006).

El Centro para la Evaluación e Investigación de Medicamentos (CDER) de la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA) incorporó conceptos sobre la BCS en documentos de orientación para medicamentos humanos en la Guía 2000 de la FDA para la Industria (FDA Guidance For Industry, 2000), incluida la orientación para la exención *in vivo*, requisitos de estudio de bioequivalencia para fármacos con una alta solubilidad y alta permeabilidad. Sin embargo, el BCS aún no ha sido extrapolado para su aplicación a medicamentos veterinarios, la razón de esta brecha es que el BCS se desarrolló en base a fisiología digestiva humana, que puede ser muy diferente de lo observado en especies veterinarias. Dada la similitud de entidades terapéuticas utilizadas en perros y humanos, y debido al uso del perro como una especie preclínica para medicina humana, sería de particular valor tener una comprensión de cómo los criterios de BCS pueden ser traducidos entre fisiologías gastrointestinales de humano y canino (Papich, 2015).

Una sustancia farmacológica se considera altamente soluble cuando la mayor dosis es soluble en 250 mL o menos de medio acuoso en el rango de pH de 1-6.8 (Amidon, 1995). El volumen estimado de 250 mL se deriva de protocolos de estudio típicos de bioequivalencia que prescriben la administración de un producto farmacológico a voluntarios humanos en ayunas con un vaso de agua. Sin embargo, este volumen es demasiado grande para ser apropiado para estimar el volumen de agua

---

administrado a un perro en ayunas. Por lo tanto, se ha explorado un volumen de 6 mL porque este es a menudo el volumen administrado a perros con medicación oral y también es el volumen residual en el estómago canino vacío. Así mismo, se ha propuesto un volumen de 35 mL porque es equivalente a los 250 mL escalado al tamaño de un perro Beagle promedio (la raza utilizada más a menudo en estudios de absorción oral de fármacos) (Papich, 2015).

Con lo anterior se ha demostrado que aplicar el mismo criterio para perros y humanos puede ser problemático. Al intentar designar una clasificación biofarmacéutica para fármacos veterinarios, existe la necesidad de desarrollar su solubilidad específica y evaluaciones de permeabilidad, lo cual aún no ha sido establecido y por lo tanto se sigue utilizando el BCS para humanos. Claramente, queda mucho trabajo por hacer para mejorar nuestra capacidad de predecir la absorción de fármacos en veterinaria cuando se basa en la caracterización fisicoquímica preliminar de fármacos y una extrapolación interespecies de farmacocinética *in vivo*. Esfuerzos para predecir la absorción del fármaco (o entender los factores causantes que afectan las diferencias interespecies) depende de una amplia gama de variables incluyendo solubilidad y permeabilidad del fármaco, formulación y variables fisiológicas (incluida la permeabilidad regional, diferencias que podrían diferir entre las especies), pH, enzimología luminal y mucosal, motilidad intestinal entre otras (Papich, 2015).

### **3.2 Formulaciones basadas en lípidos**

Para fármacos poco solubles y altamente permeables (Clase II), la velocidad de absorción oral a menudo es controlada por la velocidad de disolución en el TGI, por lo tanto, la permeabilidad y la solubilidad de un fármaco son determinantes clave de su biodisponibilidad oral (Javadzadeh, 2005).

Las opciones para la formulación de fármacos poco solubles en agua incluyen formulaciones sólidas cristalinas, formulación de amorfos, cosolventes, ciclodextrinas entre otros (Tiong, 2009). Sin embargo, para contrarrestar la baja solubilidad de los fármacos lipofílicos clase II, son utilizadas las formulaciones basadas en lípidos, que se consideran altamente eficientes, por lo que su campo de

---

investigación y aplicación se ha incrementado en la última década (Kalepu, 2015). El uso de lípidos en la formulación de medicamentos tiene la principal ventaja de que el fármaco podría permanecer en disolución durante todo el TGI (Williams *et al.* 2013).

Las formulaciones base lipídicas son un grupo diverso de formulaciones, que resultan de la mezcla de hasta cinco clases de excipientes como triglicéridos puros, aceites, glicéridos mixtos, tensioactivos lipófilos, tensioactivos hidrofílicos y codisolventes solubles en agua (Agarwal, 2009), éstas pueden mejorar significativamente la biodisponibilidad oral de moléculas de fármacos poco solubles en agua. Aunque la razón de dicha mejora no se ha producido, generalmente se cree que proviene de un aumento en la disolución *in vivo*. Más específicamente, el aumento en la velocidad de disolución resulta de la administración del fármaco en un estado predisuelto (típicamente en un microambiente de lípidos, tal como una solución lipídica, emulsión o microemulsión), que reduce la energía asociada con una transición de fase sólido-líquido y, a partir de una mayor solubilización del fármaco en las estructuras coloidales que se producen por la interacción de la formulación y sus productos de digestión con anfífilos biliares endógenos como sales biliares y fosfolípidos (Porter, 2004).

### 3.2.1 Clasificación de sistemas lipídicos

Las formulaciones lipídicas se caracterizan por incluir lípidos o aceites, tensoactivos, cotensoactivos y codisolventes de origen lipídico y se clasifican en cuatro grupos que pueden ser diferenciados por el grado en que se dispersan en agua y su digestibilidad, ver tabla 1.

Tabla 1. Clasificación de los sistemas lipídicos

Tipo de formulación	Materiales	Características	Ventajas	Desventajas
<b>Tipo I</b>	Aceites sin tensoactivos (e.g. tri, di y monoglicéridos)	No dispersión, requieren digestión	Estado GRAS; simple: excelente compatibilidad con cápsulas	Pobre capacidad disolvente a menos que el fármaco sea altamente lipófilico.
<b>Tipo II (250-2000nm)</b>	Aceites (40-80%) y tensoactivos insolubles en agua (20-60%)	Formación de SEDDS sin componentes solubles en agua	Poco probable que pierda la capacidad disolvente en la dispersión	Dispersiones turbidas o/w.
<b>Tipo III A (100-250nm)</b>	Aceites (40-80%), tensoactivos (20-40%), codisolventes (0-40%) (ambos excipientes insolubles en agua y solubles en agua)	Formación SEDDS/SMEDDS con componentes solubles en agua	Dispersión total o dispersión parcial absorción de fármaco sin digestión	Es posible perder la capacidad disolvente en la dispersión; menor facilidad de digestión
<b>Tipo III B (50-100nm)</b>	Aceites (<20%), tensoactivos (20-50%), codisolventes (20-50%) (ambos excipientes insolubles en agua y solubles en agua)	SMEDDS con componentes solubles en agua y bajo contenido de aceite	Dispersión transparente; la absorción del fármaco sin digestión	La pérdida probable de la capacidad disolvente de dispersión
<b>Tipo IV (&lt;50nm)</b>	Tensoactivos solubles en agua (80-100%) y codisolventes (0-20%) (Sin aceites)	Formulaciones típicamente dispersas para formar soluciones micelares.	Formulaciones tienen buena capacidad de disolvente para muchos fármacos	Posible pérdida de la capacidad disolvente de la dispersión.

*Modificado de Pouton CW, 2006 y 2008; Kollipara, 2014.*

Las formulaciones de tipo I son totalmente oleosas y están constituidas por aceites o lípidos que requieren ser digeridos, las formulaciones de tipo II generan sistemas autoemulsificables para la administración de fármacos (SEDDS) formados principalmente con excipientes hidrofóbicos, las formulaciones tipo III generan SEDDS o sistemas automicroemulsificables para la administración de fármacos

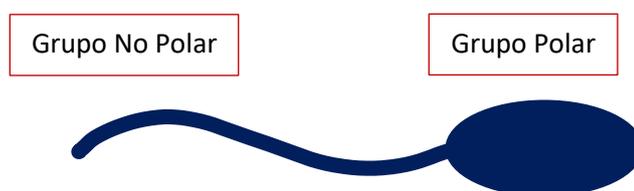
---

(SMEDDS), que contienen algunos tensoactivos solubles en agua y codisolventes (tipo IIIA) o una mayor proporción de componentes solubles en agua (tipo IIIB), las formulaciones tipo IV contienen excipientes lipídicos miscibles o solubles en agua y representan la mayor parte de las formulaciones hidrofílicas (Pouton y Porter 2008).

Los principales excipientes que permiten la generación de SEDDS son los tensoactivos ya que de ellos depende la formación de micelas las cuales son estructuras claves que favorecen la no precipitación del fármaco cuando este entra en contacto con un sistema acuoso, lo anterior es la principal ventaja de los sistemas autoemulsificables con respecto a las soluciones lipídicas simples (Shrestha, 2014). Los excipientes a menudo se agregan a formulaciones farmacéuticas para ayudar en la estabilización del compuesto activo (Khosravi, 2002).

### 3.2.2 Anfifílos y tensoactivos

La palabra anfifílo hace su aparición en el título del texto de P. Winsor hace más de 30 años. Se constituyó a partir de dos raíces griegas, por un lado, el prefijo “anfi” que significa “doble” y, por otra parte, la raíz “filo” que significa “afinidad”. La molécula típica de un anfifílo tiene dos partes (ver fig. 3); un grupo polar que contiene heteroátomos como O, S, P o N que se encuentran en grupo alcohol, ácido, sulfato, sulfonato, fosfato, amina, amida, etc., y un grupo apolar o poco polar que es en general un grupo hidrocarbonado de tipo alquil o alquil benceno, y que puede contener eventualmente átomos de halógeno y oxígeno. Muchas de estas sustancias anfifílas poseen la característica de modificar las interacciones interfaciales mediante la promoción de los fenómenos físicos de adsorción. Estas son conocidas como agentes de superficie o tensoactivos (Elbittar, 2013).



*Figura 3 Estructura básica de un tensoactivo.*

### 3.2.3 Tipos de tensoactivos

Los agentes tensoactivos pueden clasificarse sobre la base de su estructura química, sistema que guarda cierta correlación con aquel que se basa en el mecanismo de su acción. Por ejemplo, la mayoría de los emulsificantes que forman películas monomoleculares son compuestos orgánicos sintéticos. La mayoría de los que forman películas multimoleculares se obtienen de fuentes naturales y son orgánicos. Un tercer grupo está compuesto por partículas sólidas siempre inorgánicas, que forman películas compuestas por partículas sólidas finamente divididas. De acuerdo con esto, la clasificación divide a los agentes emulsificantes en sólidos sintéticos, naturales y finamente dispersados, en la tabla 2 se muestran ejemplos de cada grupo emulsificante.

Tabla 2. Clasificación de agentes emulsionantes

Tipo	Tipo de película	Ejemplos
Sintéticos (agentes tensoactivos)	Monomolecular	Aniónicos: Jabones (Laurato de potasio, estearato de trietanolamina) Sulfatos (Laurilsulfato de sodio, sulfatos de alquilpolioxietilenos) y Sulfonatos (Dioctilsulfosuccinato de sodio)
		Catiónicos: Compuestos de amonio cuaternario (Bromuro de cetiltrimetilamonio, Cloruro de laurildimetilbencilamonio)
		No iónicos: Éteres alcohólicos grasos de polioxietileno, Ésteres de ácidos grasos de sorbitán, Ésteres de ácidos grasos de polioxietileno-sorbitán, Bloques de copolímeros de polioxietileno polioxipropileno (poloxámero) alcohol de lanolina etoxilado.
Naturales	Monomolecular	Lectina, colesterol
	Multimolecular	Coloides hidrófilos: goma arábiga, gelatina
Sólidos finamente divididos	Películas sólidas	Arcillas coloidales: Bentonita y Veegum Hidróxidos metálicos: Hidróxido de magnesio

Modificado de Smith, 2015.

---

- Agentes emulsionantes sintéticos

Este grupo de agentes tensoactivos que actúan como emulsificantes puede subdividirse en aniónicos, catiónicos y no iónicos, según la carga del tensoactivo.

Aniónicos: en este subgrupo, el tensoactivo posee una carga negativa. Las sales de potasio, sodio y amonio de los ácidos láurico y oleico son solubles en agua y son muy buenos agentes emulsificantes O/W. Sin embargo, tienen gusto desagradable y son irritantes para el tracto gastrointestinal, esto los limita a emulsiones preparadas para uso externo.

Catiónicos: la actividad superficial de este grupo reside en el ión cargado positivamente. Estos compuestos tienen marcadas propiedades bactericidas lo que los hace convenientes para los productos antiinfecciosos emulsificados como las lociones y cremas para la piel. El pH de una emulsión preparada con un emulsificante catiónico se encuentra en el rango de 4-6. Los agentes catiónicos son emulsificantes débiles y por lo general se formulan con un agente emulsificante estabilizador o auxiliar como el alcohol cetoestearílico.

No iónico: estos tensoactivos no disociados se usan ampliamente como agentes emulsificantes cuando poseen un equilibrio apropiado entre grupos hidrófilos y lipófilos dentro de la molécula. Su popularidad se basa en que, a diferencia de los tipos aniónico y catiónico, los emulsificantes no iónicos no son susceptibles a los cambios de pH ni a la presencia de electrólitos. Con gran frecuencia, los mejores resultados se obtienen con mezclas de emulsificantes no iónicos.

- Agentes emulsionantes naturales

De los numerosos agentes emulsificantes derivados de fuentes naturales (es decir, plantas y animales), se consideran sólo la goma arábiga, la gelatina, la lectina y el colesterol. Muchos otros materiales naturales son sólo lo suficientemente activos como para funcionar como agentes emulsificantes auxiliares o estabilizadores.

- 
- Sólidos finamente dispersados

Este grupo de emulsificantes forma películas particuladas alrededor de las gotitas dispersas y produce emulsiones que, si bien son de grano grueso, tienen una estabilidad física considerable. Parece posible que cualquier sólido actúe como agente emulsificante de este tipo, siempre que se le reduzca a un polvo lo suficientemente fino. En la práctica, el grupo de compuestos más utilizado es el de las arcillas coloidales (Smith, 2015).

#### 3.2.4 Actividad superficial

Los tensoactivos deben su actividad superficial a la doble estructura de las moléculas anfipáticas, consecuencia de su absorción a la superficie de contacto solución-aire y mediante la cual la región hidrófoba de la molécula “escapa” del entorno hostil (ver fig. 4). Las moléculas presentes en la superficie de un líquido no están rodeadas completamente por otras moléculas similares, como sucede en el seno del líquido. Debido a ello, las moléculas del resto de la disolución ejercen sobre las moléculas de la superficie una fuerza neta de atracción hacia el interior, que induce a la superficie a contraerse. La contracción de la superficie es espontánea es decir, se acompaña de una disminución de la energía libre. Por consiguiente, la superficie contraída representa un estado de mínima energía libre y cualquier intento de expandir la superficie implica un aumento de la misma. La tensión superficial mide la fuerza de contracción de la superficie. Las moléculas tensoactivas en solución acuosa se orientan en la superficie alejando el grupo hidrofobo de la fase acuosa y consiguiendo de ese modo un estado de mínima energía libre. Debido a ello, algunas de las moléculas acuosas de la superficie son sustituidas por grupos no polares. Las fuerzas de atracción de estos grupos y las moléculas de agua, o entre los propios grupos, es menor que las que existen entre las moléculas de agua. De este modo, se reduce la fuerza de contracción de la superficie y, por consiguiente, la tensión superficial (Zafón, 2007).

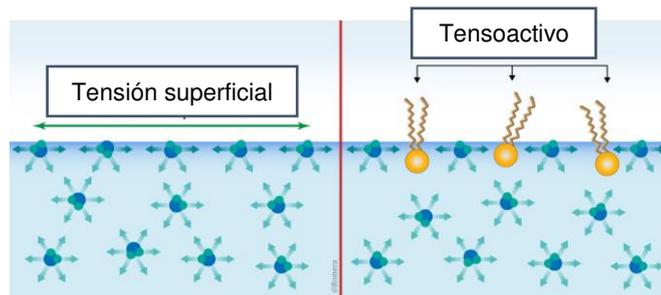


Figura 4. Orientación de un tensoactivo en una disolución (modificado de Lawrence, 2012).

En la superficie de contacto entre dos líquidos inmiscibles existe un desequilibrio parecido a las fuerzas de atracción. Generalmente, el valor de la tensión de superficie de contacto se sitúa entre los de las tensiones superficiales de los dos líquidos implicados, excepto cuando existe una interacción entre ambos. La intrusión de moléculas tensoactivas en la superficie de contacto entre dos líquidos inmiscibles reduce la tensión de superficie de contacto, en algunos casos hasta un valor tan bajo que se produce una emulsificación espontánea de los dos líquidos (Lawrence, 2012).

### 3.2.5 Formación de micelas

La tensión superficial de una solución disminuye generalmente al aumentar la concentración de tensoactivos, debido a que más moléculas de tensoactivo se localizan en la interfase. Sin embargo, a una concentración determinada, esta superficie se satura y se produce otra forma de protección de los grupos hidrófobos del tensoactivo frente al medio acuoso, que consiste en la formación de agregados de dimensiones coloidales, denominados "micelas" (Aulton 2004).

En los medios polares como el agua, la parte hidrofóbica es el núcleo, mientras que los grupos de cabeza polar tienden a localizarse en el seno del disolvente adoptando varias formas, dependiendo de las condiciones y la composición del sistema, como esferas distorsionadas, discos o barra (Bilia, 2014). Se denomina *concentración micelar crítica* o CMC a la concentración a la que empiezan a formarse las micelas en una disolución (Aulton 2004).

### 3.2.6 Escala HLB (Balance Hidrófilo-Lipófilo)

En 1949 Griffin estableció una escala continua de solubilidad, denominada escala HLB (escala del Balance Hidrófilo Lipófilo), basada en mezclas de ácido oleico (100% de tendencia lipofílica, en sus hipótesis) y oleato sódico (100% de tendencia hidrofílica), propuso una explicación semicuantitativa a esta regla analizando una importante cantidad de tensoactivos y agrupándolos en dos clases: los tensoactivos liposolubles (que forman emulsiones W/O) y los tensoactivos hidrosolubles (que forman emulsiones O/W) (Griffin,1949). Las mezclas de los dos componentes en diferentes proporciones fueron usadas para definir la relación hidrofílica/lipofílica en un tensoactivo. Griffin asignó los valores arbitrarios de 1 al ácido oleico y de 20 al oleato de sodio. Los valores intermedios fueron calculados con la siguiente relación:  $HLB=1W_1 + 20W_2$ ; donde  $W_1$  es la fracción de peso de ácido oleico y  $W_2$  es el del oleato de sodio. Cada mezcla muestra diferente polaridad y por consiguiente diferente capacidad emulsionante. Griffin verificó que para los valores de HLB menores a 10 se obtenían emulsiones W/O, mientras que las emulsiones O/W se obtuvieron para valores superiores a 10 (Arteaga 2006). La relación entre valores HLB y la aplicación del agente tensoactivo se muestra en la tabla 3 (Smith, 2015).

Tabla 3. Relación entre los límites HLB y aplicación surfactante

Limites HLB	Uso
0-3	Agentes antiespuma
4-6	Agentes emulsionantes W/O
7-9	Agentes humectantes
8-18	Agentes emulsionantes O/W
13-15	Detergentes
10-18	Agentes solubilizantes

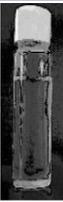
Modificado de Smith, 2015.

### 3.3 Sistemas dispersos

Se puede hablar de sistema disperso o dispersión cuando existen dos o más fases, estando subdividida alguna de ellas en partículas discretas (fase dispersa) y

dispersadas en el seno de otra (fase dispersante o continua). Los sistemas obtenidos se denominan genéricamente como emulsiones aunque se consideran, dentro de ellos y en función del tamaño de las partículas dispersas en la fase continua: las emulsiones (con un tamaño de gota entre 1 y 100 $\mu$ m), las nanoemulsiones (con un tamaño entre 20 y 200nm) y las microemulsiones (tamaño inferior a 100nm), ver tabla 4 (Arteaga 2006).

Tabla 4. Diferencias entre emulsiones, microemulsiones y nanoemulsiones

Propiedades	Emulsiones		Microemulsiones
	Nano-emulsión	Macro-emulsión	
Aspecto visual			
Diámetro característico	20-200nm	>1 $\mu$ m	<100nm
Estabilidad	Cinética		Termodinámica
Formación	Aporte de energía		Espontanea
Concentración de tensoactivo	Baja		Alta

Modificado de Arteaga, 2006.

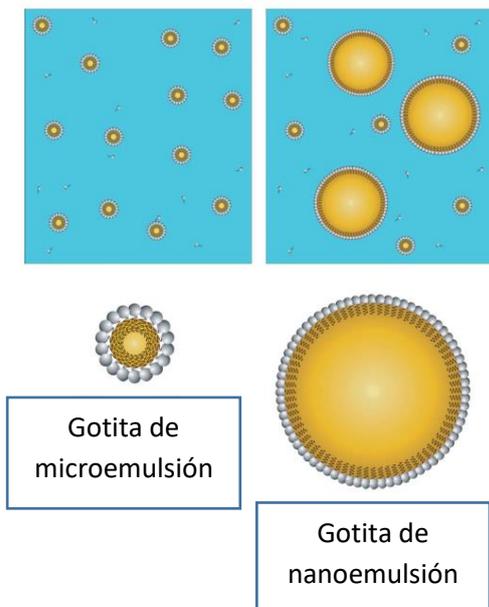
La tecnología de microemulsión es uno de los principios importantes de entrega de fármacos, que mejora la absorción de compuestos poco solubles. El desarrollo de la microemulsión depende de la selección de los excipientes adecuados (Hu, 2001). La microemulsión también conocida como micela hinchada, contiene gotitas con radios entre el rango de 2 a 100 nm, son termodinámicamente estables y se forman espontáneamente. Para la fabricación de nanoemulsiones y microemulsiones generalmente se requieren ingredientes bastante similares: una fase oleosa, una fase acuosa, un tensoactivo y probablemente un cotensoactivo (Bilia, 2014).

