



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**DESARROLLO Y CARACTERIZACIÓN DE SISTEMAS
AUTOEMULSIONABLES PARA MEJORAR LA SOLUBILIDAD Y
BIODISPONIBILIDAD DE PRAZICUANTEL**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

PRESENTA

OSCAR SANTIAGO VILLARREAL



Ciudad Universitaria, CD.MX., 2021



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Profesor: ENRIQUE AMADOR GONZALEZ

VOCAL: Profesor: MARÍA JOSEFA BERNAD BERNAD

SECRETARIO: Profesor: JORGE ESTEBAN MIRANDA CALDERÓN

1er. SUPLENTE: Profesor: GERARDO LEYVA GOMEZ

2° SUPLENTE: Profesor: AURORA ANAIS ZURITA CRUZ

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

**LABORATORIO N-106. LABORATORIO DE FARMACIA MOLECULAR Y
LIBERACIÓN CONTROLADA. DEPARTAMENTO DE SISTEMAS BIOLÓGICOS.
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA-UNIDAD XOCHIMILCO**

ASESOR DEL TEMA: JORGE ESTEBAN MIRANDA CALDERÓN

SUPERVISOR TÉCNICO: MARÍA JOSEFA BERNAD BERNAD

SUSTENTANTE: OSCAR SANTIAGO VILLARREAL

ÍNDICE

ABREVIATURAS	1
ÍNDICE DE FIGURAS	2
ÍNDICE DE TABLAS	4
1. INTRODUCCIÓN	5
2. ANTECEDENTES	6
3. MARCO TEÓRICO	8
3.1 Solubilidad y disolución	8
3.1.1 Mecanismos de solubilización de un fármaco	10
3.1.2 Sistema de Clasificación Biofarmacéutica	12
3.2 Estrategias para mejorar la solubilidad de fármacos	13
3.3 formulaciones basadas en lípidos	14
3.3.1 Clasificación de sistemas lipídicos	15
3.4 Excipientes lipídicos	17
3.4.1 Vehículos oleosos	17
3.4.2 Surfactantes	18
3.4.3 Co-surfactantes	18
3.5 SEDDS-Sistemas de administración de fármacos autoemulsificables	19
3.5.1 Características	19
3.5.2 Proceso de emulsificación	20
3.5.3 Digestión de SEDDS	21
3.6 Caracterización de SEDDS	22
3.6.1 Eficiencia de autoemulsificación	22
3.6.2 Tamaño de partícula	23
3.6.3 Potencial zeta	24
3.6.4 Estabilidad física	24
3.6.5 Pruebas de disolución y absorción	25
3.7 Prazicuantel	25
3.7.1 Propiedades físicas	27
4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	27
5. HIPÓTESIS	28
6. OBJETIVO GENERAL	28
6.1 Objetivos particulares	28

7. MATERIALES Y MÉTODOS	29
7.1 Materiales	29
7.1.1 Principio activo, excipientes y soluciones de trabajo.....	29
7.1.2 Aparatos y equipos	29
7.2 Métodos	30
7.2.1 Desarrollo de formulación lipídica	30
7.2.1.1 Caracterización de Prazicuantel	30
7.2.1.1.1 Barrido de absorbancia y curva patrón	30
7.2.1.2 Interferencia de excipientes (UV-Vis).....	30
7.2.1.3 Solubilidad al equilibrio en vehículos puros	30
7.2.1.4 Construcción de diagramas ternarios	31
7.2.1.5 Máxima capacidad de carga.....	31
7.2.2 Caracterización de SEDDS	32
7.2.2.1 Emulsificación in vitro y clasificación por apariencia física	32
7.2.2.2 Tamaño de partícula y potencial zeta	32
7.2.2.3 Ciclado de estabilidad física	32
7.2.3 Desempeño de SEDDS	33
7.2.3.1 Perfil de disolución	33
7.2.3.2 Permeabilidad en sistema ex vivo	33
8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	33
8.1 Desarrollo de formulación lipídica	33
8.1.1 Caracterización de Prazicuantel.....	33
8.1.2 Interferencia de excipientes (UV-Vis)	35
8.1.3 Solubilidad al equilibrio en vehículos puros	37
8.1.4 Construcción de diagramas ternarios	40
8.1.5 Máxima capacidad de carga	41
8.2 Caracterización de SEDDS.....	42
8.2.1 Emulsificación in vitro y apariencia física	42
8.2.2 Tamaño de glóbulo y potencial zeta	47
8.3 Desempeño de SEDDS.....	48
8.3.1 Perfil de disolución.....	48
8.3.2 Permeabilidad en sistema ex vivo	51
9. CONCLUSIONES.....	54
10. REFERENCIAS.....	55

ABREVIATURAS

CMC	Concentración micelar crítica
PC	Prazicuantel
TGI	Tracto gastrointestinal
SEDDS	Sistemas de administración de fármacos autoemulsificables
SNEDDS	Sistemas de administración de fármacos autonanoemulsificables
SMEDDS	Sistemas de administración de fármacos automicroemulsificables
O/W	Aceite en agua
SCB	Sistema de clasificación biofarmacéutica
CD	Ciclodextrinas
PLGA	poli (ácido láctico-co-glicólico)
ΔG	Energía libre de Gibbs
ΔS	Entropía
ΔH	Entalpía
FBL	Formulaciones basadas en lípidos
LFCS	Sistema de clasificación de formulaciones lipídicas
HLB	Balance hidrofílico-lipofílico
PG	Propilenglicol
PEG	Polietilenglicol
AGCM	Ácidos grasos de cadena mediana
DLS	Dispersión de Luz Dinámica
API	Ingrediente con actividad farmacéutica
PVDF	difluoruro de polivinilideno

ÍNDICE DE FIGURAS

<i>Figura 1. Mecanismo de solubilización de un fármaco.....</i>	<i>11</i>
<i>Figura 2. Representación típica del Sistema de Clasificación Biofarmacéutica</i>	<i>12</i>
<i>Figura 3. Estrategias usadas para solubilizar fármacos poco solubles.....</i>	<i>13</i>
<i>Figura 4. Esquema de los procesos de emulsificación impulsados por el aporte de energía al sistema, (a) poca o nula, (b) factor externo.....</i>	<i>21</i>
<i>Figura 5. Proceso de dilución de los SEDDS seguido de la formación de diferentes estructuras micelares en el lumen intestinal, para su posterior absorción en los enterocitos</i>	<i>22</i>
<i>Figura 6. A) Barrido de absorbancia de PC y B) influencia de la concentración sobre el patrón de picos de absorbancia máxima.....</i>	<i>34</i>
<i>Figura 7. Curva patrón preparada como referencia para la cuantificación de PC</i>	<i>35</i>
<i>Figura 8. Interferencia de excipientes lipídicos comparada con el barrido de absorbancia para la muestra que presento la menor carga de PC.....</i>	<i>36</i>
<i>Figura 9. Incremento de solubilidad de PC respecto a su solubilidad acuosa a tres temperaturas (25, 37 y 40°C).....</i>	<i>37</i>
<i>Figura 10. Área de trabajo seleccionada, caracterizada por una concentración de surfactante de 50- 90%, mientras que el aceite y co-surfactante se encuentran en concentraciones de 5-45 %.....</i>	<i>40</i>
<i>Figura 11. Apariencia de cada uno de los niveles de turbidez según la escala de 0 – 4 que se utilizó para la clasificación de los sistemas preparados.....</i>	<i>44</i>
<i>Figura 12. Zonas de autoemulsificación para los 2 diagramas contruidos representadas por la zona de color negro.....</i>	<i>45</i>

<i>Figura 13. Zonas de autoemulsificación corregida para el diagrama B.....</i>	<i>46</i>
<i>Figura 14. Perfiles de disolución para el diagrama A.....</i>	<i>49</i>
<i>Figura 15. Perfiles de disolución para el diagrama B.....</i>	<i>50</i>
<i>Figura 16. Preparación para estudio de permeación en sistema ex vivo.....</i>	<i>51</i>
<i>Figura 17. Estudio de permeación en sistema ex vivo. Formulación A2.....</i>	<i>52</i>
<i>Figura 18. Estudio de permeación en sistema ex vivo. Formulación B2.....</i>	<i>53</i>