El término " microemulsión " se usa generalmente para referirse a líquidos isotrópicos termodinámicamente estables, formados por mezcla de aceite, agua y tensoactivo que pueden formar una variedad de sistemas dependiendo de su composición y el

medio ambiente (especialmente temperatura) pueden formar uno, dos, tres o más fases separadas que están en equilibrio (Pineros, 2017). Estas fases pueden ser agua continua, aceite continuo o bicontinuo dependiendo de las concentraciones, naturaleza y los arreglos de las moléculas presentes. Las estructuras dentro de estas fases pueden ser esferoidales (por ejemplo, micelas o micelas inversas), cilíndricas, laminares o bicontinuas (Lawrence, 2012).

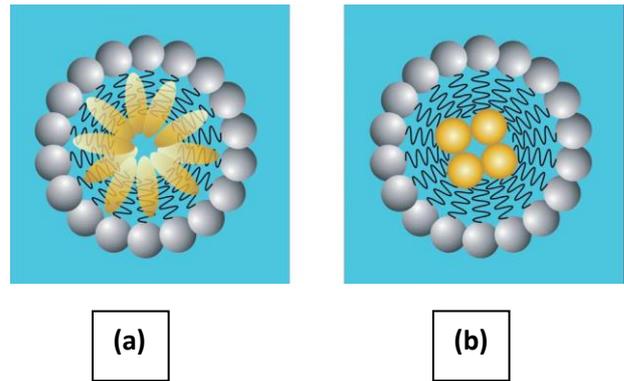
Las moléculas de tensioactivo en una microemulsión O/W están organizadas de tal forma que sus colas no polares se asocian formando un núcleo hidrofóbico (Fig. 5), ya que esto reduce termodinámicamente el área de contacto desfavorable entre grupos no polares y agua. Las moléculas de aceite pueden ser incorporadas en el interior hidrófobo de una micela como núcleo separado o entre las colas del tensioactivo (Fig. 6). Si las moléculas de aceite tienen algunos grupos polares, entonces pueden ser incorporados en la micela de tal manera que estos grupos interactúan con grupos polares sobre el tensioactivo.

Aunque el sistema final de encapsular un componente lipófilo puede ser una microemulsión de aceite en agua, es posible encapsular un componente lipófilo dentro de otros tipos de microemulsión (por ejemplo, agua en aceite o bicontinuo) y luego diluirlos en forma O/W usando una solución adecuada, ésta es la base de los SMEDDS.



*Figura 5. Diagrama esquemático de microemulsiones y nanoemulsiones fabricadas a partir de aceite, agua y tensioactivo. La estructura de las partículas en ambos tipos de dispersión coloidal es bastante similar, un núcleo hidrofóbico de colas de aceite y tensioactivo y una cubierta hidrófila de grupos de tensioactivos (McClements, 2012).*

Figura 6. Moléculas de aceite incorporadas en tensoactivos. Las moléculas de aceite pueden incorporarse entre las colas de surfactante (a) y / o dentro de la Núcleo de la micela (b) (McClements, 2012).



### 3.3.1 Estabilidad termodinámica de los sistemas dispersos.

La forma más fundamental de distinguir nanoemulsiones y microemulsiones es en términos de su estabilidad termodinámica. Esta diferencia entre los dos sistemas se muestra esquemáticamente en la Fig. 7, que compara la energía libre de las dispersiones coloidales a la energía libre de las fases separadas de que fueron preparados (es decir, aceite y solución acuosa de agente tensioactivo).

Para una nanoemulsión, la energía libre de la dispersión coloidal (gotas en agua) es mayor que la energía libre de las fases (aceite y agua), lo que significa que una nanoemulsión es termodinámicamente inestable. En contra parte en una microemulsión, la energía libre de la dispersión coloidal (gotitas en agua) es menor que la energía libre de las fases separadas (aceite y agua), que significa que una microemulsión es termodinámicamente estable.

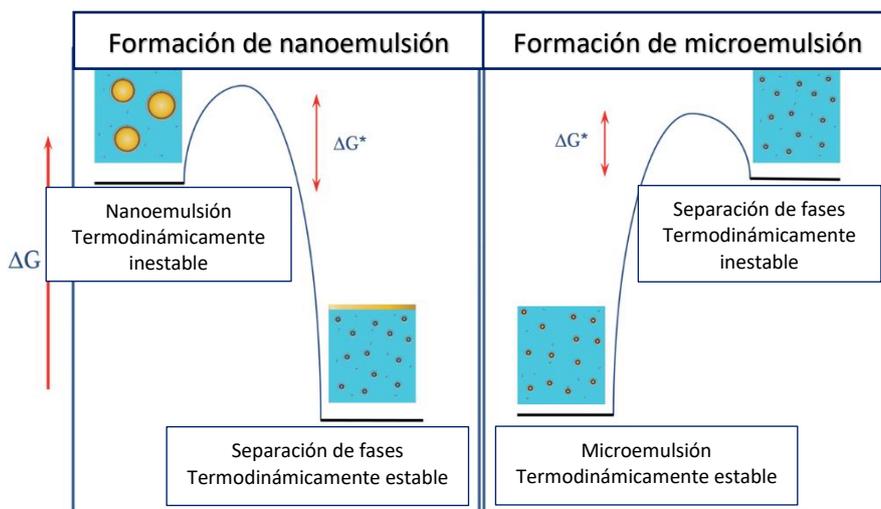


Figura 7. Diagrama esquemático de la energía libre de los sistemas de microemulsión y nanoemulsión comparado con el estado separado de fase. Las microemulsiones tienen una energía libre más baja que la fase mientras que las nanoemulsiones tienen una mayor energía libre. Los dos estados están separados por una energía de activación  $\Delta G^*$  (McClements, 2012).

---

### 3.3.2 Modelo matemático de la estabilidad termodinámica.

La base molecular para la diferencia en las estabilidades termodinámicas de microemulsiones y nanoemulsiones puede ser entendida mediante el desarrollo de un modelo matemático para calcular la energía de su formación a partir de los componentes. Considerando un sistema que existe en equilibrio entre una dispersión coloidal (nanoemulsión o microemulsión) y las fases separadas (aceite y una solución acuosa de tensioactivo). En una primera aproximación, el cambio asociado con la energía libre de formación en una dispersión coloidal para la separación de fases consiste en energía libre interfacial ( $\Delta G_I$ ) y una entropía de configuración ( $-T\Delta S_{config}$ ) (ecuación 12):

$$\Delta G_{formación} = \Delta G_I - T\Delta S_{config}$$

A temperatura, presión y potencial químico interfacial constante, la energía libre interfacial es igual al incremento en el área de contacto entre el aceite y las fases acuosas ( $\Delta A$ ) multiplicado por la tensión interfacial ( $\gamma$ ) de la relación interfase aceite-agua (ecuación 13):

$$\Delta G_I = \gamma\Delta A$$

El término de energía libre interfacial es siempre positivo porque el aumento de área de contacto y la tensión interfacial son positivos. Por lo tanto, este término siempre se opone a la formación de dispersiones coloidales.

El término de entropía de configuración depende en la cantidad de formas diferentes en que la fase oleosa se puede arreglar dentro del sistema. El término de entropía de configuración siempre es negativo porque el número de arreglos accesible a la fase oleosa en un estado emulsificado es mucho mayor que en un estado no emulsificado, y por lo tanto siempre favorece la formación de dispersiones coloidales. Una expresión para la entropía de configuración puede derivarse de un análisis estadístico del número de configuraciones que las gotas de aceite pueden adoptar en el dispersión coloidal y estados separados.

---

La entropía de configuración puede calcularse a partir de (ecuación 14):

$$\Delta S_{config} = -\frac{nk}{\phi} (\phi \ln \phi + (1 - \phi) \ln (1 - \phi))$$

Donde,  $k$  es la constante de Boltzmann,  $n$  es el número de gotitas en la dispersión coloidal,  $\phi$  es la fracción de volumen de la fase dispersa.

El análisis anterior supone que la tensión interfacial de una monocapa de tensoactivo alrededor de una gota de aceite es igual que en una interfaz planar aceite-agua. Sin embargo, se conoce que la tensión interfacial depende de la disminución de la curvatura de la monocapa del tensoactivo, como la monocapa se acerca a su curvatura óptima, que depende de la geometría molecular de las moléculas de tensoactivo presentes. Usamos una descripción fenomenológica simple de la dependencia de la tensión interfacial en curvatura de gota para modelar este efecto expresado como (ecuación 15):

$$\gamma = \gamma_0 + (\gamma_\infty - \gamma_0) \frac{(R_0 - R)^2}{R_0^2 + R^2}$$

Aquí  $\gamma$  es la tensión interfacial en una interfaz planar aceite-agua,  $\gamma_0$  es la tensión interfacial y  $R_0$  es el radio de la gota cuando la monocapa del tensoactivo está en su curvatura óptima. La dependencia de la tensión interfacial en el tamaño de la gotita calculado, usando esta ecuación es la que se muestra en la fig. 8, que muestra la existencia de un valor mínimo alrededor de la curvatura óptima (McClements, 2012).

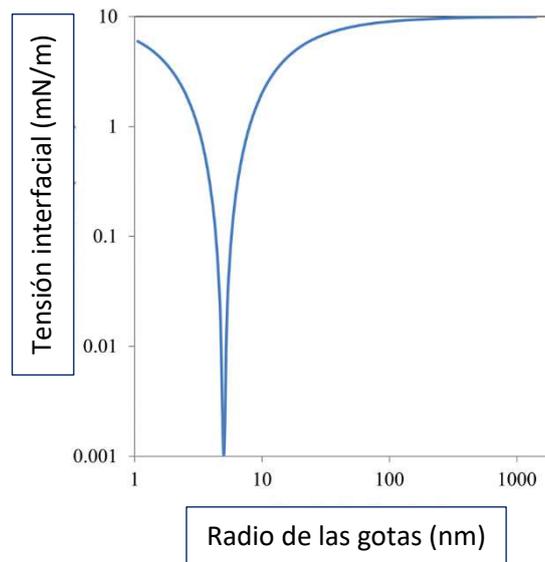


Figura 8. Influencia pronosticada del radio de las gotitas sobre la tensión interfacial para una monocapa de tensioactivo que tiene un radio óptimo de partícula de 5 nm (McClements, 2012).

En general, las nanoemulsiones se pueden hacer desde un rango más amplio de agentes activos de superficie que las microemulsiones. Típicamente, solo los tensioactivos de molécula pequeña pueden ser usados para preparar microemulsiones porque solo ellos son capaces de generar tensiones interfaciales ultrabajas. Por otra parte, tensioactivos de molécula pequeña, proteínas y los polisacáridos se pueden usar como agentes activos de superficie para formar nanoemulsiones. Por lo tanto, si una dispersión coloidal que contiene partículas pequeñas ( $r < 100$  nm) se estabilizan por una proteína o un polisacárido, por lo tanto, es probable que sea una nanoemulsión en lugar de una microemulsión. Uno de los principales razones de este fenómeno es que las monocapas de los tensioactivos pueden adoptar una curvatura que da una tensión interfacial ultrabaja (0.001 mN/m para una partícula de 5 nm de radio, ver fig. 8), mientras que las proteínas y los polisacáridos no pueden (McClements, 2012).

### 3.4 SEDDS: Sistemas autoemulsificables para la administración de fármacos

Aunque la administración oral sigue siendo la vía preferida para la administración de medicamentos, hay barreras biológicas que tienen un efecto limitante en la

---

biodisponibilidad del fármaco. La capa de moco es el primer obstáculo que se supera en el intestino delgado con el fin de alcanzar la absorción, el mucus protege las superficies de los tejidos de la mucosa y actúa como una barrera semipermeable que permite el intercambio de nutrientes, agua, gases, hormonas, etc. y, por otro lado, es impenetrable para la mayoría bacterias y muchos patógenos. Este robusto mecanismo de barrera puede atrapar a los fármacos y evitar su contacto con la superficie del epitelio y disminuir aún más la absorción y la biodisponibilidad del fármaco (Leichner, 2017). Sin embargo, las nanopartículas y los SEDDS han ganado mucha atención debido a su habilidad para superar estas barreras fisiológicas donde posteriormente el fármaco hidrofóbico penetra fácilmente la membrana basolateral y entra en la circulación sistémica (Hu, 2002) a través de tres procesos: transporte activo o facilitado, transporte pasivo (difusión simple a través de la bicapa) y transporte pasivo paracelular (difusión simple a través de canales). El transporte por difusión simple a través de la bicapa es limitado a compuestos hidrófobos relativamente pequeños. La absorción de moléculas grandes e hidrofílicas se limitan principalmente a la vía paracelular. La membrana no es continua, pero se interrumpe por poros acuosos, cuyo diámetro permite moléculas pequeñas como agua o urea pasar libremente, fármacos con alta solubilidad en agua y bajo peso molecular puede cruzar esta barrera por un proceso de filtración a través de los poros de la membrana (Prasad, 2003).

Un enfoque adicional y exitoso para mejorar la solubilidad, la estabilidad química y la biodisponibilidad oral de moléculas poco solubles en agua es el uso de SEDDS. Estos están definidos como mezclas isotrópicas de aceite, tensoactivo (hidrofílico o lipofílico), cotensoactivo y fármaco, que pueden ser administrados como una forma de mezcla de tensoactivo-aceite o microemulsión de agua en aceite (W/O) y se espera que se conviertan en microemulsiones de aceite en agua (O/W) en la mucosa objetivo, como la mucosa intestinal, intraoral u ocular (Bernkop-Schnürch, 2018). Sin embargo, la aplicación de la tecnología en productos comercializados es todavía limitada, ya que solo hay unos pocos productos disponibles basados en lípidos (Gumaste, 2013). Una de las principales razones es la falta de difusión de la

---

aplicación de formulaciones base lipídicas que si bien, tienen algunas ventajas sobre emulsiones, en comparación con formas de dosificación sólidas, todavía hay algunos inconvenientes prácticos asociados con los SEDDS, los cuales como formulaciones líquidas tienen varias desventajas tales como baja capacidad de carga de fármacos, inestabilidad, interacción de almacenamiento con cápsulas duras o blandas y pocas opciones de formas de dosificación (Truong, 2016). Para superar estas limitaciones, los SEDDS líquidos (L-SEDDS) se pueden transformar en formas de dosificación sólidas mediante el uso de diferentes métodos (llenado cápsulas con SEDDS líquidos o semisólidos, adsorción al soporte sólido, granulación por fusión, secado por pulverización o formación de nanopartículas), SEDDS sólidos (S-SEDDS) combinan las ventajas de las formulaciones líquidas de lípidos con las de formas de dosificación sólidas, como una mayor estabilidad y un mayor período de almacenamiento (Czajkowska-Kośnik, 2015).

El desarrollo y la caracterización de SEDDS y SMEDDS han sido revisadas exhaustivamente en las últimas décadas. Un número de técnicas biofísicas se han utilizado para caracterizar estos sistemas, técnicas de dispersión de luz dinámica (DLS), dispersión de neutrones de ángulo bajo (SANS) y dispersión de rayos X de ángulo bajo (SAXS) pueden ofrecer información útil para conocer la estructura de las microemulsiones junto con la microscopía electrónica de fractura por congelación. Así mismo, la viscosidad y las mediciones de conductividad pueden ofrecer nuevas ideas sobre la caracterización de estos sistemas en un nivel macroscópico (Fatouros, 2007).

Los SEDDS han demostrado ser una herramienta prometedora para la administración oral de péptidos terapéuticos como insulina, daptomicina, desmopresina, lanreótida y leuprolida, inhibidores de proteasas del VIH como ritonavir (Norvir®) y saquinavir (Fortovase®) y fármacos como naproxeno, atorvastatina, griseofulvina, indometacina, fenofibrato, daptomicina, piroxicam, gentamicina, rosuvastatina entre otros (Zupancic, 2017; Thi, 2009; Hentzschel, 2012; Abo Enin, 2015; Saxena, 2013).

---

Un estudio realizado por Zhang en 2012 reportó la preparación de SMEDDS para mejorar la biodisponibilidad oral de puerarin. El aceite de ricino se usó como la fase oleosa, Cremophor® EL como el tensoactivo y 1,2-propanodiol como el cotensoactivo. El tamaño medio de partícula fue de  $50 \pm 8$  nm. La farmacocinética y la biodisponibilidad de puerarin-SMEDDS en comprimidos de liberación prolongada y tabletas de puerarin fueron comparados en perros beagle. La biodisponibilidad absoluta de puerarin-SMEDDS se incrementó en 2.6 veces en comparación con la tableta puerarin. Los parámetros farmacocinéticos obtenidos para los comprimidos de liberación prolongada fueron:  $C_{max}$  ( $0.33 \pm 0.02$   $\mu\text{g/mL}$ )  $T_{max}$  ( $280 \pm 30$  min) y  $AUC_{0 \rightarrow t}$  ( $150.06 \pm 27.92$   $\mu\text{g h / mL}$ ) en comparación con las tabletas de puerarin con un  $C_{max}$  ( $0.27 \pm 0.05$   $\mu\text{g/mL}$ ),  $T_{max}$  ( $90 \pm 7.5$  min) y un  $AUC_{0 \rightarrow t}$  ( $57.78 \pm 23.27$   $\mu\text{g h / mL}$ ). La biodisponibilidad relativa de los gránulos de SMEDDS fue del 259.7% en comparación con el grupo de tabletas convencionales. Los resultados demostraron que los gránulos puerarin-SMEDDS tenían un efecto de liberación sostenida, y podría mejorar notablemente la biodisponibilidad oral de puerarin (Bilia, 2014).

#### 3.4.1 Digestión de SEDDS

Los sistemas de administración de fármacos basados en lípidos abarcan una gama de formulaciones, desde soluciones lipídicas simples hasta los SEDDS avanzados. La selección de excipientes lipídicos no solo afecta la solubilidad del fármaco en las formulaciones sino también la solubilización del fármaco en TGI durante la digestión de los lípidos, así como su absorción y biodisponibilidad. La fig. 9 es una ilustración simplificada de la digestión de formulaciones a base de lípidos y formación de micelas en el TGI, los lípidos parcialmente digeridos del estómago se solubilizan en los fluidos del TGI en presencia de jugo biliar y pancreático, las emulsiones se convierten adicionalmente en micelas de sal biliar y vesículas laminares. Estas partículas entregan lípidos digeridos y moléculas de fármaco a los enterocitos, y tanto las moléculas de lípidos como las de los fármacos se absorben posteriormente (Mu, 2013).

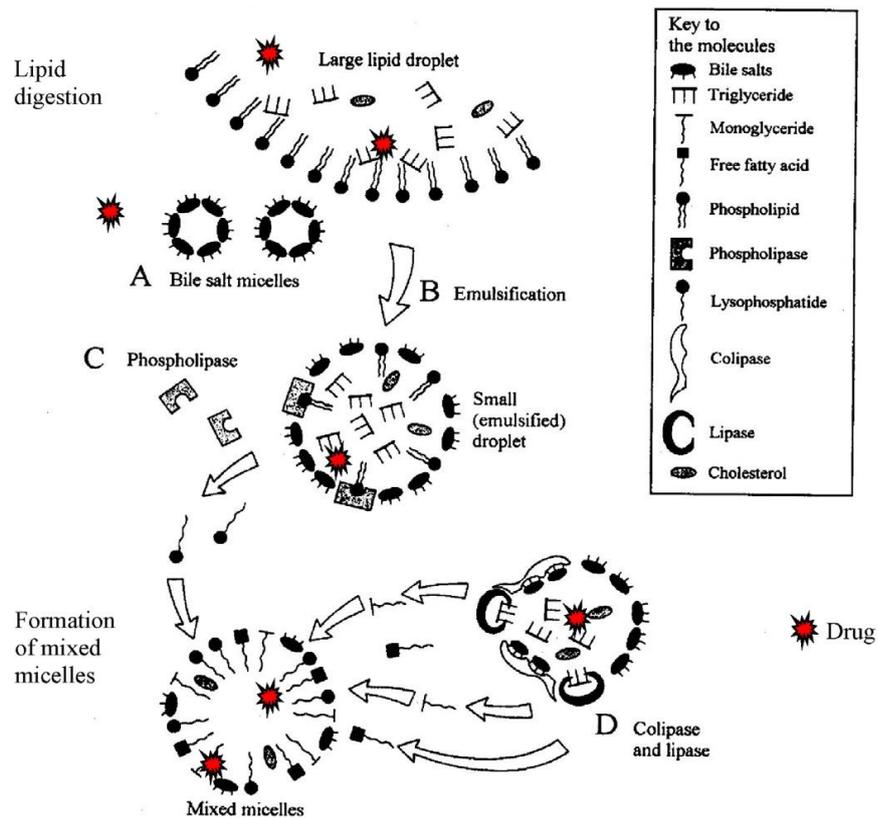


Figura 9. Digestión de formulaciones a base de lípidos y formación de micelas en el TGI (Mu, 2013).