ÍNDICE DE TABLAS

<i>Tabla 1. Propiedades fisicoquímicas del Prazicuantel</i>	<i>27</i>
<i>Tabla 2. Composición en % para cada punto dentro del área de trabajo seleccionada</i>	<i>31</i>
<i>Tabla 3. Solubilidad al equilibrio en diferentes vehículos de carácter lipofílicos, así como para diferentes disolventes orgánicos.....</i>	<i>39</i>
<i>Tabla 4. Máxima capacidad de carga de PC en mezclas lipídicas para el Diagrama A: Capryol90/Labrasol/Transcutol.</i>	<i>41</i>
<i>Tabla 5. Máxima capacidad de carga de PC en mezclas lipídicas para el Diagrama B: Capryol90/Tween80/Transcutol.....</i>	<i>42</i>
<i>Tabla 6. Emulsificación in vitro y apariencia física.....</i>	<i>43</i>
<i>Tabla 7. Caracterización de SEDDS por tamaño de glóbulo, índice de polidispersidad y potencial zeta.....</i>	<i>47</i>

1. INTRODUCCIÓN

Un alto porcentaje de entidades químicas farmacológicas recientemente descubiertas, siguen siendo un desafío en el proceso de desarrollo de medicamentos debido a su escasa solubilidad en agua (Venkata et al., 2013). La mayoría de estas nuevas moléculas de fármacos tienen la característica de ser lipófilas, y tienen una baja solubilidad en agua, lo que da lugar a una baja biodisponibilidad. La solubilidad limitada en agua representa un reto para desarrollar una forma de dosificación sólida oral óptima en términos de diseño de formulación, biodisponibilidad y comercialización de nuevos productos farmacéuticos (Qureshi et al., 2015). Una baja solubilidad acuosa puede terminar en una absorción incompleta de fármacos administrados oralmente trayendo consigo un efecto terapéutico nulo o disminuido (Venkata *et al.*, 2013).

Los sistemas de administración de fármacos autoemulsionables (SEDDS), han sido utilizados como una estrategia para mejorar la solubilidad de fármacos. Estas formulaciones son emulsiones, y son una mezcla de aceites, surfactantes y cosurfactantes que en proporción adecuada tienen la capacidad de formar rápidamente una emulsión (SEDDS), microemulsión (SMEDDS) o nanoemulsión (SNEDDS) aceite en agua (o/w) (Atef, 2008).

En el presente trabajo se realizó el desarrollo de una formulación basada en lípidos tipo SEDDS para mejorar la solubilidad, velocidad de disolución y permeación de un fármaco clase II del SCB como lo es el Prazicuantel. Se utilizó la metodología de construcción de diagramas de fases ternarios para definir las diferentes zonas en el diagrama donde ocurre el proceso de autoemulsificación. La caracterización de los sistemas se llevó a cabo mediante la examinación visual, estabilidad física, eficiencia y tiempo de autoemulsificación, tamaño de partícula, potencial zeta, estudios de perfiles de disolución y permeación de las formulaciones obtenidas en comparación con el medicamento de referencia Cisticid®.

2. ANTECEDENTES

Un enfoque relativamente nuevo para los fármacos poco solubles son las formulaciones basadas en lípidos, particularmente los sistemas de liberación de fármacos autoemulsionables (SEDDS). Esta tecnología se ha empleado para aumentar la solubilidad y como consecuencia, la biodisponibilidad de muchos fármacos poco solubles en agua como la filantina, celastrol, ketoprofeno, indometacina e hidrocortisona (Czajkowska-Kośnik *et al.*, 2015).

La administración por vía oral de los SEDDS, es seguida por un proceso de liberación que ocurre por medio de una dilución en los fluidos del TGI, donde el sistema interactúa con las enzimas y materiales endógenos como las sales biliares y la lipasa pancreática (Fatouros *et al.*, 2007), estos sistemas tienen un enfoque altamente prometedor para mejorar la biodisponibilidad de compuestos poco solubles en agua, ya que presentan al fármaco en el TGI en un estado solubilizado. (Gumaste, 2013).

Dentro de las estrategias que se han utilizado para mejorar la solubilidad de Prazicuantel se encuentran:

- **COMPLEJACIÓN CON CICLODEXTRINAS**

La solubilidad acuosa de PC se mejoró formando complejos de inclusión con ciclodextrinas α , β y γ . La disolución de PC de los complejos α -, β - y γ -CD fue 2.6, 5 y 8 veces mayor, respectivamente, comparados con el fármaco puro (Becket, 1999).

- **LIPOSOMAS**

Ratones administrados con una dosis de 50 mg/kg evidenciaron la presencia de PC hasta un tiempo de 10 días en hígado por la baja velocidad de liberación del principio activo contenido en los liposomas (Akbarieh, 1992).

- **NANOPARTÍCULAS DE PLGA**

Los resultados de perfiles de liberación muestran que hubo un aumento en el tiempo de inicio de la liberación del fármaco de las nanopartículas en relación con el fármaco no encapsulado, sólo el 6 y el 20% de PC se liberaron de las nanopartículas después de 24 h de lotes que contenían, respectivamente, el 10 y el 30% del fármaco (Mainardes, 2015).

- **NANOPARTÍCULAS LIPÍDICAS SOLIDAS**

La liberación in vitro de las nanopartículas de aceite de ricino cargado con PC exhibió una liberación de ráfaga inicial seguida de una liberación sostenida. El sistema aumentó la biodisponibilidad de PC en un valor de 2.6 a 16.1 veces. (Xie, 2010)

- **GRANULACIÓN HÚMEDA**

La formulación estudiada empleó lactosa, sorbitol y poloxámero 188 como excipientes para obtener gránulos cargados con 20% p/p de PC. En particular, PC formó una dispersión gruesa en la que las partículas aún flotaban después de 30 minutos, mientras que los gránulos formaron una suspensión opalescente muy fina. El estudio de perfil de disolución mostró que las formulaciones preparadas por granulación alcanzaron un 12% de PC disuelto a los 5 minutos y manteniéndose mostrando una meseta, mientras que el fármaco puro sólo alcanzó el 3% al mismo tiempo. (Passerini *et al.*, 2006)

El objetivo de formular un sistema SEDDS cargado con Prazicuantel se basa en la necesidad de incrementar su solubilidad acuosa para mejorar su velocidad de disolución, absorción y por tanto su biodisponibilidad oral.

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. 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 (Dios, 2013).

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, de esta manera la solubilidad es un fenómeno termodinámico y la disolución involucra procesos cinéticos. 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

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

Ecuación 1. Ecuación de Noyes-Whitney.

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

Dado que la difusión es a menudo la limitante para la 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 partícula y se describe por la ecuación de Stokes-Einstein

$$D = \frac{k T}{6 \pi \eta r}$$

Ecuación 2. Ecuación de Stokes-Einstein

Donde:

D es el coeficiente de difusión del soluto en solución

k es la constante de Boltzmann

T es la temperatura absoluta

η es la viscosidad del disolvente

r es el radio de la partícula

3.1.1 MECANISMOS DE SOLUBILIZACIÓN DE UN FÁRMACO

En general, se considera que la solubilidad depende de tres etapas:

- 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 (Figura 1).

Desde el punto de vista termodinámico, para moléculas hidrosolubles puede explicarse de la siguiente manera:

Tanto el desprendimiento de una molécula 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 se tendrá 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 se puede decir que las primeras dos etapas son procesos entrópicamente favorables. En la tercera etapa 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 reacomodo que sufre sigue siendo más desordenado que el estado inicial, por lo que la entropía sigue siendo mayor o ligeramente menor que 0. (Williams, 2013).

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

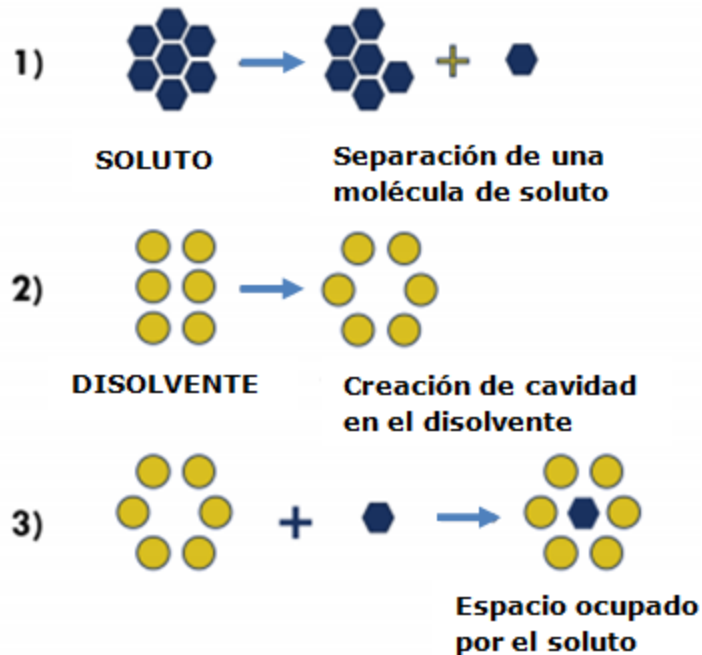


Figura 1. Mecanismo de solubilización de un fármaco (modificado de Williams et al. 2013).