Los excipientes susceptibles a la degradación incluyen di y triglicéridos, así como algunos tensoactivos de uso común, como Labrasol, Labrafil y Tween 80. La liberación de compuesto de formulación basada en SEDDS se cree que tiene lugar por dos vías principales: transferencia interfacial y degradación del vehículo. La transferencia interfacial se puede describir como proceso impulsado por gradiente de concentración en el que el compuesto se difunde desde la formulación al intestino grueso o directamente sobre la membrana intestinal. Se cree que la velocidad y el alcance de la transferencia se rige por el coeficiente de partición, solubilidad en la formulación y el tamaño de partícula y, por lo tanto, el área superficial. El segundo camino es la degradación del vehículo que induce la liberación del compuesto fuera del vehículo. Como se mencionó anteriormente, para formulaciones basadas en lípidos, la degradación más importante es la lipólisis catalizada por lipasa pancreática. La velocidad de liberación se cree que es dependiente sobre la

---

solubilidad del compuesto en la formulación y alcance de la degradación del vehículo (Fatouros, 2007).

La coadministración de fármacos lipofílicos con lípidos tiene el potencial de activar vías endógenas de procesamiento de lípidos para ayudar a la absorción del fármaco. Estos se pueden agrupar ampliamente en mecanismos que apoyan la solubilización, aquellos que facilitan absorción y permeabilidad a través del enterocito, y los que estimulan el transporte linfático intestinal.

Las LBF (formulaciones base lipídicas) cumplen con el requisito de continuar la solubilización ya que la formulación se procesa en el TGI y con la necesidad de transferencia o partición en gotas coloidales que son lo suficientemente pequeñas para permitir difusión a través de la capa de agua no agitada (UWL) y de la membrana absorbente. En la membrana de absorción, el conocimiento actual sugiere que la absorción de fármacos se produce a través de la fracción del fármaco que está presente en forma libre en solución y en equilibrio con el depósito solubilizado. La absorción del fármaco agota la concentración libre en solución, y esto se repone rápidamente con la partición del fármaco del depósito solubilizado para mantener el equilibrio de solubilización. En esencia, el tradicional paso de disolución sólido-líquido que ocurre con formas de dosis sólidas (y limitadas por el estado sólido, propiedades de la red cristalina) es reemplazado por un rápido paso de división líquido-líquido entre el depósito solubilizado y el fármaco libre en solución. Continuar la solubilización es importante, ya que la precipitación de fármacos recrea fármacos sólidos y resulta en la reversión del proceso de absorción del fármaco que refleja la situación en la administración de una forma de dosis sólida o suspensión.

La solubilización de un fármaco lipófilo, poco soluble en agua en el contenido GI es por lo tanto una función de lo siguiente:

- Evitar la precipitación de fármacos como a partir de la LBF inicialmente dispersa.
- Estimulación de la secreción de solubilizadores lipídicos endógenos (sal biliar, fosfolípido, colesterol).

- 
- Suministro de lípidos exógenos (derivados de formulación), productos de digestión de lípidos, tensoactivos y codisolventes
  - Generación de especies coloidales mixtas de especies endógenas y solubilizadores exógenos con la capacidad de solubilización para prevenir la precipitación de fármacos durante el TGI.

La precipitación de los fármacos está dictada en gran medida por la hidrofiliidad de los componentes presente en la formulación. Por lo cual, la incorporación de cantidades grandes de tensoactivos y codisolventes miscibles en agua aumenta el riesgo de precipitación debido a que el poder de solubilización de estos componentes se pierde en la dilución. En general, los fármacos menos lipofílicos parecen ser más favorables de digerir en formulaciones lipídicas y en las fases lipídicas coloidales formadas por la incorporación de productos de digestión en especies micelares endógenas. A diferencia de los fármacos altamente lipofílicos que se acumulan en cualquier aceite no digerido.

En la fig. 10 se representan los mecanismos por los cuales las LBF promueven la absorción y la biodisponibilidad de fármacos poco solubles en agua los cuales están enlistados a continuación:

- 1) Evitar la necesidad de la disolución tradicional del fármaco presentándolo como una dispersión en la LBF.
- 2) Formación de una microemulsión dispersa dentro del estómago donde el fármaco permanece solubilizado.
- 3) Estimulación de secreción biliar, sal biliar y liberación de micelas de fosfolípidos en el lumen del intestino y por lo tanto un aumento en las concentraciones de solubilizantes intestinales derivados de bilis.
- 4) Combinación de secreciones biliares con digestión de lípidos producidos en el lumen del intestino delgado para formar especies coloidales, que incluyen gotitas de emulsión, vesículas y micelas mixtas, que tienen alta capacidad de solubilización para fármacos poco solubles en agua. Teniendo en cuenta que la liberación de lipasa

pancreática y co-lipasa de la vesícula biliar facilita la digestión de los lípidos de la formulación y por lo tanto la formación de productos más polares que ayudan en la formación de vesículas y micelas mixtas.

5) Promoción de transporte de masa a través de la UWL mediante el transporte dentro de micelas mixtas intestinales.

6) Permeabilidad mejorada del fármaco en toda la membrana apical del enterocito donde los componentes de la formulación pueden alterar la permeabilidad pasiva.

7) Transporte a través del enterocito mediante la interacción con proteínas de unión a lípidos citosólicos.

8) Los fármacos altamente lipofílicos tienen el potencial para la asociación con las lipoproteínas en el enterocito y la captación en la linfa intestinal en lugar de los capilares sanguíneos mesentéricos, y, por lo tanto, se transporta a la circulación sistémica a través de una ruta que evita el paso por el hígado y el metabolismo hepático de primer paso.

9) Protección contra el metabolismo de fármacos por enterocitos, ya sea directamente por efecto de los excipientes sobre la actividad enzimática o indirectamente cuando existe una asociación de lipoproteínas dentro del enterocito (Williams, 2013).

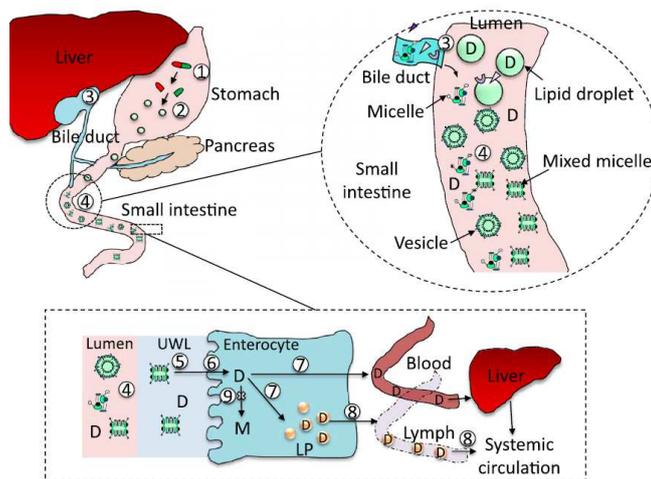


Figura 10. Esquema de los mecanismos por los cuales los fármacos poco solubles en agua son absorbidos a partir de formulaciones basadas en lípidos (Williams, 2013).

### 3.4.2 Diagramas de fase ternarios

El comportamiento de fase de los sistemas ternarios se puede representar a temperatura y presión constantes, sobre un diagrama ternario clásico. La representación ternaria se realiza sobre un triángulo equilátero, utilizando el hecho que la suma de las tres alturas formadas desde un punto interior es constante. Se refiere la composición del sistema en relación con una propiedad que se conserva globalmente; en general, se utilizan las fracciones molares o los porcentajes en peso para representar las diferentes concentraciones.

La concentración de un componente C en un sistema ternario representado por un punto S del diagrama triangular es entonces, proporcional a la altura que une el punto S al lado opuesto del vértice que representa el componente C. La fig. 11 muestra el principio de la representación ternaria en un triángulo equilátero. Se indica una manera simple de buscar la fracción de C en el sistema representado por S, gracias a una graduación del porcentaje de C sobre el lado BC. El porcentaje de A se leerá sobre el lado CA y el de B sobre el lado AB siguiendo las flechas.

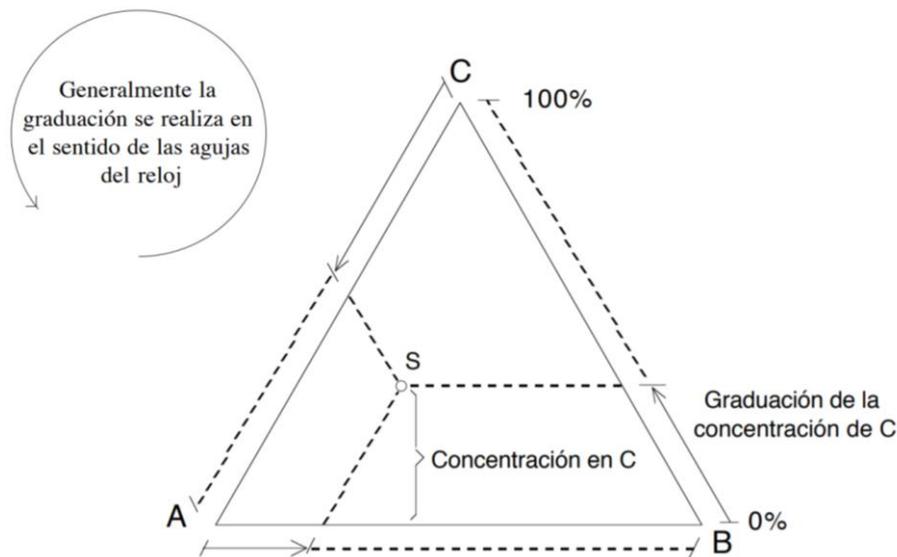


Figura 11. Construcción de un diagrama de fase ternario (Pineros, 2016).

### 3.5 Caracterización de los SEDDS

#### 3.5.1 Prueba visual de autoemulsificación

La evaluación visual de la autoemulsión es una prueba visual para evaluar las propiedades de autoemulsión reportadas por Talegaonkar *et al.* Las cuales fueron modificadas y adaptadas en el presente estudio. En este método, se introduce una dosis unitaria de la formulación en 250 mL de agua en un vaso de precipitados que se mantiene a temperatura constante de  $37 \pm 0.5$  ° C y el contenido se mezcla suavemente utilizando un agitador. La tendencia a emulsionarse espontáneamente es observada (Bakhle y Avari 2015) y sobre la base de la dispersabilidad, apariencia y el tiempo requerido para emulsionar SEDDS se categorizan en "Grado A", "Grado B", "Grado C" y "Grado D" de acuerdo con la tabla 5. (Talegaonkar *et al.* 2010).

Tabla 5. Grado de autoemulsificación

Grado	Observación
A	Formación rápida ( $\leq 1$ minuto) nanoemulsión de apariencia translúcida o levemente azulada
B	Microemulsión translúcida de formación rápida o levemente azulada
C	Emulsión blanca azulada de formación $\geq 1$ minuto
D	Emulsión turbia y blanquecina que tiene un tiempo de dispersión $\geq 1$ minuto
E	Formulación que muestra un tiempo de dispersión $\geq 2$ minutos con glóbulos de aceite visibles

Modificado de Talegaonkar, 2010.

#### 3.5.2 Propiedades organolépticas

El color, olor y sabor son características especialmente importantes en la formulación administrada por vía oral. Cambios de color, olor o en de sabor pueden indicar inestabilidad química (Talegaonkar, 2010).

---

### 3.5.3 Tamaño de partícula

Técnicas de dispersión como la dispersión dinámica de la luz (DLS), dispersión de neutrones de ángulo pequeño (SANS) y dispersión de rayos X de ángulo bajo (SAXS) pueden ofrecer información útil para la estructura de las microemulsiones junto con la microscopía electrónica de fractura por congelación. La viscosidad dieléctrica y las mediciones de conductividad pueden ofrecer nuevas ideas sobre la caracterización de estos sistemas en un nivel macroscópico (Fatouros *et al.* 2007).

La distribución del tamaño de gota de las vesículas de microemulsión puede ser determinado por microscopía electrónica o dispersión de la luz. La dispersión de luz dinámica (DLS), a la que a veces se hace referencia como dispersión de luz cuasi elástica (QELS), es una técnica no invasiva y bien establecida para medir el tamaño y distribución de tamaño de moléculas y partículas típicamente en la región submicrométrica, y con la última tecnología, inferiores a 1 nm.

Las aplicaciones típicas de la dispersión de luz dinámica son la caracterización de partículas, emulsiones o moléculas que se han dispersado o disuelto en un líquido. El movimiento Browniano de las partículas o moléculas en suspensión hace que la luz láser se disperse en diferentes intensidades. Del análisis de estas fluctuaciones de intensidad se obtiene la velocidad del movimiento browniano y por lo tanto el tamaño de partícula utilizando la relación de Stokes-Einstein.

### 3.5.4 Potencial Zeta

El potencial zeta es una medida de la magnitud de la repulsión o atracción electrostática (o de carga) entre las partículas, cuando dos partículas hidrofóbicas no cargadas están muy cerca, se atraen entre sí por las valencias secundarias de Van der Waals, principalmente las fuerzas de dispersión de London. En el caso de dos partículas, cada átomo de una partícula atrae a cada átomo de la otra partícula. Debido a que las fuerzas atractivas son casi aditivas, decaen menos rápido a mayor distancia entre partículas. Por lo tanto, cada vez que dos partículas se acercan entre sí, las fuerzas atractivas toman el control y hacen que se adhieran. La coagulación ocurre cuando las partículas primarias se agregan en forma creciente a partículas o

---

flóculos secundarios más grandes, si la dispersión consiste en dos tipos de partículas, una positiva y otras con cargas negativas, la atracción electrostática entre tales partículas con carga opuesta se superpone a la atracción por Van der Waals se aceleran las fuerzas y la coagulación. Si la dispersión contiene solo un tipo de partícula con la misma carga de superficie y densidad de carga, entonces la repulsión electrostática tiende a evitar que las partículas se acerquen lo suficiente como para entrar en el alcance efectivo de las fuerzas atractivas de Van der Waals. Esto estabiliza la dispersión contra la adhesión entre partículas o coagulación (Felton, 2013).

El potencial Z es uno de los parámetros fundamentales que se sabe que afectan la estabilidad. Su medición aporta información detallada de las causas de la dispersión, agregación o floculación, y se puede aplicar para mejorar la formulación de dispersiones, emulsiones y suspensiones. Básicamente, se trata de medir la velocidad de desplazamiento de las partículas inmersas en un campo eléctrico.

### 3.6 Enrofloxacin

La Enrofloxacin pertenece a una clase general de antibióticos conocidos como fluoroquinolonas. La enrofloxacin es relacionada estructuralmente a la ciprofloxacina (la enrofloxacin presenta un grupo etil adicional en el anillo piperazínico). El progenitor de las quinolonas fluorinadas es el ácido nalidixico. La adición de un átomo fluorinado y otros cambios sintéticos realizados al ácido nalidixico, resultaron en un antibiótico de amplio espectro con mejor distribución tisular y pocos efectos colaterales, ver fig. 12 (Küng, 1993).

#### 3.6.1 Propiedades físicas, químicas y fisicoquímicas

**Nombres adicionales:** 1-Cyclopropyl-6-fluoro-7-(4-ethyl-1-piperazinyl)-1,4-dihydro-4-oxo-3-quinolinecarboxylic acid

**Masa Molar:** 359.395 g·mol<sup>-1</sup>

**Punto de fusión:** 224-226 °C

**Log P:** 4.7 a pH= 7

**Solubilidad:** 0.6 mg/mL en agua a 25°C

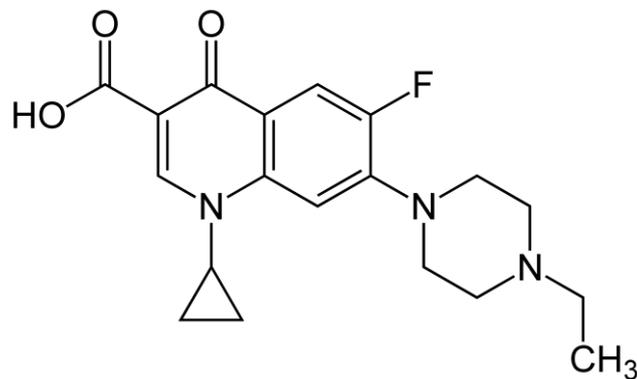


Figura 12. Estructura molecular de la enrofloxacin (Papich, 2016).

### 3.6.2 Indicación terapéutica

Tanto la enrofloxacin como la ciprofloxacina presentan un espectro de actividad similar. Estos agentes presentan buena actividad en contra de múltiples bacilos y cocos gram-negativos, incluyendo la mayoría de las especies y cepas de *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella sp.*, *E. coli*, *Enterobacter*, *Campylobacter*, *Shigella*, *Salmonella*, *Aeromonas*, *Haemophilus*, *Proteus*, *Yersinia*, *Serratia*, y *Vibrio*. De las quinolonas disponibles comercialmente en la actualidad, la ciprofloxacina y la enrofloxacin presentan los valores mínimos (0.250 µg/mL) en la concentración mínima inhibitoria (CMI) para la mayoría de los patógenos antes mencionados (Arcos, 2010).

### 3.6.3 Farmacocinética de la enrofloxacin

#### **Absorción**

Tanto la enrofloxacin como la ciprofloxacina son bien absorbidas posterior a administración oral en la mayoría de las especies. Sin embargo, en perros la biodisponibilidad de la enrofloxacin (aproximadamente el 80%) es alrededor del doble del de la ciprofloxacina posterior a la dosificación oral. El 50% de la concentración máxima es alcanzado en 15 minutos de la dosificación y los niveles máximos ocurren dentro de una hora de la administración. La presencia de alimento en el estómago puede retardar la velocidad, pero no la cantidad de absorción.

---

## **Distribución**

La enrofloxacin es ampliamente distribuida a través del cuerpo. El volumen de distribución en perros es al menos de 2.8 L/kg. Solo alrededor del 27% es unido a proteínas plasmáticas, concentraciones superiores son encontradas en bilis, riñones, hígado, pulmones y sistema reproductivo (incluyendo fluido y tejido prostático).

## **Eliminación**

La enrofloxacin es eliminada tanto por mecanismos renales como no renales. Aproximadamente del 15 al 50% del fármaco es eliminado inalterado en la orina, tanto por secreción tubular como filtración glomerular. La enrofloxacin es metabolizada a diversos metabolitos que son menos activos que el compuesto progenitor. El grado de metabolismo varía entre especies y se sitúa entre el 50 y 60%. La biotransformación de la enrofloxacin a nivel hepático da lugar a un metabolito activo que es el ciprofloxacino. En general, el metabolismo se produce a través de procesos de hidroxilación y oxidación a oxoflorquinolonas. Otras reacciones que también se producen son la N-desalquilación y la conjugación con ácido glucurónico. Estos metabolitos son eliminados tanto por heces como por orina, concentraciones terapéuticas (0.8 – 1.8 µg/ml) de ciprofloxacino pueden ser alcanzadas para combatir determinados organismos (ver indicación terapéutica) con la dosis terapéutica oral (5.2 – 20 mg/kg) de enrofloxacin. Lo anterior puede anticipar que la enrofloxacin y la ciprofloxacino actuaran en forma aditiva (Papich, 2016).

### 3.6.4 Farmacodinamia de la enrofloxacin

Las quinolonas fluorinadas alteran la DNA girasa, una de las diversas enzimas topoisomerasa importantes en la replicación del DNA bacteriano. El mecanismo único de acción de las quinolonas fluorinadas propicia una rápida actividad bactericida con mínimos efectos sobre las células del huésped.

La concentración de quinolonas fluorinadas necesaria para inhibir el crecimiento de los organismos es sumamente cercana a aquella necesaria para destruir a estos. La

actividad bactericida de la enrofloxacin es dependiente de la concentraci3n, con una destrucci3n de bacterias susceptibles ocurriendo dentro de 20 a 30 minutos de la exposici3n. La enrofloxacin ha demostrado un significativo efecto post-antibi3tico tanto para bacterias gram-positivo como gram-negativo y es activa en fases estacionarias y de crecimiento en la replicaci3n bacteriana. La CMI (0.250 µg/mL) de estos f3rmacos para organismos susceptibles es sumamente baja en comparaci3n a la mayoría de los otros f3rmacos anti-microbianos (Olvera, 2004).

### 3.7 Ventajas de formulaci3n de enrofloxacin en SEDDS

Actualmente existen en el mercado diversas formas farmac3uticas para la administraci3n de este f3rmaco con distintas indicaciones terap3uticas, las cuales se enlistan en la tabla 6.