En fármacos poco solubles, se tienen 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 Figura 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. Las moléculas que se comportan como bolas de grasa tienen como limitante para su disolución el tercer paso de la figura 1, esto quiere decir que, aunque el fármaco es capaz de liberar una molécula 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 se tiene la adición de cosolventes, surfactantes y las formulaciones lipídicas (Williams et al. 2013).

3.1.2 SISTEMA DE CLASIFICACIÓN BIOFARMACÉUTICA

En 1995, Amidon y colaboradores introdujeron el Sistema de Clasificación Biofarmacéutica (SCB) (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 SCB, los fármacos se clasifican en 4 clases mostradas en la Figura 2, donde los fármacos de clase I son los que tienen una alta solubilidad y alta permeabilidad; fármacos de clase II son los que tienen baja solubilidad y alta permeabilidad (donde la solubilidad es la limitación principal para la absorción); fármacos 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 fármacos 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 (Wolk *et al.* 2014).

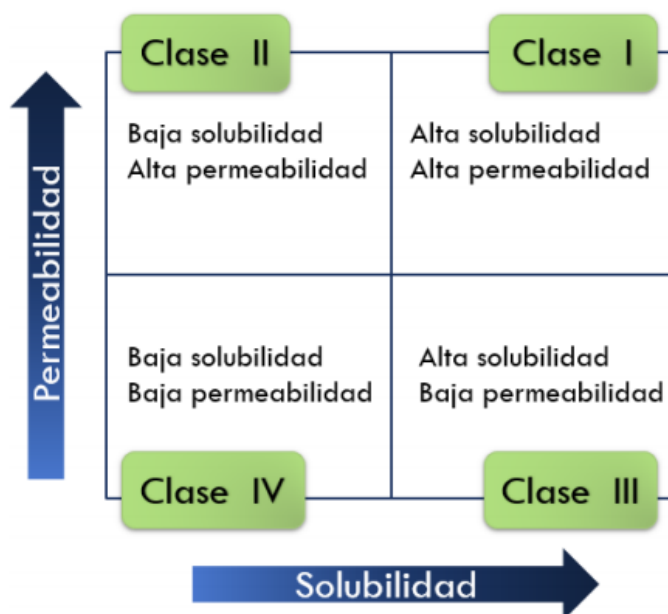


Figura 2. Representación típica del Sistema de Clasificación Biofarmacéutica (modificado de Pouton, 2006).

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 *et al.*, 2013).

3.2 ESTRATEGIAS PARA MEJORAR LA SOLUBILIDAD DE FÁRMACOS

Aproximadamente el 41% de las fármacos descubiertos o sintetizados recientemente presentan un problema en el proceso de desarrollo debido a su baja solubilidad acuosa (Raman *et al.*, 2013), lo cual repercute en su baja biodisponibilidad después de la administración oral, esta vía es la principal utilizada en la administración de fármacos, (Nekkanti *et al.*, 2010) lo que compromete potencialmente el uso terapéutico de estas moléculas. Existen diferentes rutas tecnológicas para mejorar la solubilidad de fármacos como se puede ver en la figura 3, donde se representan diferentes estrategias para mejorar la solubilidad y aumentar la velocidad de disolución de los fármacos (Czajkowska-Kośnik *et al.*, 2015).



Figura 3. Estrategias usadas para solubilizar fármacos poco solubles (Modificada de Williams *et al.*, 2013).

La evolución de la nanotecnología ha proporcionado herramientas útiles para desarrollar mejores sistemas de liberación de fármacos para satisfacer las necesidades actuales, además es un área de gran importancia para desarrollar sistemas con un control preciso sobre sus características (Mohan et al., 2014). Debido a que un gran porcentaje de los fármacos poseen baja solubilidad, se utilizan diferentes estrategias, entre ellas las Formulaciones Basadas en Lípidos (FBL) para incrementar su solubilidad, disolución y biodisponibilidad; las propiedades y procesos de elaboración de las FBL son muy eficientes, por lo que el campo de investigación y aplicación se ha incrementado en las últimas décadas (Feeney et al., 2016).