Tabla 6. Presentaciones comerciales de enrofloxacin

FORMA FARMAC3UTICA	F3RMULA	ESPECIE	DOSIS RECOMENDADA
Soluci3n Oral	2mg/mL (0.2%) 50mg/mL (5%) 100mg/mL (10%) 6g/100mL (6%) <b>5mg/mL (0.5%)</b>	Aves  <b>Caninos y felinos</b> <b>Conejos</b> <b>Porcinos, bovinos,</b> <b>ovinos y caprinos</b>	10mg/kg (50mg/L agua) c/24h x 3-5d 5mg/kg c/24h x 3-5d 10mg/kg c/24h x 3-5d 2.5-5mg/kg c/24h x 3-5d
Polvo Oral	200mg/1g	Aves Porcinos	10mg/kg (1g/4L agua) c/24h x 3-5d 2.5-5mg/kg (1g/16L agua) c/24h x 3-5d
Suspensi3n Oral	25mg/mL 50mg/mL 150mg/mL	Caninos y Felinos Roedores Aves	5mg/kg c/24h 5mg/ 0.5-1Kg c/12h 10mg/kg c/8h
Tabletas	50mg y 150mg	Caninos y Felinos Ovinos Caprinos Aves	5mg/kg c/24h x 5d 2.5mg/kg c/24h x 5d 2.5mg/kg c/24h x 5d 10mg/kg c/24h x 5d
Soluci3n inyectable	100mg/mL 50mg/mL 12g /100ml 20g/100ml	Porcinos, Caprinos, Ovinos, Equinos, Bovinos Caninos Aves	2.5-5mg/kg c/24h x 3-7d 5mg/kg c/24h x 3-7d 5-15mg/kg c/24h x 3-7d

Modificado y recuperado el 9 de noviembre del 2016 de <http://www.diccionarioveterinariopl.com/>

---

La única forma farmacéutica para uso oral que presenta al fármaco solubilizado es la solución oral la cual, para ser administrada por vía directa (es decir, no se administra por medio del agua embebida) tiene una fórmula al 0.5%. La principal ventaja de un SEDDS en comparación con una solución oral es la autoemulsificación del sistema lipídico que impide la precipitación del fármaco cuando éste entra en contacto con los jugos gástricos del paciente, así mismo, utiliza excipientes de menor riesgo toxicológico para los animales.

Conociendo las propiedades de los SEDDS, el propósito en este trabajo, fue lograr un incremento de la solubilidad de enrofloxacin mediante el uso de estos sistemas para ser administrado por vía oral a animales de pequeñas especies (gatos y perros) el cual nos permitirá tener al fármaco disuelto capaz de ser entregado sin precipitar al entrar en contacto con un sistema acuoso (jugo gástrico), esta forma farmacéutica podría mejorar la absorción y por tanto la biodisponibilidad del fármaco, teniendo en cuenta que la enrofloxacin es un antibiótico dosis dependiente es necesario tenerlo disponible en concentraciones plasmáticas de 8 a 10 veces más que su concentración mínima inhibitoria (CMI) para obtener un efecto terapéutico deseado es decir, se requiere tener una concentración plasmática por encima de 2 µg/mL.

---

#### **4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

La baja solubilidad es el problema principal para lograr una buena biodisponibilidad del número creciente de fármacos poco solubles en agua que se encuentran en desarrollo, esto debido a que un fármaco necesita ser disuelto en los fluidos gastrointestinales para ser absorbido desde el tracto gastrointestinal (TGI), actualmente se encuentran comercialmente disponibles soluciones orales al 0.5% para la administración directa de enrofloxacin por vía oral sin embargo, a pesar de que presentan el fármaco disuelto, estas formulaciones se basan en el uso de solventes orgánicos o modificación de pH (altamente básicos) haciéndolas muy tóxicas y/o agresivas al TGI, la estrategia que nos permite evitar lo anterior y lograr un incremento significativo de la solubilidad de fármacos lipofílicos clase II se basa en formulaciones de sistemas lipídicos que permitan tener al fármaco disuelto y capaz de ser liberado en el TGI sin presentar precipitación y así mejorar su absorción.

#### **5. HIPÓTESIS**

Sí la enrofloxacin como fármaco del grupo II del SCB, presenta baja solubilidad acuosa por su reducida afinidad con el disolvente, entonces su formulación en sistemas lipídicos autoemulsificables incrementará esa afinidad; lográndose un vehículo con una mayor solubilidad total (carga) del fármaco para su administración oral.

---

## 6. OBJETIVO GENERAL

- ✓ Desarrollar mediante un sistema lipídico autoemulsificable, una formulación estable que permita incrementar la solubilidad total (carga) de Enrofloxacin, en un vehículo potencialmente útil para administración oral.

### 6.1 Objetivos específicos

1. Determinar la solubilidad de enrofloxacin en diferentes sistemas lipídicos a dos temperaturas de interés farmacéutico: 25 y 37°C.
2. Obtener un sistema lipídico óptimo como vehículo para administración oral mediante diagramas de fase pseudoternarios evaluando sus propiedades físicas y/o fisicoquímicas como turbidez, tamaño de partícula y solubilidad de la enrofloxacin.
3. Comprobar la estabilidad física de la formulación óptima cargada con fármaco, cuando es expuesta a pH ácido con HCl 0.1 N y pH 6.8 con fosfatos.
4. Evaluar morfología y potencial electrocinético Zeta, de la formulación óptima.
5. Evaluar la liberación de enrofloxacin desde la formulación óptima, en medio ácido y de fosfatos pH 6.8 que simulen el paso del producto a través del tracto gastrointestinal.
6. Realizar estudios de estabilidad en sistemas acuosos para comparar la posible pérdida de la capacidad disolvente de la formulación óptima con respecto a un medicamento comercial (Solución Oral 0.5%).

---

## 7. MATERIALES Y MÉTODOS

### 7.1 Excipientes y principio activo

Enrofloxacin base, Transcutol HP®, Labrafil M2125CS®, Labrasol®, Propilenglicol, Tween 80, medio intestinal simulado pH 6.8, HCl 0.1N pH 1.

### 7.2 Material y equipo

Espectrofotometro UV/Vis Shimadzu UV-1201, Membranas de diálisis (Spectra/Por® Dialysis) con un tamaño de poro de 12-14 kDa, Membranas de nylon 0.45µm Millipore®, Disolutor Venkel VK7000, ZetaSizer Nano Serie ZS90 con celdas desechables.

### 7.3 Validación del método analítico para la cuantificación de enrofloxacin por absorbancia UV/Vis

7.3.1 Linealidad del sistema: Curva estándar de calibración para cuantificar enrofloxacin por absorbancia UV/vis

Solución Stock

La solución stock se realizó por triplicado con pesadas independientes. Se pesaron 20 mg de enrofloxacin los cuales fueron disueltos con 5 mL de etanol 96% en un matraz aforado de 100 mL, finalmente se adicionó agua desionizada hasta llegar al aforo para obtener una solución de 200 µg/mL, ver tabla 7.

Curva de calibración

Tabla 7. Curva estándar de calibración para cuantificar enrofloxacin

Alícuota de la solución stock	Aforo	Concentración final
0.1 mL	10 mL	2 µg/mL
0.2 mL	10 mL	4 µg/mL
0.3 mL	10 mL	6 µg/mL
0.4 mL	10 mL	8 µg/mL
0.5 mL	10 mL	10 µg/mL

---

Las disoluciones anteriores se cuantificaron por espectrofotometría de absorción UV/Vis a  $\lambda$  277 nm, con los resultados se construyó el gráfico de absorción vs concentración y se obtuvo la ecuación correspondiente. Se realizó el análisis estadístico para comprobar linealidad y se calculó  $r^2$  y  $IC(\beta_1)$ .

### 7.3.2 Precisión del sistema

Se tomaron 6 muestras de 0.3 mL de la disolución stock, 6  $\mu\text{g/mL}$  (ver linealidad del sistema) y se aforaron a 10 mL con agua desionizada, posteriormente se cuantificaron por espectrofotometría UV/Vis a  $\lambda$  277nm y se calculó el %CV.

### 7.3.3 Linealidad del método

Se seleccionó 6 mg/mL como la concentración al 100%, de esta se tomaron dos niveles más, 80 y 120% (4.7 mg/mL y 7.2 mg/mL respectivamente) con las cuales fueron preparadas 12 muestras en total (3 por cada nivel de concentración) y se aforaron en matraces de 10 mL con el sistema lipídico ya seleccionado como óptimo (50% Transcutol, 24%PG, 1% poloxámero 407, 15% Tween 80 y 10% agua). Las formulaciones anteriores se cuantificaron por espectrofotometría UV/Vis a  $\lambda$  277 nm y se calculó  $r^2$ , porcentaje de recobro, %CV y  $IC(\mu)$

### 7.3.4 Exactitud y repetibilidad del método

Se pesaron 60 mg de enrofloxacin y se aforó en un matraz de 10mL con el sistema lipídico ya seleccionado como óptimo, lo anterior se repitió 6 veces con pesadas independientes. Las formulaciones se cuantificaron por espectrofotometría UV/Vis a  $\lambda$  277nm y se calculó el porcentaje de recobro, %CV y  $IC(\mu)$

### 7.3.5 Precisión intermedia

Se pesaron 60 mg de enrofloxacin y se aforó en un matraz de 10mL con el sistema lipídico ya seleccionado como óptimo, lo anterior se realizó por triplicado, por dos analistas en dos días diferentes, teniendo en total 12 muestras. Las formulaciones anteriores se cuantificaron por espectrofotometría UV/Vis a  $\lambda$  277 nm y se calculó el %CV.

---

## 7.4 Métodos generales de caracterización

### 7.4.1 Saturación del sistema lipídico

Una vez que se realizaron los sistemas lipídicos estos fueron saturados con enrofloxacin y se introdujeron en un baño de agua con agitación constante de 200 rpm y temperatura de 25°C o 37°C durante 48 horas, ver fig. 13.



*Figura 13. Sistemas lipídicos saturados con fármaco dentro del baño de agua.*

### 7.4.2 Prueba visual de autoemulsificación

La evaluación visual se realizó mediante la adición de 5 mL de formulación en 250 mL de agua en un vaso de precipitados que se mantuvo a  $37 \pm 0.5$  ° C y el contenido fue mezclado suavemente utilizando un agitador. Sobre la base de la dispersabilidad, apariencia y el tiempo requerido para emulsionar SEDDS fueron categorizados en "Grado A", "Grado B", "Grado C" o "Grado D". Todos los ensayos se llevaron a cabo por triplicado.

### 7.4.3 Cuantificación del fármaco

Las formulaciones saturadas se filtraron con membranas de nylon 0.45  $\mu\text{m}$  Millipore® de las cuales se tomaron 50  $\mu\text{L}$  y se aforaron a 50 mL con agua destilada y se cuantificó el fármaco por UV/Vis a una longitud de onda de  $\lambda$  277 nm

El blanco se realizó tomando 50  $\mu\text{L}$  del sistema sin fármaco a las mismas proporciones de excipientes para cada caso y se aforo a 50 mL, con el fin de eliminar errores que estos pudieran generar, cada ensayo se realizó por triplicado.

#### 7.4.4 Determinación del tamaño de partícula

La formulación saturada fue filtrada con membranas de nylon de 0.45 µm Millipore® y posteriormente se determinó el tamaño de partícula por DLS en un ZetaSizer Nano Serie ZS90 con celdas desechable y un IR= 1.42.

#### 7.5 Propuesta de sistema lipídico que incremente la solubilidad de enrofloxacin

Para la selección del sistema lipídico se propusieron 4 sistemas distintos, compuestos por 3 excipientes diferentes como se puede ver en la tabla 8.

Tabla 8. Propuesta de sistemas lipídicos

SISTEMA	COMPONENTE 1	COMPONENTE 2	COMPONENTE 3
<b>A</b>	Transcutol	Labrasol	Labrafil
<b>B</b>	Transcutol	Tween 80	Labrafil
<b>C</b>	Transcutol	Propilenglicol	Tween 80
<b>D</b>	Transcutol	Tween 80/ PG (1:1)	Labrasol

Nota: Los sistemas lipídicos no contienen agua

Para cada sistema lipídico se realizaron 10 formulaciones variando las proporciones de cada componente como se muestra en la tabla 9.

Tabla 9. Composición de los sistemas lipídicos

Formulación	Componente 1	Componente 2	Componente 3
F1	0.8	0.10	0.10
F2	0.65	0.25	0.10
F3	0.65	0.10	0.25
F4	0.5	0.35	0.15
F5	0.5	0.25	0.25
F6	0.5	0.15	0.35
F7	0.25	0.5	0.25
F8	0.25	0.25	0.5
F9	0.10	0.8	0.10
F10	0.10	0.10	0.8

---

Las formulaciones obtenidas se saturaron con fármaco, se filtraron y posteriormente se cuantificó el fármaco (ver métodos generales de caracterización, sección 7.4).

### 7.6 Selección del sistema autoemulsificante

Según la clasificación de los sistemas lipídicos, se consideraron las siguientes mezclas (ver tabla 10) donde cada sistema contiene los 3 componentes que forman una microemulsión: agua, tensoactivo (Tween80, Labrafil, Labrasol), solubilizante (Transcutol HP) y en algunos casos un codisolvente (propilenglicol).

Tabla 10. Sistemas autoemulsificantes para la administración de fármacos.

Sistema	Componente 1	Componente 2	Componente 3
A	Transcutol	Labrafil + Labrasol (1:1)	Agua
B	Transcutol	Tween 80 + Labrafil (1:1)	Agua
C	Transcutol + PG (2:1)	Tween 80	Agua
D	Transcutol + PG (2:1)	Labrasol + Tween 80 (1:1)	Agua

#### 7.6.1 Elaboración de diagramas de fase pseudoternarios por turbidez

Para la determinación de los comportamientos físicos se construyeron los diagramas mediante el método por titulación en el que se parte de varias proporciones de componentes (tabla 11) y se va adicionando agua poco a poco, barriendo de esta manera todo el diagrama hasta observar cambios de turbidez y con ello delimitar las zonas donde se forma la microemulsión, ver fig. 14, esto se realizó a temperatura de 25°C y agitación constante y con un total de 3 g de mezcla de excipientes adicionando alícuotas de 500 µL de agua desionizada hasta llegar a 80 mL.

El procedimiento se repitió con un total de 100 mg de mezcla de excipientes a los cuales se les añadió alícuotas de 1 mL de agua desionizada hasta llegar a 80 mL.

Tabla 11. Composición de los puntos de partida para la construcción de diagramas pseudoternarios por titulación.

Componente 1 %p/p	Componente 2 %p/p
<b>10</b>	<b>90</b>
30	70
50	50
60	40
70	30
80	20
90	10

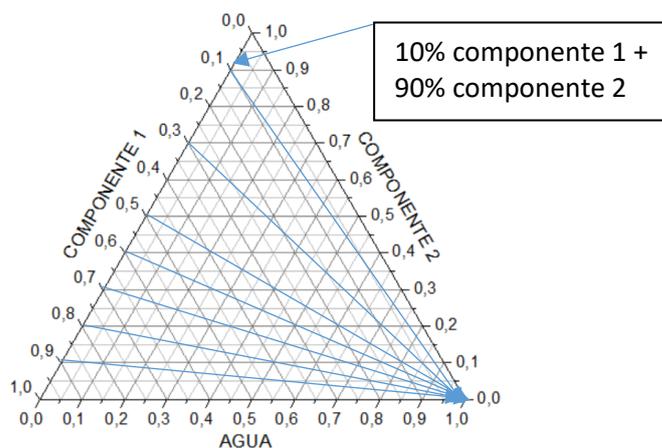


Figura 14. Diagrama de fase pseudoternario construido por titulación

#### 7.6.2 Elaboración de diagramas de fase pseudoternarios por tamaño de partícula (para los sistemas A y B)

Los sistemas A y B presentaron, en la mayoría de sus proporciones, características de una emulsión (opaca de aspecto lechoso) por lo cual no se pudo seguir el mismo procedimiento que para los sistemas C y D.

Cuando el total de la mezcla de excipientes fue de 100 mg y se les añadió de 1 mL en 1 mL de agua desionizada hasta llegar a 80 mL, en este punto final donde el porcentaje de agua era mayor al 96% fue donde se realizó la medición del tamaño de partícula.

### 7.6.3 Elaboración de diagramas de fase pseudoternarios por tamaño de partícula (para los sistemas C y D)

Los diagramas por tamaño de partícula se construyeron con la selección de 7 puntos representativos para cada sistema

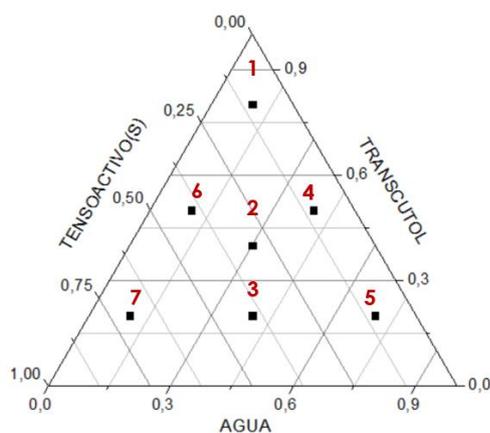


Figura 15. Selección de puntos para el diagrama de fase pseudoternario por tamaño de partícula para el sistema C y D.

Las formulaciones que mostraba cada punto del diagrama fueron realizadas a 25°C como se muestra en la tabla 12.

Tabla 12. Composición de los puntos para la construcción de diagramas de fase pseudoternario por tamaño de partícula para los sistemas C y D.

PUNTO	TRANSCUTOL (%p/p)	TENSIOACTIVO(S) (%p/p)	AGUA (%p/p)
1	80	10	10
2	40	30	30
3	20	40	40
4	50	10	40
5	20	10	70
6	50	40	10
7	20	70	10

A estas formulaciones se les determinó el tamaño de partícula y se cuantificó el fármaco para realizar los diagramas de fase pseudoternarios.

Con base en la máxima solubilidad, menor tamaño de partícula y estabilidad física se seleccionó un sistema para el diseño de experimentos.

### 7.7 Diseño de experimentos para el sistema C

Se realizó un diseño simplex reticular aumentado de donde se obtuvieron las formulaciones que representaban los siguientes puntos, para la selección de la formulación óptima con respecto a la máxima solubilidad y menor tamaño de partícula, ver fig.16.

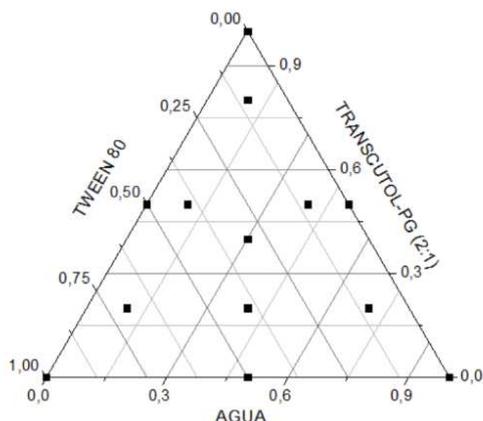


Figura 16. Selección de puntos para el diseño de mezclas

Los puntos seleccionados a partir del diseño de mezclas están representados en la tabla 13.

Tabla 13. Proporciones de los componentes para el diseño de experimentos

<b>PUNTO</b>	<b>TRANSCUTOL- PG (2-1) (%p/p)</b>	<b>TWEEN 80 (%p/p)</b>	<b>AGUA (%p/p)</b>
1	80	10	10
2	40	30	30
3	20	40	40
4	50	10	40
5	20	10	70
6	50	40	10
7	20	70	10
8	0	100	0
9	0	0	100
10	100	0	0
11	50	50	0
12	50	0	50
13	0	50	50

---

---

A estas formulaciones se les determinó el tamaño de partícula y se cuantificó el fármaco para realizar los diagramas de fase pseudoternarios.

### **7.8 Estudio de estabilidad física del SEDDS en pH 1 y 6.8**

Para este estudio primero se prepararon dos medios con diferentes pH's para simular el paso a través del TGI, pH=1 HCl 0.1N y pH=6.8 Medio intestinal simulado, así mismo, se realizó la formulación cargada con enrofloxacin que sería expuesta a dichos medios.

Formulación: Se prepararon 25 mL de nuestra formulación óptima cargada con enrofloxacin a una concentración de 6 mg/mL, es decir, se pesaron 150 mg de fármaco.

Medio ácido pH 1: Se tomaron 8.5 mL de ácido clorhídrico fumante al 37% y se aforaron con agua desionizada en un matraz de 1 L para obtener una solución al 0.1N, se ajustó pH a 1.

Medio intestinal simulado sin enzimas: Se disolvieron 6.8 g de fosfato monobásico de potasio en 250 mL de agua desionizada a los cuales se les adicionaron 77 mL de hidróxido de sodio 0.2 N y se aforo con agua desionizada en un matraz de 1 L y por último se ajustó el pH a  $6.8 \pm 0.1$  con hidróxido de sodio manteniendo temperatura ( $25^{\circ}\text{C}$ ) y agitación (200 rpm) constante.