3.3 FORMULACIONES BASADAS EN LÍPIDOS

Para fármacos poco solubles y altamente permeables (Clase II del SCB), 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 (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 FBL son un grupo diverso de formulaciones, que resultan de la mezcla de hasta cinco clases de excipientes como triglicéridos puros, aceites, glicéridos mixtos, tensoactivos lipófilos, tensoactivos hidrofílicos y codisolventes solubles en agua (Agarwal, 2009), éstas pueden mejorar significativamente la biodisponibilidad oral de moléculas de fármacos poco solubles en agua. Más específicamente, el aumento en la velocidad de disolución resulta de la administración del fármaco en un estado pre disuelto (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 anfifílicos biliares endógenos como sales biliares y fosfolípidos (Porter, 2004).

3.3.1 CLASIFICACIÓN DE SISTEMAS LIPÍDICOS

Las FBL comprenden una amplia variedad de sistemas que van desde las disoluciones oleosas muy lipófilas hasta las disoluciones micelares acuosas. Con el fin de facilitar el desarrollo de dichas formulaciones, Pouton propuso un sistema de clasificación de formulaciones lipídicas (LFCS). Se pueden diseñar cuatro tipos diferentes: Las formulaciones tipo I están compuestas de aceites y, por lo tanto, no pueden dispersarse en contacto con el agua, necesitan ser digeridas por lipasas dentro del TGI para ser eficaces. Este tipo es adecuado para los fármacos altamente lipofílicos o liposolubles, es decir, con un coeficiente de partición ($\log P$) grande. En general, estos sistemas exhiben una dispersión acuosa inicial deficiente y requieren digestión por la lipasa o colipasa pancreática en el TGI para generar más productos de digestión (lípidos anfifílicos) y promover la transferencia del fármaco a la fase acuosa coloidal (Rahman et al., 2013). Las formulaciones de tipo II están compuestas de tensoactivos insolubles en agua que conducen a emulsiones gruesas, con tamaños de partícula de 2 μm a 1mm en contacto con medios acuosos (Williams et al., 2013). Estas formulaciones tienen la ventaja de superar la etapa de disolución que es lenta en las formas de dosificación sólidas y generan grandes áreas interfaciales que a su vez permiten un reparto eficiente del fármaco entre las gotas de aceite y la fase acuosa en el lugar donde ocurre la absorción. La rápida liberación y solubilización del fármaco en el TGI son las responsables de la mejora en la biodisponibilidad del fármaco (Rahman et al., 2013). Las formulaciones tipo III están compuestas de tensoactivos solubles en agua que permiten la formación de las emulsiones y microemulsiones finamente dispersas, estas formulaciones contienen glicéridos de cadena larga o media, tensoactivos con balance hidrófilo lipófilo alto (HLB) y cosurfactantes (Williams et al., 2012). Las formulaciones de Tipo III A y III B consisten en aceites mezclados

con uno o varios tensoactivos hidrófilos, es decir de HLB alto y pueden o no contener un cosurfactante. La distinción entre las formulaciones IIIA y IIIB se basa en la cantidad de componentes lipídicos en donde el tipo IIIA contiene mayores proporciones de lípidos (40-80 % w/w) respecto a las IIIB (<20% w/w), está reportado que la autoemulsificación se produce cuando la concentración de tensoactivo supera el 25% m/m, y la concentración óptima es a menudo del 30 - 40%, mientras que las de tipo IIIB contiene cantidades no mayores del 20% de lípido y concentraciones mayores de codisolvente y tensoactivo, los cuales forman sistemas con tamaños de partícula menores a los 100 nm. Las formulaciones tipo IIIB generalmente alcanzan mayores velocidades de dispersión cuando se comparan con el tipo IIIA, aunque el riesgo de precipitación del fármaco en la dispersión de la formulación es mayor dado el menor contenido de lípidos (Rahman et al., 2013). Las formulaciones de tipo II y III son SEDDS y SMEDDS, respectivamente. Estos tipos de formulación están compuestos de aceites y tensoactivos que son capaces de formar emulsiones o microemulsiones cuando están en contacto con el agua. La diferencia se debe principalmente a la elección del tensoactivo. Las formulaciones tipo IV están compuestas solo de componentes hidrófilos como, tensoactivos solubles en agua y cosolventes hidrofílicos. Las formulaciones tipo IV forman dispersiones micelares tras la dilución (Jannin et al., 2015) y con tamaños de partículas de 20 nm o inferiores (Feeney et al., 2016). El aumento de las cantidades de tensoactivo y cosurfactante en las formulaciones Tipo IIIB y Tipo IV generalmente aumenta la carga de fármaco, la mayoría de los fármacos poco solubles en agua son más solubles en los tensoactivos y cosurfactante que en los lípidos de glicéridos. La desventaja de las formulaciones más hidrófilas de Tipo IIIB y Tipo IV es que la inclusión de mayores cantidades de componentes miscibles en agua aumenta el riesgo de precipitación del fármaco en la dispersión de la formulación en los fluidos del TGI (Feeney et al., 2016). Las combinaciones de cosurfactantes y tensoactivos se utilizan en un intento de reducir el grado de precipitación en comparación con las disoluciones de cosurfactantes y tensoactivos puros, por lo tanto, se recomienda una evaluación

del comportamiento en condiciones de dispersión y digestión simuladas (Williams et al., 2012).