Una vez que se prepararon los medios, se tomaron 3 mL de la formulación y se vertieron en 30 mL de la solución a agitación (200 rpm) y temperatura ( $25^{\circ}\text{C}$ ) constante, se tomaron muestras a las 0.5, 1, 2 y 4 horas, estas muestras fueron filtradas para cuantificar el fármaco disuelto, así mismo se les midió el tamaño de partícula en cada uno de los tiempos.

La prueba se realizó por triplicado.

### **7.9 Cinética de la formulación óptima de enrofloxacin**

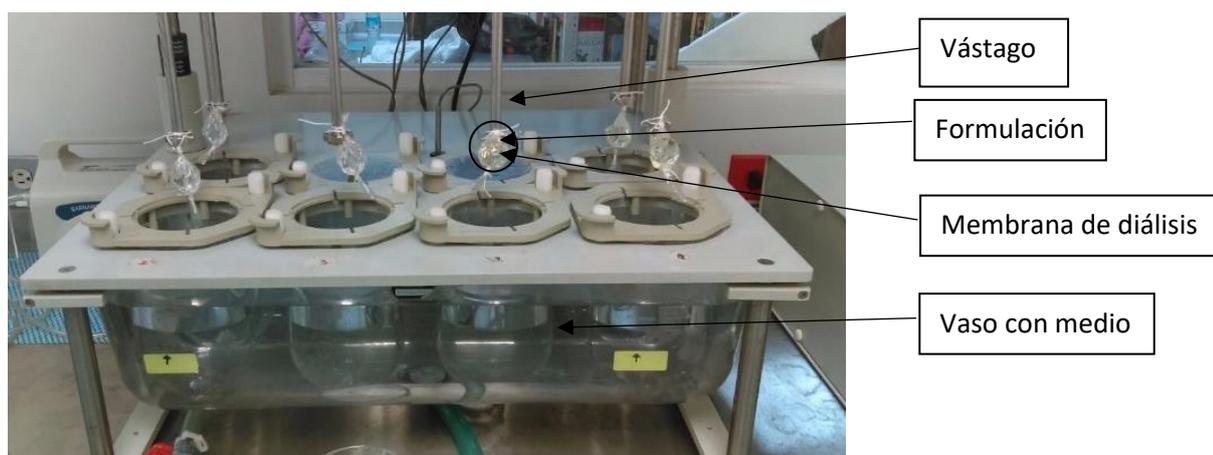
La solubilidad máxima del fármaco en la formulación óptima se realizó mediante una cinética de solubilidad en el sistema autoemulsificable comparándolo con la

solubilidad en agua, para ello se adicionó en exceso la enrofloxacin tanto en el sistema lipídico como en el agua, ambos sistemas saturados se dejaron a temperatura (25°C) y agitación (200rpm) constante, se tomaron muestras a los 15min, 30min, 1, 2, 24 y 48 horas, las cuales fueron filtradas y cuantificadas por UV/Vis a  $\lambda$  277nm. La prueba se realizó por triplicado.

### **7.10 Cinética de liberación: formulación óptima de enrofloxacin vs solución oral comercial de enrofloxacin al 0.5%**

La cinética de liberación se realizó en un disolutor a 37°C y con una agitación de 50 rpm para esto, se preparó una formulación cargada con 5 mg/mL de enrofloxacin base para igualar la concentración de la solución oral comercial, se tomaron 10 mL de cada formulación y se vertieron dentro de bolsitas hechas con membrana de celulosa las cuales fueron selladas por ambos lados y amarradas al vástago del disolutor, ver fig. 17, a los vasos se les adicionaron 500 mL de medio ácido o intestinal simulado, ya montado el sistema y a las condiciones antes mencionadas, se tomaron muestras de 3 mL sin reposición de medio a los tiempos 5 min, 10 min, 15 min, 30 min, 1, 2, 3, 4 y 24 horas, las cuales fueron cuantificadas por UV/Vis a  $\lambda$  277 nm y se calculó su concentración con la curva de calibración correspondiente.

Los resultados se ajustaron al modelo de liberación con mayor valor de  $r^2$  y menor valor de AIC, ver fig. 17.



*Figura 17. Montaje de disolutor para cinética de liberación*

## 8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 8.1 Validación del método analítico para la cuantificación de enrofloxacin por absorbancia UV/Vis

Los resultados obtenidos en cada prueba de validación del método analítico, así como las especificaciones para cada una, se muestran en la tabla 14.

Tabla 14. Resultados de validación del método analítico.

Prueba	Especificación	Resultado
Precisión del sistema	$CV \leq 1.5\%$	1.31%
Linealidad del sistema	$r^2 \geq 0.98$ IC( $\beta_1$ ) no debe incluir al 0	$r^2 = 0.9996$ , IC( $\beta_1$ ) 0.086 – 0.094
Exactitud y repetibilidad del método	97-103% de recobro $CV \leq 3\%$ IC( $\mu$ ) debe incluir el 100%	100.981% de recobro CV= 1.74% IC( $\mu$ )=99.13-102.83
Linealidad del método	$r^2 \geq 0.98$ 97-103% de recobro $CV \leq 3\%$ IC( $\mu$ ) debe incluir el 100%	$r^2 = 0.9998$ 100.97% de recobro CV=1.699% IC( $\mu$ )=99.17-102.77
Precisión intermedia	$CV \leq 3\%$	CV=1.43%

Los resultados anteriores muestran un comportamiento lineal, preciso, exacto y reproducible.

---

## 8.2 Propuesta de sistema lipídico que incremente la solubilidad de enrofloxacin

En el presente trabajo se propusieron 4 sistemas lipídicos con 10 distintas formulaciones cada uno. Los sistemas lipídicos no mostraron diferencia significativa en la solubilidad máxima alcanzada de enrofloxacin sin embargo, se observó que la solubilidad incrementaba con la concentración de Transcutol para cada sistemas lipídico, esto debido a que tiene un efecto codisolvente por su estructura química lo que va a disminuir su efecto hidrófobo y por tanto aumentar su solubilidad además, es una molécula que puede formar mezclas binarias con agua, o ternarias si dos codisolventes se incorporan al agua. Estas mezclas tienen como finalidad disminuir la constante dieléctrica, adecuándola a los requisitos de solubilidad de las sustancias activas poco hidrosolubles (Jato, 2001).

El Transcutol y el propilenglicol son alcoholes que, aunque tienen altas constantes dieléctricas en comparación con otros tipos de disolventes, son menores que la del agua. La solubilidad de las sales en un disolvente es proporcional a la constante dieléctrica del medio, es decir, a medida que la constante dieléctrica de una serie de disolventes aumenta, la probabilidad de disolver una sal en ese disolvente aumenta. Por el contrario, para favorecer la solubilidad de una molécula no polar se requiere disminuir la constante dieléctrica ( $\epsilon$ ) de la mezcla, por ejemplo, una mezcla 40% de agua y 60% de propilenglicol tendría una constante dieléctrica igual a:

$$\epsilon_{mezcla} = 0.6(\epsilon_{propilenglicol}) + 0.4(\epsilon_{agua})$$

$$\epsilon_{mezcla} = 0.6(32) + 0.4(80)$$

$$\epsilon_{mezcla} = 51.2$$

En las fig. 18 y 19 se muestran los resultados de las concentraciones máximas para cada formulación en los distintos sistemas a 25 y 37°C respectivamente.

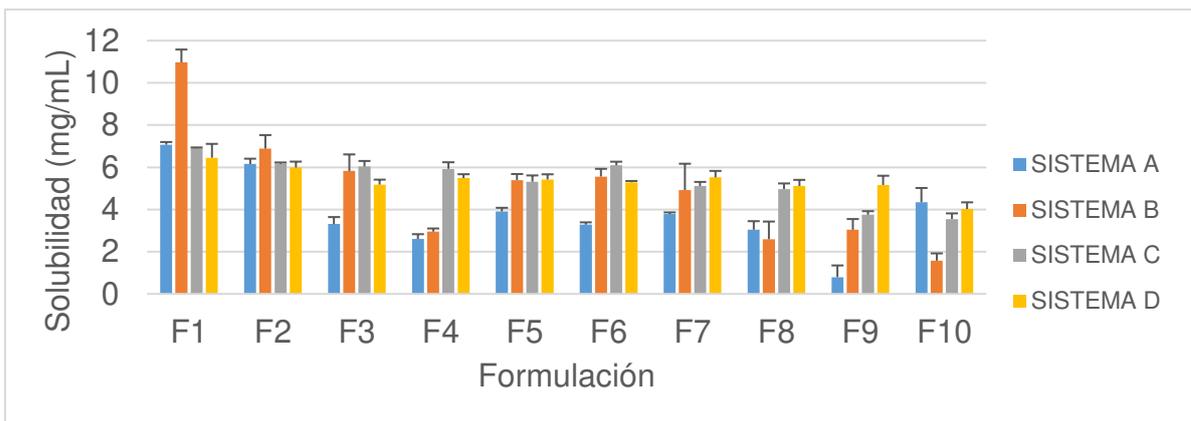


Figura 18. Solubilidad de enrofloxacin obtenida en los diferentes sistemas lipídicos a 25°C

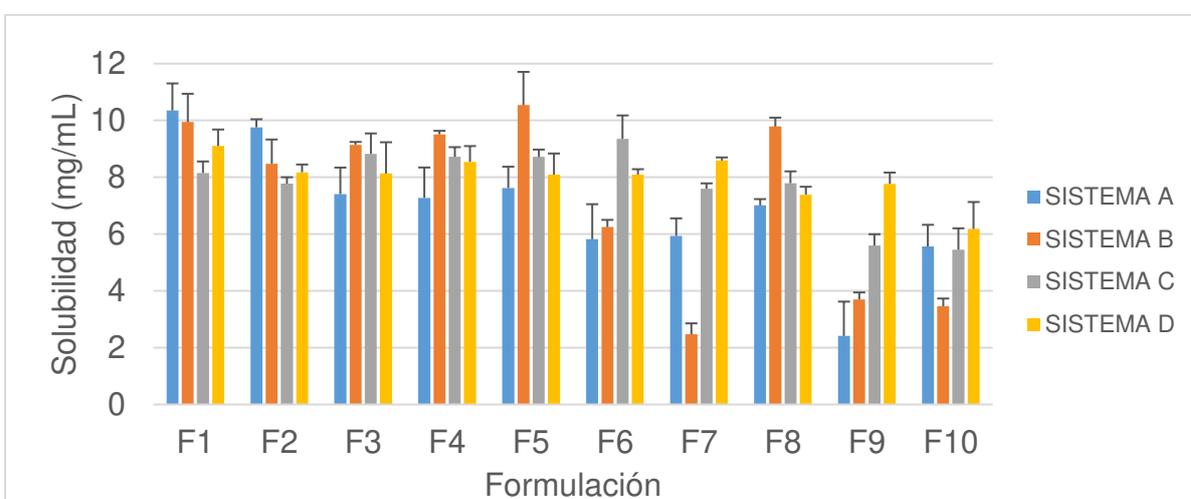


Figura 19. Solubilidad de enrofloxacin obtenida en los diferentes sistemas lipídicos a 37°C

Nota: La concentración de transcutool HP va decreciendo de F1 a F10 ver tabla 9 página 50.

La selección de los excipientes para la formulación del SEDDS fue basada en las propiedades fisicoquímicas de la enrofloxacin, la que al ser un compuesto con log P intermedio requiere del uso de tensioactivos hidrófilicos (Tween 80) y codisolventes solubles en agua (propilenglicol) para formar un sistema autoemulsificante con una solubilidad máxima (Nanjwade, 2011).

El Labrasol y Labrafil (son mezclas definidas de mono, di y triglicéridos con mono y diésteres de polietilenglicol y ácidos grasos) son utilizados como solubilizantes y

---

tensoactivos. Adicionalmente, el Labrasol participa como promotor de absorción y el Transcutol (dietilenglicol monoetil éter) es utilizado como solubilizante y promotor de absorción (Delongea, 2010).

Yalkowsky estudió la capacidad de los sistemas codisolventes para aumentar la solubilidad de no electrolitos en disolventes polares donde el sistema codisolvente esencialmente trae consigo una reducción en la estructuración del disolvente. Por lo tanto, al aumentar positivamente, la entropía de la disolución mediante el uso de codisolventes, fue posible aumentar la solubilidad de la molécula no polar.

En las fig.18 y 19 se muestra que el uso de sistemas lipídicos con codisolventes incluidos incrementa en gran medida la solubilidad de la enrofloxacin, a partir de estos sistemas se desarrollaron los SEDDS.

### **8.3 Selección del sistema autoemulsificante**

Se realizaron diagramas de fase pseudoternarios de turbidez con el objetivo de descartar aquellos sistemas que no presentan estabilidad, tamaño de partícula menor a 100nm y características de SEDDS, principalmente.

#### **8.3.1 Elaboración de diagramas de fase pseudoternarios por turbidez**

En las siguientes imágenes se observan los diagramas de fase pseudoternarios donde el área amarilla representa una apariencia aceitosa, la gris una apariencia lechosa característica de emulsiones y el área azul una apariencia transparente translúcida característica de una microemulsión.

Los diagramas de fase pseudoternarios para los SEDDS mostraron dos tipos de comportamiento, aquellos para los que la mayoría de su área tenía características de emulsión, color blanco opaco (sistema A y B, fig. 20 y 21 respectivamente) y aquellos que tenían principalmente un aspecto translucido característico de una microemulsión (sistemas C y D, fig. 22 y 23 respectivamente), esto debido al tipo de sistema lipídico que obtuvimos. Por ejemplo, se ha reportado que la inclusión de un tensoactivo lipófilo ( $HLB < 12$ ) puede mejorar la capacidad disolvente de la

---

formulación, pero este enfoque se ha usado principalmente para promover la emulsificación. En condiciones óptimas, es posible formular un SEDDS que se emulsione en soluciones acuosas bajo condiciones de agitación muy suaves, generando una dispersión de dimensiones coloidales. Si el tensioactivo es insuficientemente hidrófilo para disolverse y formar micelas en solución acuosa, entonces existe en sí mismo como una fase dispersa separada de los componentes oleosos. Este tipo de formulación pertenece al Tipo II (ver tabla 1) las cuales incluyen Labrafil como tensoactivo lipófilo, con HLB de 9 para el caso del sistema A y B.

Por otro lado, se sabe que los tensoactivos hidrófilos (solubles en agua con HLB > 12) y / o los codisolventes solubles en agua también se han mezclado con aceites para producir sistemas autoemulsificables. Cuando el contenido de tensoactivo es alto (por ejemplo, 40% p / p o más) o se incluyen codisolventes además de los tensoactivos, es posible producir dispersiones muy finas (<100 nm de diámetro) en condiciones de agitación suave. Este enfoque se utilizó para la reformulación de la ciclosporina A como "Neoral". La motivación para usar tensoactivos hidrófilos o codisolventes solubles en agua (como propilenglicol, polietilenglicol, etanol, etc.) también puede ser la de aumentar la capacidad disolvente de la formulación para fármacos con log P intermedio ( $2 < \log P < 4$ ). La distinción que debe hacerse entre éstas y las formulaciones de Tipo II es que los componentes solubles en agua tenderán a separarse del aceite durante la dispersión y se disolverán en la fase acuosa. El resultado de esta separación de fases, que de hecho puede ser la fuerza impulsora de la emulsificación, puede ser la pérdida de la capacidad del disolvente. La consecuencia puede ser que el fármaco se precipite parcialmente cuando la formulación se dispersa. El grado de precipitación dependerá de las propiedades fisicoquímicas del fármaco y la hidrofílicidad de la formulación (Pouton 2000). Las formulaciones de Tipo III, se han denominado sistemas de "automicroemulsificación", debido a la claridad óptica que puede conseguirse, por ejemplo, los obtenidos en los sistemas C y D que contenían solo tensoactivos hidrofílicos como Tween 80 (HLB 15) y Labrasol (HLB 14) respectivamente, más propilenglicol como codisolvente en ambos casos.

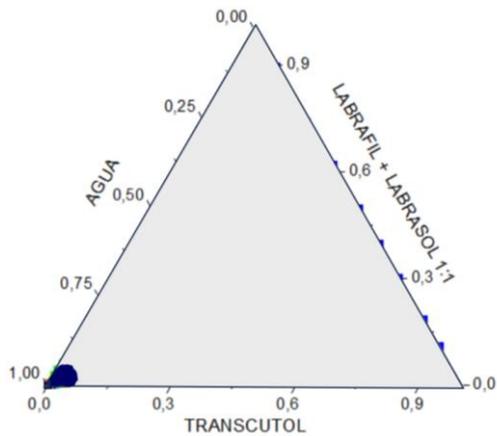


Figura 20. Diagrama de fase pseudoternario para el sistema A.

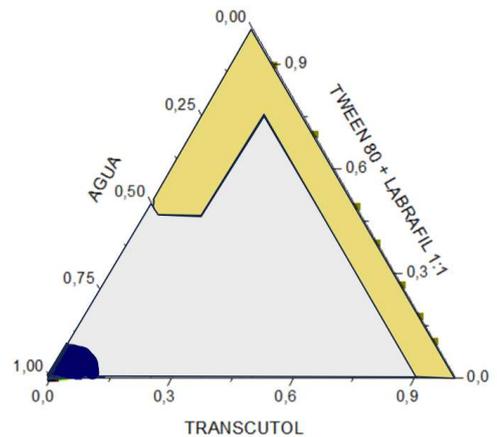


Figura 21. Diagrama de fase pseudoternario para el sistema B.

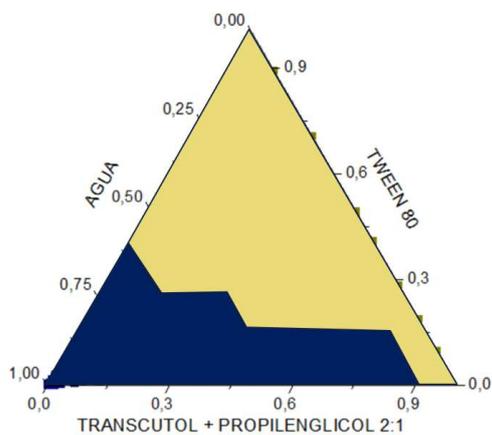


Figura 22. Diagrama de fase pseudoternario para el sistema C.

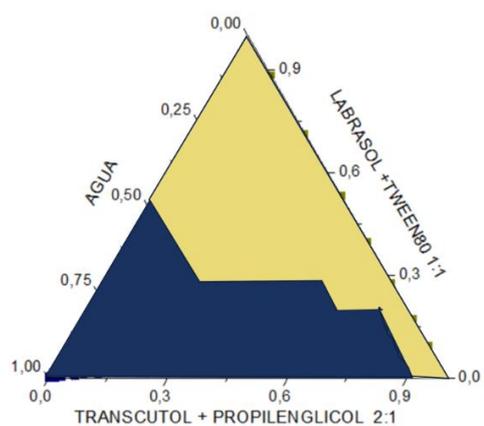


Figura 23. Diagrama de fase pseudoternario para el sistema D.

En la evaluación visual se determinó que los sistemas A y B eran de grado C a diferencia de los sistemas C y D que fueron de grado B según la clasificación de autoemulsificación (ver tabla 5).

Cuando el total de fármaco adicionado fue de 3 g, los sistemas A y B presentaron una turbidez (aparición lechosa) característica de emulsiones, por lo cual no se determinó el tamaño de partícula. Cuando el total del fármaco adicionado fue de 100 mg los tamaños de partícula obtenidos fueron:

Tabla 15. Tamaños de partícula para el sistema A (diluido)

Formulación	Transcutol (%p/p)	Labrafil/ Labrasol (1:1) (%p/p)	Agua desionizada (%p/p)	Tamaño de partícula d.nm	%CV
1	0.32	3.28	96.40	1666	11.97
2	1.06	2.56	96.38	1447	105.62
3	1.77	1.86	96.38	744.8	62.90
4	2.18	1.48	96.35	174	8.45
5	2.53	1.09	96.38	232.3	75.63
6	2.89	0.73	96.38	177	35.91
7	3.24	0.38	96.38	245.1	28.80

Tabla 16. Tamaños de partícula para el sistema B (diluido)

Formulación	Transcutol (%p/p)	Tween 80 + Labrafil (1:1) (%p/p)	Agua desionizada (%p/p)	Tamaño de partícula d.nm	%CV
1	0.37	3.27	96.36	176.2	46.27
2	1.10	2.55	96.35	129.8	114.15
3	1.84	1.78	96.38	3.165	9.39
4	2.22	1.41	96.37	3.132	1860.77
5	2.65	0.97	96.38	2.074	50.55
6	2.99	0.65	96.37	2710	1277.05
7	3.28	0.38	96.34	59.77	24.89

En las tablas 15 y 16 se observan tamaños de partícula de hasta 1666 y 2710nm respectivamente y con %CV variable en ambos casos, lo cual nos indica una gran poli dispersión de los tamaños de partícula.

8.3.2 Elaboración de diagramas de fase pseudoternarios por tamaño de partícula (para el Sistema C y D)

Tabla 17. Tamaños de partícula para el sistema C

Formulación	Transcutol + PG 2:1 (%p/p)	Tween80 (%p/p)	Agua desionizada (%p/p)	Tamaño de partícula d.nm	%CV
1	79.59	10.19	10.22	42.2	28.72
2	40.01	28.30	31.69	3.20	5.25
3	20.26	39.42	40.32	3.01	5.49
4	49.94	10.10	39.96	37.24	6.25
5	20.25	9.86	69.89	5.58	42.47
6	49.70	39.98	10.32	37.53	7.62
7	19.96	69.79	10.25	21.2	4.69

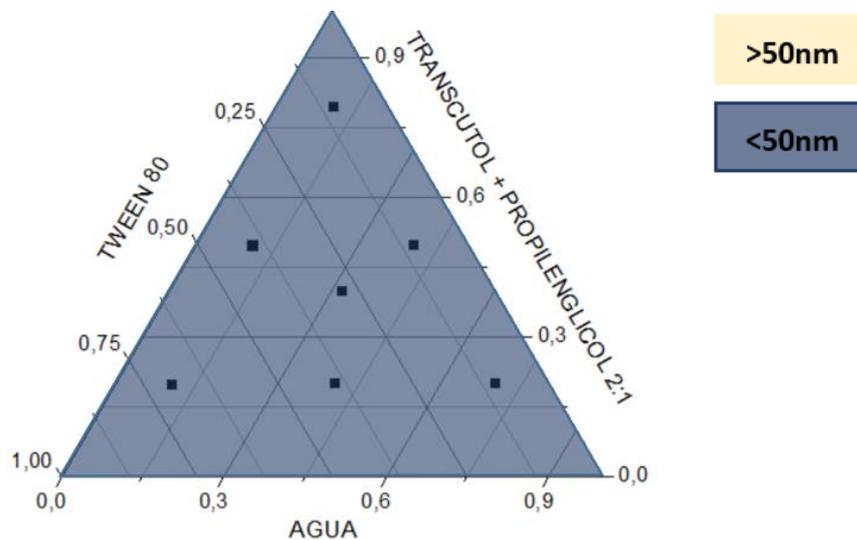


Figura 24. Diagrama de fase pseudoternario por tamaño de partícula para el sistema C.

En la tabla 17 se observan tamaños de partícula menores a 50 nm de diámetro en todos los casos, lo que también se observa en la fig. 24. Por otro lado, los datos obtenidos presentan un %CV entre 4.69 y 42.47, lo cual nos indica una poli dispersión menor de tamaños de partícula con respecto a los sistemas A y B.

Tabla 18. Tamaños de partícula para el sistema D

Formulación	Transcutol + PG 2:1 (%p/p)	Labrasol + Tween80 1:1 (%p/p)	Agua desionizada (%p/p)	Tamaño de partícula d.nm	%CV
1	80,30	4,61	15,09	1,332	35,13
2	40,10	29,72	30,18	21,66	57,58
3	21,55	38,83	39,62	2,953	1,32
4	50,45	9,40	40,15	39,61	0,55
5	20,14	8,07	71,79	4,497	42,86
6	49,76	39,95	10,29	18,81	28,55
7	20,02	69,40	10,58	5,536	15,08

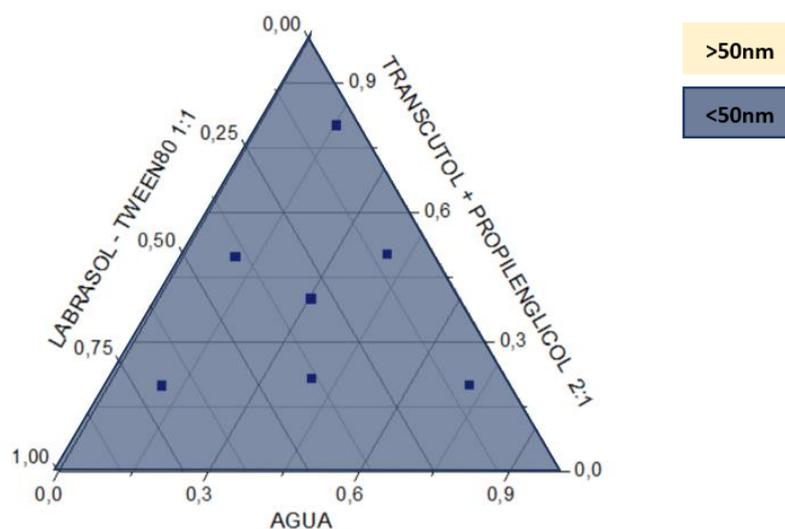


Figura 25. Diagrama de fase pseudoternario por tamaño de partícula para el sistema D.

En la tabla 18 se observan tamaños de partícula menores a 50 nm de diámetro en todos los casos, lo que también se observa en la fig. 25, los datos obtenidos presentan un %CV entre 0.55 y 57.58 lo cual nos habla de una poli dispersión menor de tamaños de partícula con respecto a los sistemas A y B.

El tamaño de partícula además de ser un criterio para la clasificación de los sistemas lipídicos es una característica que está relacionada con la estabilidad física, y con la

---

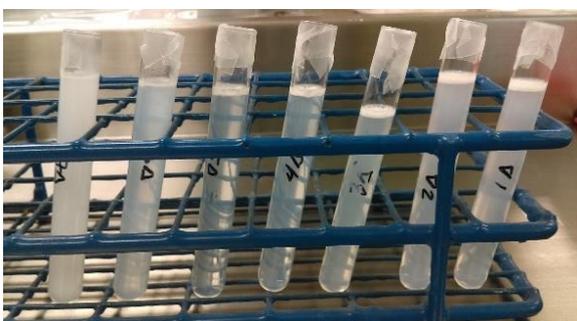
biodisponibilidad del fármaco. Las formulaciones Sandimmune y Sandimmune Neoral de Ciclosporina A (CsA) son quizá los ejemplos más conocidos de sistemas basados en lípidos y tensoactivos que están actualmente comercializados y que han recibido una atención considerable por la industria farmacéutica (Iwanaga, 2006). La ciclosporina A es un péptido cíclico, lipófilo, escasamente soluble en agua, con un peso molecular de 1201 Da, indicado para la prevención del rechazo en trasplantes de órganos, la cual se introdujo en 1981 en Europa en una formulación autoemulsificante (Sandimmune) que contenía Labrafil M 1944 CS®, aceite de oliva y etanol. Esta formulación se dispersa cuando se diluye con agua en una macroemulsión polidispersa de aceite en agua. La biodisponibilidad oral absoluta de la ciclosporina A como Sandimmune es errática, siendo 10% en pacientes con trasplante de hígado o tan alto como 89% en algunos pacientes con trasplante renal.

En 1994 una nueva formulación automicroemulsificante (Sandimmune Neoral, denominado Neoral® en lo siguiente), que se emulsifica espontáneamente en una microemulsión con tamaños de partícula menores a 100 nm y que contiene etanol (11.9%), dl-tocoferol, aceite de maíz-mono-ditriglicéridos, aceite de ricino, cremophor RH 40®, y propilenglicol, comercializado en cápsulas de gelatina blanda de 10 mg, 25 mg, 50 mg y 100 mg, demostró en un estudio realizado por Fatouros, Karpf *et. al.*, una correlación entre el tamaño de partícula y la biodisponibilidad oral de formulaciones de ciclosporina. La biodisponibilidad de la ciclosporina A de la formulación Neoral es de 20% al 50% mayor que la formulación original de Sandimmune. Adicionalmente, las concentraciones plasmáticas máximas de la ciclosporina A Neoral® son de 40% a 106% más altas que aquellas de la formulación Sandimmune (Guada, Beloqui et al. 2016). Lo anterior muestra claramente que formular SEDDS puede ser prometedor para fármacos poco solubles en agua. La eficiencia de estos sistemas es bastante específica de cada caso dependiendo de la composición de la formulación utilizada (Fatouros, Karpf et al. 2007).

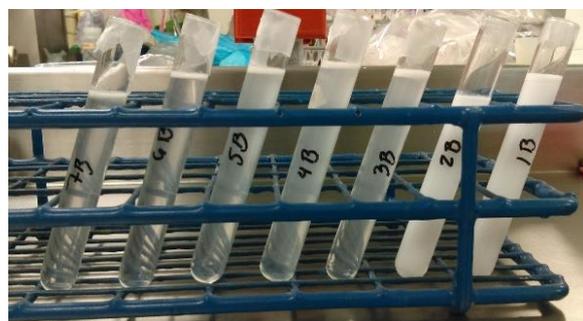
Con el ejemplo anterior podemos observar las ventajas de formular sistemas lipídicos clase III-IV las cuales presentan menores tamaños de partícula y por tanto tendrán una mayor estabilidad física y una biodisponibilidad mayor y constante.

La selección del sistema C como el óptimo se basa en la comparación de los resultados de las tablas 15 y 16 que contienen los tamaños de partícula y %CV para los sistemas A y B, y los resultados de las tablas 17 y 18 pertenecientes a los sistemas C y D respectivamente, donde se encontró que aquel que tenía menores tamaños de partícula y menor poli dispersión fue el sistema C.

Debido a que los sistemas A y B presentan características físicas de emulsiones y tamaños de partícula elevados, fueron descartadas para posteriores análisis, ver fig. 26 y 27.



*Figura 26. SEDDS diluidos del sistema A.*



*Figura 27. SEDDS diluidos del sistema B.*

El sistema C, al igual que el D, es ópticamente translucido y presenta tamaños de partícula menores a 50nm en todos los casos (ver fig. 28 y 29) y con desviaciones estándar menores a los sistemas A y B.



*Figura 28. SEDDS del sistema C.*



*Figura 29. SEDDS del sistema D.*

El sistema C fue seleccionado para el desarrollo de un diseño experimental debido a sus propiedades físicas: apariencia, tamaño de partícula, capacidad solubilizante del fármaco y número de excipientes.

#### 8.4 Diseño de experimentos para el sistema C

El sistema C se utilizó para realizar el diseño de experimentos el cual fue simplex reticular aumentado. El *diseño simplex reticular* incluye básicamente puntos en la frontera, pero si se desea una mejor predicción es posible incluir puntos en el interior. En particular se recomienda agregar el centroide global y las mezclas localizadas entre el centroide y los vértices. Por ejemplo, en la fig. 30 se muestra un diseño simplex reticular aumentado.

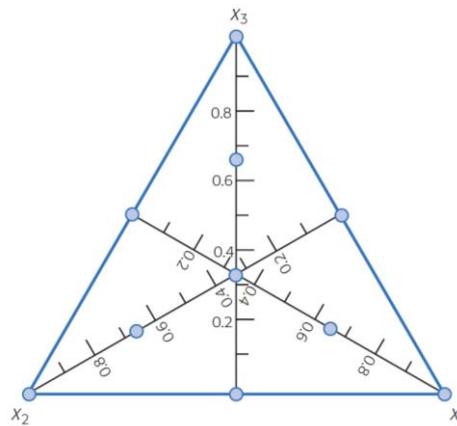


Figura 30. Diseño simplex reticular aumentado

Después de realizar el diseño de experimentos los resultados fueron ajustados a un modelo utilizando el programa Statgraphics Centurion XV Versión 15.2.06 el cual nos indica que es un modelo cúbico especial.

El mejor modelo siempre será el más sencillo y con el mejor ajuste, sin embargo, para este caso el modelo cuadrático no fue suficiente para describir la respuesta por lo cual se decidió utilizar el *modelo cúbico especial*, que para tres componentes está dado por:

$$E(y) = \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_3 x_3 + \beta_{12} x_1 x_2 + \beta_{13} x_1 x_3 + \beta_{23} x_2 x_3 + \beta_{123} x_1 x_2 x_3$$

(Pulido, 2008).

---

La ecuación obtenida fue:

$$\text{Solubilidad del Fármaco} = 6.85 \cdot \text{Mezcla} + 5.21 \cdot \text{Tween 80} + 0.12 \cdot \text{Agua} + 2.50 \cdot \text{Mezcla} \cdot \text{Tween 80} - 11.92 \cdot \text{Mezcla} \cdot \text{Agua} - 4.07 \cdot \text{Tween 80} \cdot \text{Agua} + 49.63 \cdot \text{Mezcla} \cdot \text{Tween 80} \cdot \text{Agua}$$

Donde se observa y como ya se mencionó anteriormente, la interacción de cada componente de la formulación (Mezcla) (Tween 80) y (Agua), la mezcla de dos componentes (Mezcla\*Tween 80) (Mezcla\*Agua) (Tween 80\*Agua) y la mezcla ternaria (Mezcla\*Tween 80\*Agua). En la ecuación del modelo de respuesta se observa un efecto negativo en la solubilidad del fármaco cuando la mezcla de dos componentes incluye al agua esto debido a que una mezcla binaria no genera un sistema disperso como en el caso del sistema que contiene los tres componentes. De hecho, se observa que la presencia del Tween 80 y la mezcla revierte el efecto del agua. Lo anterior sugiere, de acuerdo con el modelo de solubilización, que la generación de la cavidad en el disolvente para llevar a cabo la solvatación del fármaco está favorecido termodinámicamente cuando se forma el sistema autoemulsificable.

Con los datos de solubilidad obtenidos del diseño experimental se tienen los siguientes resultados, donde se puede ver que el modelo seleccionado es cúbico especial debido a que este agrega términos que involucran a los 3 componentes de la formulación, así como su valor de R-Cuadrada ajustada.

Tabla 19. Resultados del modelo estadístico completo

<i>Modelo</i>	<i>ES</i>	<i>R-Cuadrada</i>	<i>R-Cuadrada Ajd.</i>
Lineal	1.27	79.43	75.31
Cuadrático	1.15	88.23	79.83
Cúbico Especial	1.04	91.62	<b>83.25</b>
Cúbico	1.31	93.41	73.66

La tabla 19 muestra un análisis de varianza para el modelo cúbico especial seleccionado. Dado que el valor-P para este modelo es menor que 0.5 existe una

relación estadísticamente significativa entre la respuesta (solubilidad en mg/mL) y los componentes de la formulación, con un nivel de confianza del 95.0%.

El estadístico R-Cuadrada indica que el modelo, así ajustado, explica 91.62% de la variabilidad en la solubilidad del Fármaco. El estadístico R-cuadrada ajustada, que es más adecuado para comparar modelos con diferente número de variables independientes, es 83.24%. El error estándar del estimado muestra que la desviación estándar de los residuos es 1.04. El error medio absoluto (MAE) de 0.5617 es el valor promedio de los residuos. El estadístico de Durbin-Watson (DW) prueba los residuos para determinar si hay alguna correlación significativa basada en el orden en que se presentan los datos en el archivo (ver tabla 20).

Tabla 20. ANOVA para la solubilidad del fármaco

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Modelo Cúbico Especial	72.33	6	12.05	10.94	0.0052
Error total	6.61	6	1.10		
Total (corr.)	78.94	12			

La ecuación del modelo ajustado es:

$$\text{Cuantificación del Fármaco} = 6.85 \cdot \text{Mezcla} + 5.21 \cdot \text{Tween 80} + 0.12 \cdot \text{Agua} + 2.50 \cdot \text{Mezcla} \cdot \text{Tween 80} - 11.925 \cdot \text{Mezcla} \cdot \text{Agua} - 4.07 \cdot \text{Tween 80} \cdot \text{Agua} + 49.63 \cdot \text{Mezcla} \cdot \text{Tween 80} \cdot \text{Agua}$$

En fig. 31 se muestra la relación que existe entre cada factor (componentes de la formulación) con la respuesta (solubilidad del fármaco) donde se observa que, a mayor proporción de la mezcla, la solubilidad del fármaco aumenta, del mismo modo, al incrementar la proporción de Tween 80, incrementa la solubilidad de enrofloxacin sin embargo, llega a un punto de saturación donde el incremento de solubilidad ya no es significativo. Por el contrario, al aumentar la proporción de agua disminuye la solubilidad del fármaco, lo anterior es debido a la afinidad del fármaco con cada disolvente.

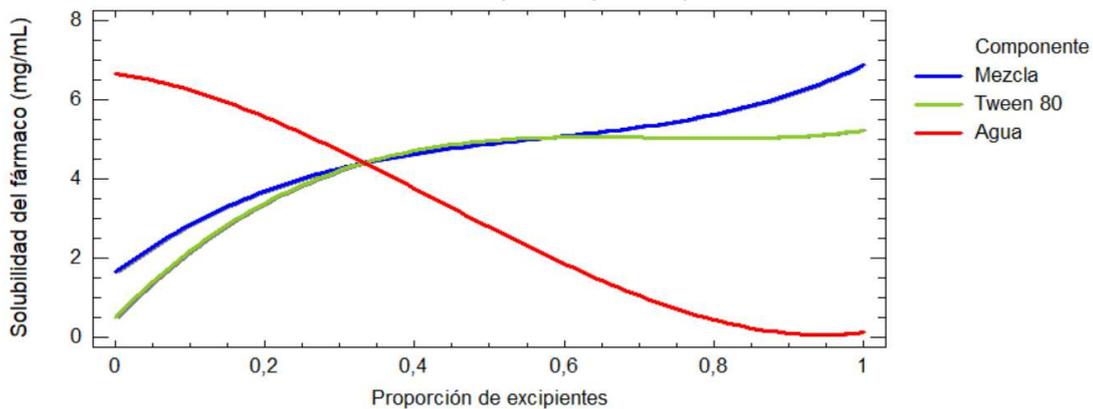


Figura 31. Gráfica de trazas para solubilidad del fármaco

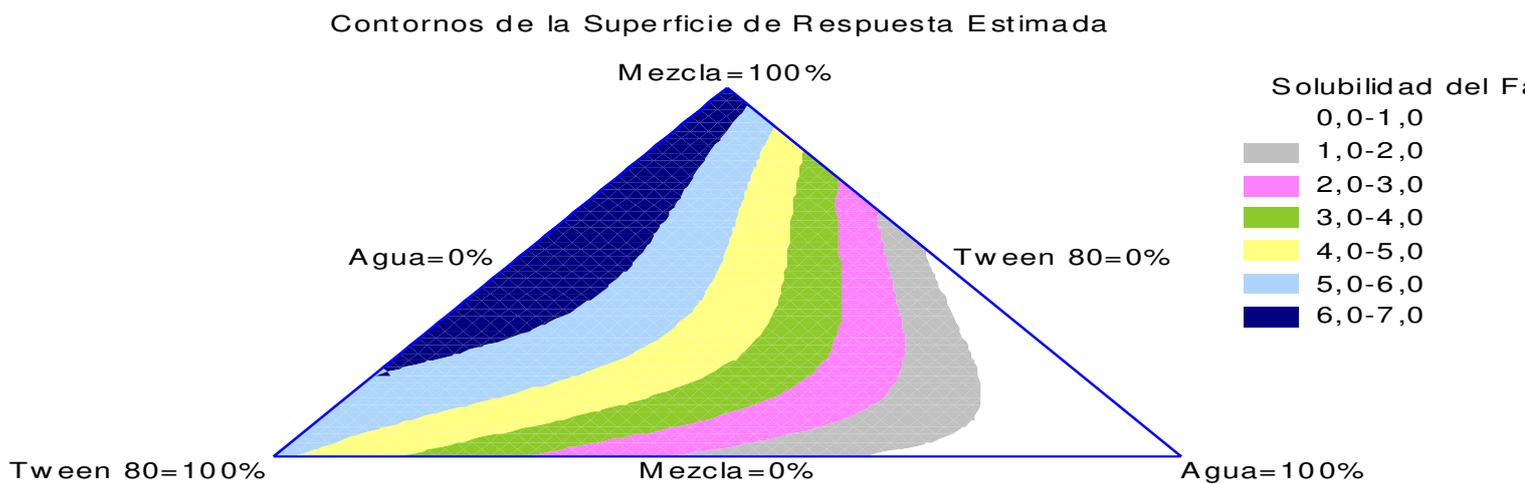


Figura 32. Contornos de la superficie de respuesta estimada

En la fig. 32 se muestra la solubilidad estimada para cada mezcla de componentes donde las áreas coloreadas representan la cantidad de fármaco soluble en cada formulación. Para el área de color blanco se observa que la concentración de fármaco estimada fue entre 0 y 1mg/mL y así consecutivamente, el área azul

---

representa las combinaciones de excipientes donde se estima una mayor solubilidad de enrofloxacin.

### Optimización de la respuesta

Valor de la solubilidad máxima estimada = 6.93 mg/mL

Tabla 21. Formulación estadísticamente óptima

<i>Factor</i>	<i>Bajo</i>	<i>Alto</i>	<i>Óptimo</i>
Mezcla	0,0	1,0	0.827
Tween 80	0,0	1,0	0.172
Agua	0,0	1,0	8.482E-10

En la tabla 21 se muestra la combinación de los niveles de los factores, la cual maximiza la solubilidad del fármaco sobre la región indicada, ver fig. 32. El diseño estimó una formulación óptima con el 82.77% de la Mezcla (Transcutol-PG 2:1), 17.22% de Tween 80 y  $8.48 \times 10^{-10}$  % de agua lo cual es difícil de medir y por lo cual se ajustó la formulación con los datos experimentales obtenidos del diagrama de fases pseudoternario, además, se tomaron en cuenta los usos recomendados por el Handbook Excipients que para el Tween 80 es del 1-15% para emulsiones O/W y para el PG es del 10-25% como disolvente o codisolvente en solución oral; la formulación óptima seleccionada con ambos criterios fue de 75% p/p de la mezcla 2:1 (50% Transcutol- 25% PG), 15% p/p Tween 80 y 10% p/p Agua.