3.4 EXCIPIENTES LIPÍDICOS

Las formulaciones basadas en lípidos más simples contienen sólo un excipiente como el ácido oleico, tocoferol, aceite de maíz, aceite de cacahuate, mono, di y triglicéridos de cadena media. Hay al menos 10 formulaciones orales de excipientes de un solo lípido disponibles en el mercado, y todas se comercializan en cápsulas blandas. Muchas de las cápsulas de gelatina blanda de venta libre usan polietilenglicol o triglicéridos de cadena media como excipiente solubilizante. El siguiente nivel de complejidad en las formulaciones basadas en lípidos son aquellas que contienen dos excipientes. Algunas combinaciones típicas son aceite de ajonjolí con tocoferol, triglicéridos de cadena media con etanol y ésteres de propilenglicol de ácidos grasos con mono-oleato de glicerilo (Haus, 2007).

3.4.1 VEHÍCULOS OLEOSOS

Tanto los triglicéridos de cadena larga, ésteres de glicéridos de ácidos grasos no saturados mixtos, triglicéridos de cadena media y productos genéricos de aceite de coco son aceites comunes para la elaboración de SEDDS. Los aceites naturales comestibles que comprenden triglicéridos de cadena media no son elegidos con frecuencia debido a su escasa capacidad para disolver grandes cantidades de fármacos lipófilos. La hidrólisis parcial de los triglicéridos se utiliza para producir excipientes semisintéticos con varias proporciones de mono, di y triglicéridos. Estos derivados muestran una mejorada capacidad de solubilización. (Dionysios et al, 2013). Los triglicéridos de cadena media contienen ácidos grasos saturados con una longitud de 6 a 12 carbonos, como son el ácido caproico, el ácido caprílico, ácido cáprico, y ácido laúrico, son hidrolizados por las lipasas gástrica, lingual e intestinal y rápidamente absorbidos. La masa molar es lo suficientemente pequeña para que sean hidrosolubles por lo que se requieren menos sales biliares para su digestión, no se re esterifican en el enterocito, y son transportados por la vena porta. Pueden ingresar en las células de la mucosa

intestinal en forma de diglicéridos y monoglicéridos, los cuales son hidrolizados por la lipasa de la mucosa a ácidos grasos de cadena media (AGCM) y glicerol, los AGCM libres son unidos a albúmina y transportados vía porta al hígado (Sáyago-Ayerdi et al, 2008).

La principal función de este tipo de excipientes consiste en actuar como vehículos solubilizadores para los fármacos poco solubles en agua, mientras que los ésteres de ácidos grasos encuentran su aplicación no solo como solubilizantes sino también como surfactantes y emulsionantes (Haus, 2007). Los excipientes de esta clase son compatibles con cápsulas de gelatina blanda o dura (Haus, 2007).

3.4.2 SURFACTANTES

La presencia de estos compuestos en la formulación permite la formación de nanoemulsiones que pueden mantener al fármaco en solución durante un periodo prolongado en el sitio de absorción para que este proceso sea efectivo evitando la precipitación del compuesto dentro del lumen gastrointestinal (Dionysios et al., 2013). Las características que rigen la selección del surfactante son su equilibrio hidrofílico-lipofílico (HLB) y su seguridad.

Para lograr un alto rendimiento emulsionante, el surfactante empleado debe tener un alto HLB y una alta hidrofiliidad para la formación inmediata de glóbulos y la rápida propagación de la formulación en medios acuosos.

3.4.3 Co-SURFACTANTES

La formulación de un SEDDS efectivo requiere altas concentraciones de surfactante por lo que se requieren co-surfactantes como etanol, propilenglicol y polietilenglicol para permitir la disolución de grandes cantidades de surfactante hidrofílico. Sin embargo, los alcoholes u otros disolventes volátiles tienen la desventaja de evaporarse en la cubierta de las cápsulas de gelatina dura o blanda, lo que lleva a la precipitación del fármaco (Dionysios et al., 2013).