El diseño experimental indica que con dicha formulación la solubilidad máxima alcanzada será entre 6-7 mg/mL según el gráfico de contornos de la superficie de respuesta estimada (ver fig. 32), así mismo esta formulación se justifica en la gráfica de trazas para la solubilidad del fármaco (ver fig. 31) en la cual se observa que a mayor proporción de agua la solubilidad se verá disminuida por lo cual solo se utiliza al 10% en la formulación, por el contrario el incremento de la Mezcla será proporcional a la solubilidad utilizándose hasta el 50% de Transcutol y 25% de PG, en el caso del Tween 80 se observa que a partir del 40% ya no existe un incremento significativo en la solubilidad debido a una saturación por éste en el sistema.

## 8.5 Estudio de estabilidad física del SEDDS en pH 1 y 6.8

Para poder realizar los estudios de estabilidad física se realizaron dos curvas de calibración, una a pH 1 (HCl 0.1N) y otra a pH 6.8 (medio intestinal simulado), lo cual nos permitirá cuantificar enrofloxacin de forma correcta, los resultados se muestran en la fig. 33.

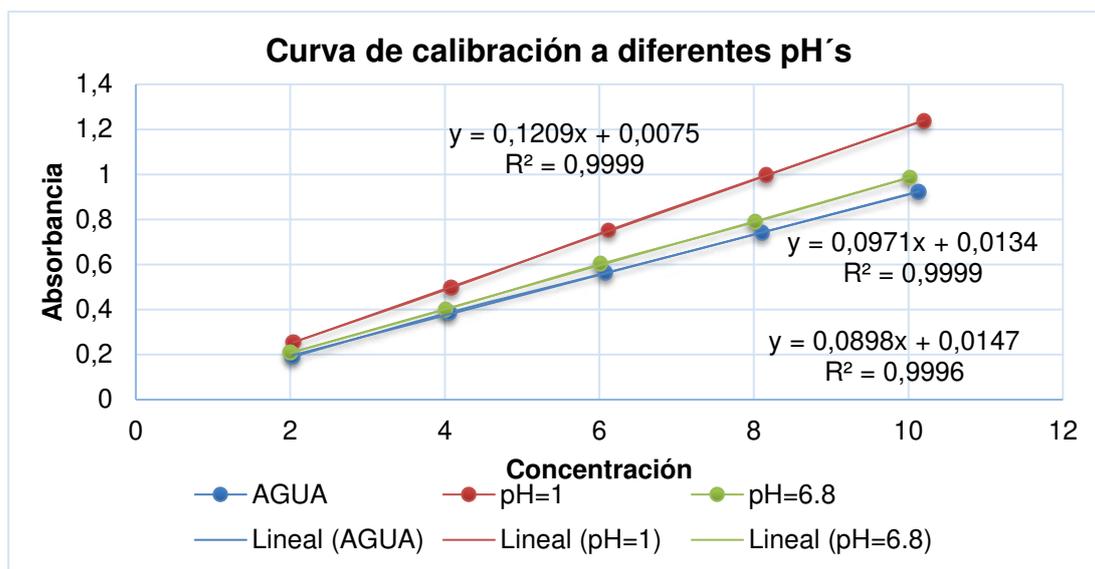


Figura 33. Curva de calibración Abs vs concentración de enrofloxacin a diferentes pH's

Los estudios de estabilidad física de la formulación se realizaron en dos diferentes pHs donde se observó una disminución del porcentaje de fármaco cuantificado cuando la formulación fue expuesta a un pH 6.8 esto debido a la presencia de precipitación (ver fig. 34), la precipitación se debe al tipo de formulación, es decir, tenemos componentes hidrófilos (Tween 80, PG y Transcutol) principal característica de los sistemas lipídicos clase IIIB y IV que otorgan una pérdida de la capacidad disolvente (principal desventaja de estos sistemas).

La precipitación del fármaco es un efecto no deseado en los sistemas lipídicos por lo cual se decidió estabilizarlo con el uso de un copolímero anfifílico el cual evitaría dicha precipitación, para esto se realizó una prueba añadiendo 3 concentraciones diferentes de poloxámero 407 (0.5, 1 y 1.5%). Los estudios de estabilidad física se repitieron con estas nuevas formulaciones a pH 1 y 6.8, los resultados se presentan en la tabla 22.

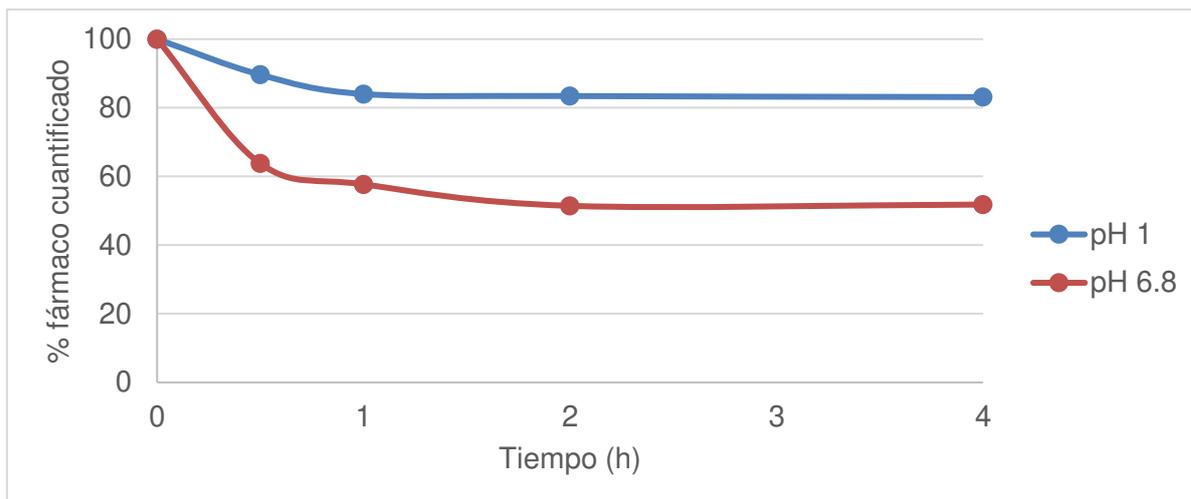


Figura 34 .Estudio de estabilidad de la formula propuesta.

Tabla 22. Estabilidad de las propuestas de reformulación

	Resultado
Formulación propuesta	Precipitación
Formulación con 0.5% de poloxámero 407	Precipitación
Formulación con 1% de poloxámero 407	Sin Precipitación
Formulación con 1.5% de poloxámero 407	Ligera Precipitación

Con los resultados de la tabla 22 se decidió usar 1% de poloxámero 407 como agente estabilizante.

El estudio de estabilidad se repitió con la nueva formulación que estaba compuesta por 74% p/p de la mezcla (50% Transcutol- 24% PG), 15% p/p Tween 80, 10% p/p agua y 1% de poloxámero 407.

En la fig. 35 se observa que el poloxámero 407 estabiliza la formulación disminuyendo su precipitación (ver fig. 36 y 37) y por tanto incrementando su % de fármaco cuantificado.

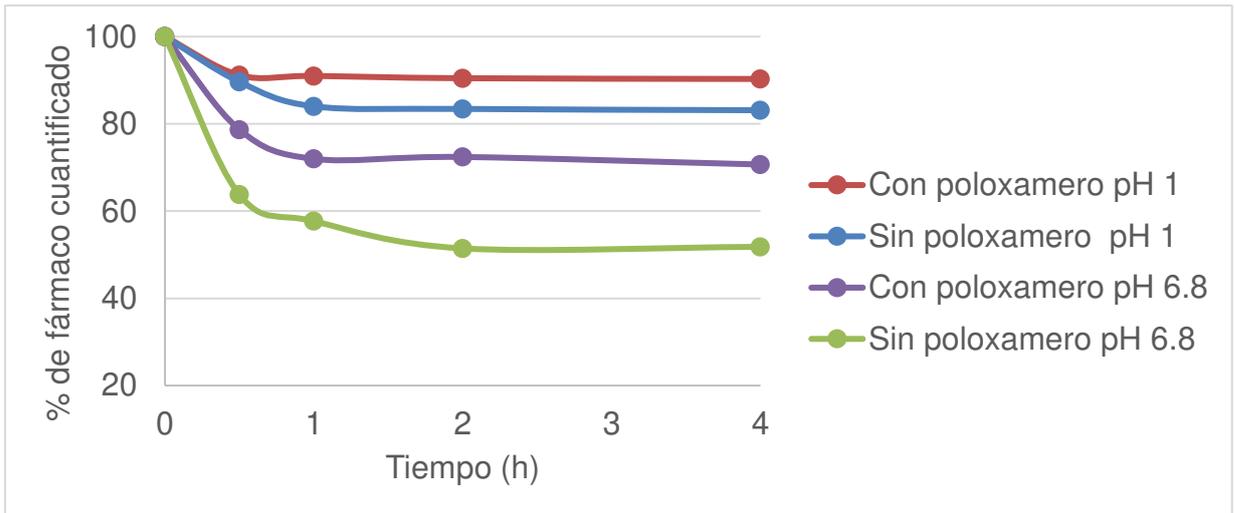


Figura 35. Estudio de estabilidad de la formula propuesta vs reformulación



Sin poloxámero  
407 pH=1

Con poloxámero  
407 pH=1



Sin poloxámero  
407 pH=6.8

Con poloxámero  
407 pH=6.8

Figura 36. Formulación con y sin poloxámero 407 expuesta a pH 1 después de 30min

Figura 37. Formulación con y sin poloxámero 407 expuesta a pH 6.8 después de 30min

En la fig. 37 se observa que la formulación sin poloxámero expuesta a pH 6.8 tiene un aspecto turbio debido a su precipitación.

Además de cuantificar al fármaco, también se midió en tamaño de partícula de las formulaciones con y sin poloxámero 407 expuestas a pH 1 y 6.8 durante 4 horas, los resultados se muestran en la fig. 38.

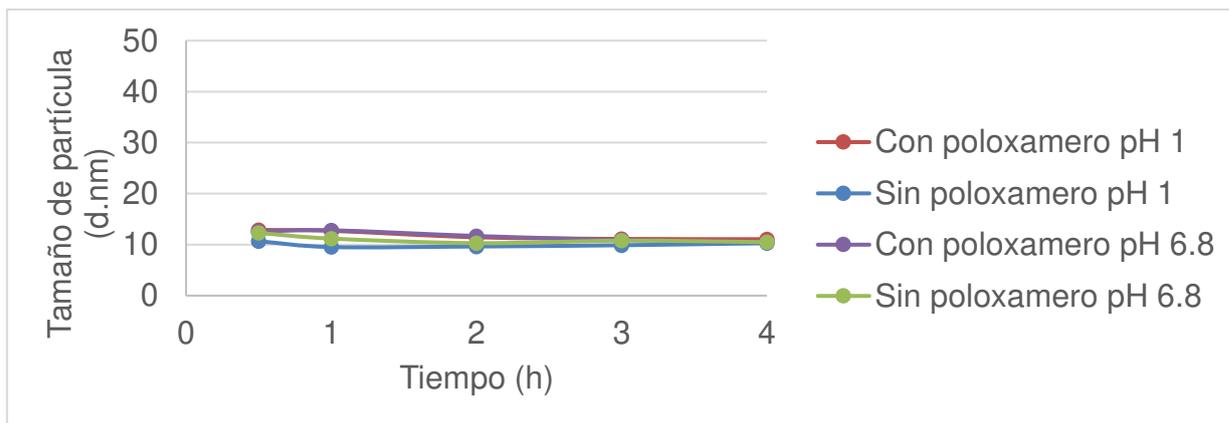


Figura 38. Estudio de estabilidad por tamaño de partícula de la formula propuesta vs reformulación

Se puede observar que el sistema micelar se mantiene estable a los diferentes pH's con y sin el uso de poloxámero 407.

Las soluciones acuosas de poloxámero 407 muestran propiedades termorreversibles, que presentan un gran interés en la optimización de la formulación del fármaco ya que facilita la solubilización de moléculas poco polares (Dumortier, 2006).

Los poloxámeros son copolímeros tribloque con un bloque central de óxido de polipropileno hidrófobo (PPO) flanqueado por dos bloques de óxido de polietileno hidrófilo (PEO). Entre esta familia de copolímeros, el poloxámero 407 es un tensioactivo no iónico capaz de estabilizar por repulsión estéricamente las gotas de la microemulsión (ver fig. 39). El peso molecular formal del poloxámero 407 es de aproximadamente 12,6 kDa con la longitud de dos bloques PEO de 101 unidades repetidas y un bloque PPO de 56 unidades repetidas lo cual sugiere un incremento del tamaño de partícula observado con el uso al 1%. El poloxámero 407 es conocido como un "ingrediente inactivo" por la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA) para una variedad de productos farmacéuticos tales como soluciones orales, suspensiones, formulaciones de inhalación, intravenosas (IV), oftálmicas o formulaciones tópicas (Fakhari, 2017).

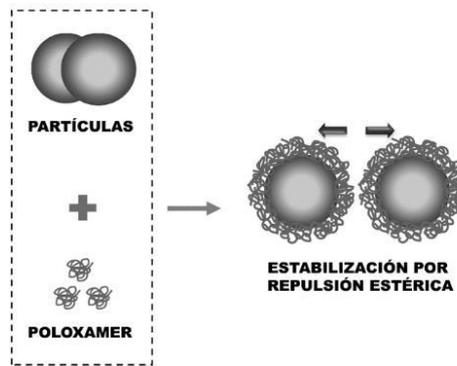


Figura 39. Efecto de estabilización por repulsión estérica por uso de poloxámero (Fakhari, 2017).

El uso de poloxámero estabilizó la formulación permitiendo realizar la cinética de disolución sin tener una precipitación del fármaco.

### 8.6 Cinética de la formulación óptima de enrofloxacin

A la nueva formulación se le realizó un estudio cinético de solubilidad, mostrándose los resultados en la fig. 40, en la cual se observa que el SEDDS tiene la capacidad de disolver hasta 6.77 mg de fármaco por cada mL de formulación en comparación al agua que solo disolvió 0.16 mg/mL a las 48 horas, así mismo, se puede observar que desde los primeros 15 min obtenemos casi 10 veces la solubilidad teórica reportada para la enrofloxacin, pudiendo con esto disminuir tiempos y costos de producción.

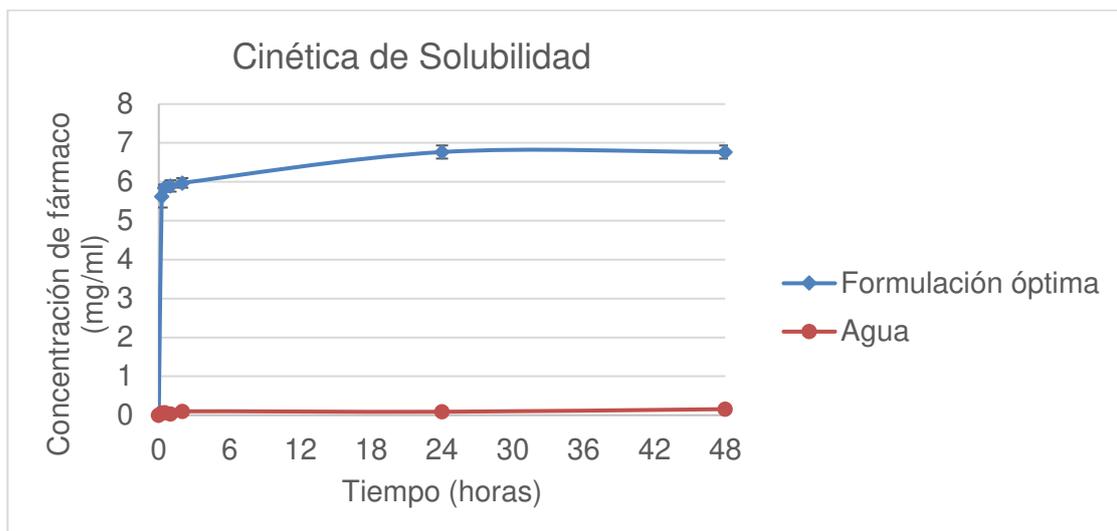


Figura 40. Cinética de solubilidad del fármaco en la formulación óptima vs agua.

## 8.7 Cinética de liberación: formulación óptima de enrofloxacin vs solución oral comercial de enrofloxacin al 0.5%

En medio intestinal simulado se observó la siguiente cinética de liberación (ver fig. 41) donde se muestra que el mayor porcentaje de fármaco liberado se obtiene a las 8 horas, dicha liberación es del 81.1% para la formulación (SEDDES) y del 68.9% para la formulación comercial.

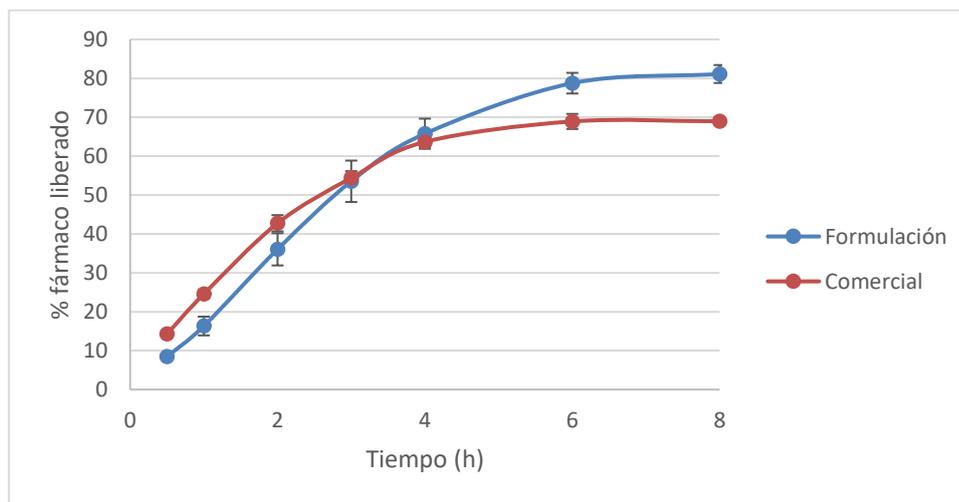


Figura 41. Cinética de liberación en medio intestinal simulado

Los resultados se ajustaron a diferentes modelos de liberación donde el que presenta menor valor de  $r^2$  y mayor valor de AIC, será el que mejor describa el mecanismo de liberación para cada formulación en los diferentes medios.

En la tabla 23 se observa que la formulación óptima (SEDDES) se ajustó a un modelo de primer orden a diferencia de la formulación comercial que se ajustó a un modelo de korsmeyer-Peppas en medio intestinal simulado.

Tabla 23. Modelos de liberación en medio intestinal simulado

Modelo	SEDDS		COMERCIAL	
	$r^2$	AIC	$r^2$	AIC
Orden 0	0.8002	50.47	0.3490	54.74
<b>Primer orden</b>	<b>0.9826</b>	<b>33.37</b>	0.8065	46.25
Higuchi	0.9100	44.89	0.8321	45.98
Korsmeyer-Peppas	0.8342	49.89	<b>0.9132</b>	<b>40.64</b>

En el medio ácido se observó la siguiente cinética de liberación (ver fig. 42) donde se muestra que el mayor porcentaje de fármaco liberado se obtiene a las 8 horas, dicha liberación es del 96.0% para la formulación (SEDDS) y del 86.7% para la formulación comercial.

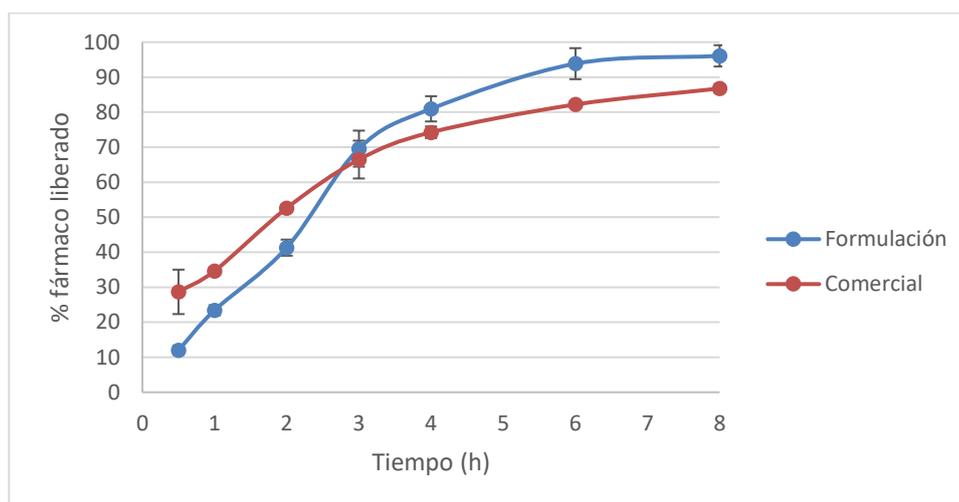


Figura 42. Cinética de liberación en medio ácido, pH 1.

En la tabla 24 se observa que la formulación (SEDDS) se ajustó a un modelo de primer orden a diferencia de la formulación comercial que se ajustó a un modelo de korsmeyer-Peppas en medio ácido.

Tabla 24. Modelos de liberación en medio ácido

Modelo	SEDDS		COMERCIAL	
	$r^2$	AIC	$r^2$	AIC
Orden 0	0.7353	54.63	0.0182	58.20
<b>Primer orden</b>	<b>0.9545</b>	<b>42.30</b>	0.8671	44.20
Higuchi	0.9100	47.08	0.9276	39.95
Korsmeyer-Peppas	0.8803	49.80	<b>0.9564</b>	<b>3713</b>

La principal ventaja de formular sistemas lipídicos incluye la formación de microemulsiones aceite en agua que al contacto con medios acuosos (fluidos gastrointestinales), ellos pueden ser administrados como una forma de mezcla de tensoactivo-aceite o microemulsión de agua-en-aceite (W/O) y se espera que se conviertan en microemulsiones de aceite en agua (O/W) en la mucosa objetivo, como la mucosa intestinal, ver fig. 43.

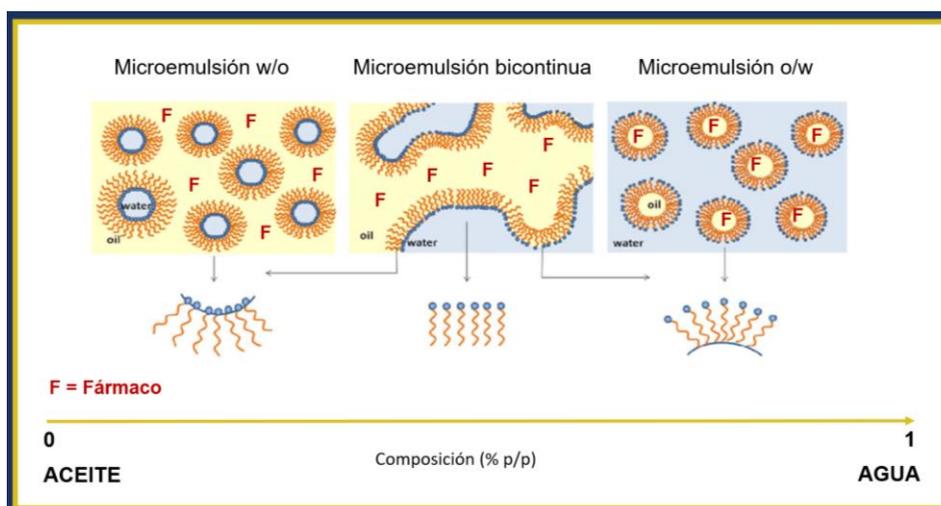


Figura 43. Formación de microemulsión o/w por dilución.

Sin embargo, la correlación *in vitro-in vivo* es en particular para este tipo de sistemas de entrega considerablemente pobre. Una de las razones de esta situación es sin duda la falta de métodos para determinar la liberación del medicamento de SEDDS *in vitro*, como proceso es particularmente problemático. En el caso de los métodos

---

de difusión por membrana, las gotas oleosas se separan para liberar el medio a través de las membranas de diálisis que son permeables al fármaco libre pero impermeables a las gotitas oleosas (Bernkop-Schnürch and Jalil 2018). Con este método se obtiene solo una aproximación que permite darnos una idea del tipo de liberación que la formulación presenta, por ejemplo, en este proyecto se obtuvo una liberación de primer orden para el SEDDS es decir, que el fármaco se libera de una manera proporcional a la cantidad de fármaco remanente, de tal manera, que la cantidad de fármaco liberada por unidad de tiempo disminuye teniendo en los primeros tiempos la máxima cantidad liberada (ver fig. 41 y 42), lo cual toma gran importancia en los antibióticos dosis dependientes ya que requieren una dosis de carga relativamente alta para alcanzar los niveles de concentración plasmática requeridos, que para el caso de enrofloxacin y como se mencionó anteriormente es de 8 a 10 veces la CMI del antibiótico. Los SEDDS al no presentar precipitación del fármaco y entregarlo en su forma solubilizada sobre la membrana apical del enterocito aumentarían la velocidad de absorción del fármaco evitando así la lenta disolución del cristalino estado (Mohsin, 2009), esto aunado a la cinética de liberación que presenta la formulación se tendrá una dosis de carga que favorecerá el efecto terapéutico del antibiótico sin embargo, dentro de las perspectivas de este trabajo se pretende realizar estudios de absorción para poder hacer un ajuste de dosis y así poder evitar toxicidades relacionadas a altas concentraciones plasmáticas. El ajuste de dosis pretende disminuir el volumen de medicamento administrado y por tanto el volumen del medicamento en su presentación comercial, lo cual podría disminuir costos de fabricación por menor uso de principio activo, contribuir con la disminución de contaminantes emergentes (antibióticos) en aguas residuales, ríos y otras corrientes superficiales y con esto aportar a la disminución de la resistencia microbiana a antibióticos, recordando que la enrofloxacin se metaboliza a ciprofloxacino y su uso excesivo y descontrolado impacta directamente en la resistencia a antibióticos de uso humano (quinolonas).

---

## 9. CONCLUSIONES

Se desarrolló un Sistema Autoemulsificable mediante el uso de un sistema lipídico que incluye Transcutol, propilenglicol y Tween 80 capaz de incrementar la solubilidad de enrofloxacin hasta 10 veces más en comparación con la solubilidad en agua reportada en la literatura, la formulación fue estable a pH 1 y 6.8 los cuales simulan el paso a través del TGI resultando potencialmente útil para su administración oral.

La selección y optimización de la formulación se realizó mediante el uso de diagramas de fase pseudoternarios evaluando sus propiedades físicas y/o fisicoquímicas como turbidez, tamaño de partícula y solubilidad de Enrofloxacin.

La formulación seleccionada como óptima contiene 74% p/p de Mezcla (50% Transcutol HP + 24% PG), 15% p/p de Tween 80, 10% p/p de Agua y 1% de poloxámero 407, la cual puede solubilizar a la enrofloxacin hasta 6.77 mg/mL a 25°C y 10.2 mg/mL a 37°C. Posee color amarillo translucido, pH de 6.39, potencial Z de -0.162 mV y un tamaño de partícula de 40 d.nm.

Dentro de las ventajas de la formulación obtenida se puede destacar su posible capacidad de entregar al fármaco disuelto en su forma neutra sobre la membrana apical del enterocito sin presentar pérdida de su capacidad disolvente, el tamaño de partícula al ser diluido en un medio acuoso 1:10 fue de 10 d.nm lo cual podría otorgar una mayor absorción y por tanto mayor biodisponibilidad. El pH del SEDDS fue comparado con una solución oral comercial al 0.5% la cual presentó un pH de 11.57 a diferencia de nuestra formulación que fue igual a 6.39 lo cual disminuye el daño al TGI incrementando su seguridad y disminuyendo la posible precipitación al entrar en contacto con los jugos gástricos.

---

---

## 10. REFERENCIAS

- Abo Enin, H. A. (2015). "Self-nanoemulsifying drug-delivery system for improved oral bioavailability of rosuvastatin using natural oil antihyperlipdemic." *Drug Dev Ind Pharm* 41(7): 1047-1056.
- Agarwal, V., et al. (2009). "Dissolution and powder flow characterization of solid self-emulsified drug delivery system (SEDDS)." *International Journal of Pharmaceutics* 366(1): 44-52.
- Alskär, L. C., et al. (2016). "Tools for Early Prediction of Drug Loading in Lipid-Based Formulations." *Molecular Pharmaceutics* 13(1): 251-261.
- Amidon, G. L., et al. (1995). "A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability." *Pharm Res* 12(3): 413-420.
- Aragon N, D., & Pacheco A, D., & Ruidiaz M, M., & Sosnik, A., & Martinez R, F. (2008). Método extendido de Hildebrand en la predicción de la solubilidad de naproxeno en mezclas cosolventes etanol + agua. *Vitae*, 15 (1), 113-122.
- Arcos, J. C. T. (2010). Estudio de formulaciones convencional y nuevas formulaciones de liberación retardada de enrofloxacino en la cabra. Departamento de Farmacología España, Universidad de Murcia. Tesis doctoral.
- Arteaga, A. F. (2006). "Preparación, caracterización y estabilidad de emulsiones y microemulsiones O/W." Tesis doctoral, Universidad de Granada.
- Aulton, M. E. (2004). "Farmacia. La ciencia del diseño de las formas farmacéuticas." Elsevier 2da Edición.

- 
- Bakhle, S. S. and J. G. Avari (2015). "Development and Characterization of Solid Self-emulsifying Drug Delivery System of Cilnidipine." *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 63(6): 408-417.
  - Bernkop-Schnürch, A. and A. Jalil (2018). "Do drug release studies from SEDDS make any sense?" *Journal of Controlled Release* 271: 55-59.
  - Craig, D. Q. M., et al. (1993). "An investigation into the physico-chemical properties of self-emulsifying systems using low frequency dielectric spectroscopy, surface tension measurements and particle size analysis." *International Journal of Pharmaceutics* 96(1): 147-155.
  - Czajkowska-Kośnik, A., et al. (2015). "Development and Evaluation of Liquid and Solid Self-Emulsifying Drug Delivery Systems for Atorvastatin." *Molecules* 20(12): 19745.
  - Delongea, J. L., et al. (2010). "Assessment of Labrasol®/Labrafil®/Transcutol® (4/4/2, v/v/v) as a non-clinical vehicle for poorly water-soluble compounds after 4-week oral toxicity study in Wistar rats." *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 57(2): 284-290.
  - Dios, A. B. S. d. (2013). Mecanismo de acción y óptima selección de codisolventes en formas farmacéuticas. Departamento de Ciencias Biomedicas Facultad de Farmacia, Universidad de Alcala de Henares 330.
  - Dumortier, G., et al. (2006). "A review of poloxamer 407 pharmaceutical and pharmacological characteristics." *Pharm Res* 23(12): 2709-2728.
  - Elbittar, Á. A. R. (2013). Estudio del efecto tensoactivo de un agente anti-espumante en el proceso de deshidratación de gas natural con glicol. Departamento de Ingeniería Química. Barcelona, Universidad de Oriente.

- 
- Elkordy, A. A., U. Bhangale, N. Murle and M. F. Zarara (2013). "Combination of lactose (as a carrier) with Cremophor® EL (as a liquid vehicle) to enhance dissolution of griseofulvin." *Powder Technology* 246: 182-186.
  - Fakhari, A., et al. (2017). "Thermogelling properties of purified poloxamer 407." *Heliyon* 3(8): e00390.
  - Fatouros, D. G., D. M. Karpf, F. S. Nielsen and A. Mullertz (2007). "Clinical studies with oral lipid based formulations of poorly soluble compounds." *Therapeutics and Clinical Risk Management* 3(4): 591-604.
  - FDA Guidance For Industry, CDER, "Waiver of in vivo bioavailability and bioequivalence studies for immediate-release solid oral dosage forms based on a biopharmaceutics classification system", 2000.
  - Felton, L. A. (2013). *Remington Essentials of Pharmaceutics*. Philadelphia Collage of Pharmacy
  - Gowree Manogar, P., et al. (2012). *Emerging Liquid Solid Compact Technology for Solubility Enhancement of BCS Class-II Drug*.
  - Griffin, W.C. (1949) Classification of Surface-Active Agents by "HLB". *Journal of Cosmetic Science*, 1, 311-326.
  - Grove, M., Pedersen, G.P., Nielsen, J.L., Mullertz, A., 2005. Bioavailability of seocalcitol I: relating solubility in biorelevant media with oral bioavailability in rats – effect of medium and long chain triglycerides. *J. Pharm. Sci.* 94, 1830–1838.
  - Guada, M., A. Beloqui, M. N. V. R. Kumar, V. Pr at, M. d. C. Dios-Vi itez and M. J. Blanco-Prieto (2016). "Reformulating cyclosporine A (CsA): More than just a life cycle management strategy." *Journal of Controlled Release* 225: 269-282.

- 
- 
- Gumaste, S. G., et al. (2013). "Development of Solid SEDDS, V: Compaction and Drug Release Properties of Tablets Prepared by Adsorbing Lipid-Based Formulations onto Neusilin® US2." *Pharmaceutical Research* 30(12): 3186-3199.
  - Hentzschel, C. M., et al. (2012). "Enhancement of griseofulvin release from liquisolid compacts." *Eur J Pharm Biopharm* 80(1): 130-135.
  - Hu, Z., et al. (2001). "A novel emulsifier, Labrasol, enhances gastrointestinal absorption of gentamicin." *Life Sciences* 69(24): 2899-2910.
  - Hu, Z., et al. (2002). "Diethyl ether fraction of Labrasol having a stronger absorption enhancing effect on gentamicin than Labrasol itself." *International Journal of Pharmaceutics* 234(1): 223-235.
  - Iborra, M. T. V. (2008). Desarrollo galénico de preparados obtenidos por interacción del ácido 5-amino salicílico con halloysita Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica Facultad de Farmacia, Universidad de Granada.
  - Iwanaga, K., et al. (2006). "Disposition of lipid-based formulation in the intestinal tract affects the absorption of poorly water-soluble drugs." *Biol Pharm Bull* 29(3): 508-512.
  - Jato, J. L. V. (2001). *Tecnología Farmacéutica Volumen I: Aspectos fundamentales de los sistemas farmacéuticos y operaciones básicas*
  - Javadzadeh, Y., et al. (2005). "Enhancement of dissolution rate of piroxicam using liquisolid compacts." *Farmaco* 60(4): 361-365.
  - Javadzadeh, Y., M. R. Siahi, S. Asnaashari and A. Nokhodchi (2007). "An Investigation of Physicochemical Properties of Piroxicam Liquisolid Compacts." *Pharmaceutical Development and Technology* 12(3): 337-343.

- 
- 
- Kalepu, S. and V. Nekkanti (2015). "Insoluble drug delivery strategies: review of recent advances and business prospects." *Acta Pharmaceutica Sinica. B* 5(5): 442-453.
  - Khosravi, M., et al. (2002). "Analysis Methods of Polysorbate 20: A New Method to Assess the Stability of Polysorbate 20 and Established Methods That May Overlook Degraded Polysorbate 20." *Pharmaceutical Research* 19(5): 634-639.
  - Kollipara, S. and R. K. Gandhi (2014). "Pharmacokinetic aspects and in vitro–in vivo correlation potential for lipid-based formulations." *Acta Pharmaceutica Sinica B* 4(5): 333-349.
  - Küng, K., et al. (1993). "Pharmacokinetics of enrofloxacin and its metabolite ciprofloxacin after intravenous and oral administration of enrofloxacin in dogs." *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 16(4): 462-468.
  - Lawrence, M. J. and G. D. Rees (2012). "Microemulsion-based media as novel drug delivery systems." *Advanced Drug Delivery Reviews* 64: 175-193.
  - Leichner, C., et al. (2017). "Development and in vitro characterization of a papain loaded mucolytic self-emulsifying drug delivery system (SEDDS)." *Int J Pharm* 530(1-2): 346-353.
  - Martínez, F. (2005). Utilidad del método extendido de Hildebrand en el estudio de la solubilidad del acetaminofén en mezclas agua-propilenoglicol. *Acad. Colomb.* 29: 429-438.
  - McClements, D. J. (2012). "Nanoemulsions versus microemulsions: terminology, differences, and similarities." *Soft Matter* 8(6): 1719-1729.

- 
- Mohsin, K., et al. (2009). "Design of lipid-based formulations for oral administration of poorly water-soluble drugs: precipitation of drug after dispersion of formulations in aqueous solution." *J Pharm Sci* 98(10): 3582-3595.
  - Mu, H., et al. (2013). "Lipid-based formulations for oral administration of poorly water-soluble drugs." *Int J Pharm* 453(1): 215-224.
  - Nanjwade, B. K., et al. (2011). "Functions of Lipids for Enhancement of Oral Bioavailability of Poorly Water-Soluble Drugs." *Scientia Pharmaceutica* 79(4): 705-727.
  - Olvera, L. G. (2004). Contribución a la modificación estratégica de la farmacocinética en la enrofloxacin en pollo de engorda Universidad Nacional Autónoma de México
  - Papich, M. G. (2016). Enrofloxacin. *Saunders Handbook of Veterinary Drugs (Fourth Edition)*. St. Louis, W.B. Saunders: 287-289.
  - Papich, M. G. and M. N. Martinez (2015). "Applying Biopharmaceutical Classification System (BCS) Criteria to Predict Oral Absorption of Drugs in Dogs: Challenges and Pitfalls." *The AAPS Journal* 17(4): 948-964.
  - Persson, L. C., et al. (2013). "Computational Prediction of Drug Solubility in Lipid Based Formulation Excipients." *Pharmaceutical Research* 30(12): 3225-3237.
  - Pineros, I., et al. (2017). "Analgesic and anti-inflammatory controlled-released injectable microemulsion: Pseudo-ternary phase diagrams, in vitro, ex vivo and in vivo evaluation." *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 101: 220-227.
  - Porter, C. J., et al. (2004). "Susceptibility to lipase-mediated digestion reduces the oral bioavailability of danazol after administration as a medium-chain lipid-based microemulsion formulation." *Pharm Res* 21(8): 1405-1412.

- 
- Pouton, C. W. (2000). "Lipid formulations for oral administration of drugs: non-emulsifying, self-emulsifying and 'self-microemulsifying' drug delivery systems." *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 11: S93-S98.
  - Pouton, C. W. (2006). "Formulation of poorly water-soluble drugs for oral administration: Physicochemical and physiological issues and the lipid formulation classification system." *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 29(3–4): 278-287.
  - Pouton, C. W. and C. J. H. Porter (2008). "Formulation of lipid-based delivery systems for oral administration: Materials, methods and strategies." *Advanced Drug Delivery Reviews* 60(6): 625-637.
  - Prasad, Y. V., et al. (2003). "Enhanced intestinal absorption of vancomycin with Labrasol and D-alpha-tocopheryl PEG 1000 succinate in rats." *Int J Pharm* 250(1): 181-190.
  - Pulido, H. G. (2008). *Análisis y diseño de experimentos México D.F.*
  - Saxena, S., et al. (2013). *Lipid Excipients in Self Emulsifying Drug Delivery Systems.*
  - Serajuddin, A. T. (2007). "Salt formation to improve drug solubility." *Adv Drug Deliv Rev* 59(7): 603-616.
  - Shrestha, H., et al. (2014). "Lipid-Based Drug Delivery Systems." *Journal of Pharmaceutics* 2014: 10.
  - Smith, B. T. (2015). *Remington Education: Physical Pharmacy.* 1st Edición.
  - Talegaonkar, S., G. Mustafa, S. Akhter and Z. I. Iqbal (2010). "Design and Development of Oral Oil-in-Water Nanoemulsion Formulation Bearing Atorvastatin: In Vitro Assessment." *Journal of Dispersion Science and Technology* 31(5): 690-701.

- 
- Thi, T. D., et al. (2009). "Formulate-ability of ten compounds with different physicochemical profiles in SMEDDS." *Eur J Pharm Sci* 38(5): 479-488.
  - Tiong, N. and A. A. Elkordy (2009). "Effects of liquid formulations on dissolution of naproxen." *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 73(3): 373-384.
  - Truong, D. H., et al. (2016). "Development of Solid Self-Emulsifying Formulation for Improving the Oral Bioavailability of Erlotinib." *AAPS PharmSciTech* 17(2): 466-473.
  - Williams, H. D., N. L. Trevaskis, S. A. Charman, R. M. Shanker, W. N. Charman, C. W. Pouton and C. J. Porter (2013). "Strategies to address low drug solubility in discovery and development." *Pharmacol Rev* 65(1): 315-499.
  - Williams, H. D., N. L. Trevaskis, Y. Y. Yeap, M. U. Anby, C. W. Pouton and C. J. H. Porter (2013). "Lipid-Based Formulations and Drug Supersaturation: Harnessing the Unique Benefits of the Lipid Digestion/Absorption Pathway." *Pharmaceutical Research* 30(12): 2976-2992.
  - Wolk, O., R. Agbaria and A. Dahan (2014). "Provisional in-silico biopharmaceutics classification (BCS) to guide oral drug product development." *Drug Design, Development and Therapy* 8: 1563-1575.
  - Xie, S., et al. (2017). "Enhanced intracellular delivery and antibacterial efficacy of enrofloxacin-loaded docosanoic acid solid lipid nanoparticles against intracellular *Salmonella*." *Sci Rep* 7: 41104.
  - Zafón, V. B. (2007). Caracterización y determinación de surfactantes y otros componentes en productos de limpieza con aplicación en control de calidad de formulaciones industriales. Departamento de Química Analítica. España, Universidad de Valencia. Tesis Doctoral.

- 
- Zupancic, O., et al. (2017). "Development and in vitro characterization of self-emulsifying drug delivery system (SEDDS) for oral opioid peptide delivery." *Drug Dev Ind Pharm* 43(10): 1694-1702.