3.5 SEDDS-SISTEMAS DE ADMINISTRACIÓN DE FÁRMACOS AUTOEMULSIFICABLES

Un enfoque relativamente nuevo que se ha presentado en los últimos años, para los fármacos poco solubles son las FBL, particularmente los SEDDS (Mutyam et al., 2014), los sistemas de liberación de fármacos autonanoemulsionables SNEDDS y los SMEDDS como nuevos nanovehículos (Massik et al., 2003), los cuales pueden incrementar la solubilidad, estabilidad termodinámica, disolución *in vitro*, mejorar la absorción y por lo tanto la biodisponibilidad oral de los fármacos lipofílicos y poco solubles en agua (Czajkowska-Kośnik et al., 2015; Nekkanti et al., 2010). Los SEDDS son eficaces siempre que estén diseñados con una selección cuidadosa de los excipientes, basándose en su relación con las propiedades del fármaco (Jannin et al., 2015), que generalmente es la necesidad de disolver la dosis requerida en una forma de dosificación unitaria, así como para promover una dispersión rápida y la autoemulsificación de la formulación en el paso a través del TGI y la capacidad para mantener una solubilización efectiva del fármaco durante la dispersión y la digestión de la formulación (Williams et al., 2012), así como para contar con un área interfacial grande para la absorción del fármaco (Devalapally et al., 2013; Kang et al., 2012).

3.5.1 CARACTERÍSTICAS

Los SEDDS son sistemas transparentes, isotrópicos, compuestos de fármaco, aceite o fase oleosa, y pueden ser de origen natural o sintético; de hecho la combinación de las características de los ácidos grasos naturales con las de muchos lípidos sintéticos, podría mejorar el funcionamiento de las matrices lipídicas diseñadas a la medida, con objeto de controlar sus propiedades de liberación (Garzón et al., 2009); el tensoactivo y el cosurfactante son incorporados en las cantidades adecuadas (Shakeel et al., 2013; Kumar et al., 2012), y en ausencia de agua representan un vehículo eficiente para la administración oral de las emulsiones, así mismo, también existen los SMEDDS, que no son microemulsiones como tal, pero sí se pueden considerar sistemas muy próximos a éstas, ya que incluyen generalmente una mezcla de fármaco, aceite y tensoactivo que cuando se administra por vía oral se dispersa rápidamente en glóbulos de

aproximadamente 20 a 200 nm (Kumar et al., 2012), similares a aquellas observadas en las microemulsiones (Martínez, 2016), y una vez dispersado, se espera que tenga un comportamiento in vivo semejante al de las microemulsiones aceite en agua (O/W) (Czajkowska-Kośnik et al., 2015). Tras una dilución en un medio acuoso o fluidos gastrointestinales (Shakeel et al., 2013) seguidas de una agitación suave proporcionada por la motilidad digestiva del estómago y del intestino (Mutyam et al., 2014),

Estos sistemas se someten a procesos de digestión por enzimas en presencia de materiales endógenos como las sales biliares y lipasa pancreática que da como resultado la formación de las diferentes estructuras coloidales como las vesículas lipídicas y las micelas mixtas. Esta modificación estructural juega un papel muy importante en la solubilización al evitar la precipitación del fármaco, proporcionando así un entorno satisfactorio para la mejora de la biodisponibilidad (Raman et al., 2013). Además, la matriz lipídica puede aumentar el transporte por la vía linfática, mientras que los tensoactivos pueden aumentar la permeabilidad transcelular del epitelio intestinal (Mutyam et al., 2014), y así alterar la organización estructural de la bicapa lipídica, aumentando así la biodisponibilidad (Kumar et al., 2012). Actualmente la contribución de las FBL orales en el mercado farmacéutico mundial es del 2 a 4%. Ejemplos de algunas formulaciones de SMEDDS comercializadas incluyen a la ciclosporina, ritonavir, saquinavir (Kumar et al., 2012), y de SEDDS a la filantina, celastrol, ketoprofeno, indometacina e hidrocortisona (CzajkowskaKośnik et al., 2015).

3.5.2 PROCESO DE EMULSIFICACIÓN

La autoemulsificación es un proceso que como su nombre lo indica se puede presentar de manera espontánea, esto ocurre cuando el sistema entra en contacto con un medio en el cual no se encuentra en equilibrio, favorecido por gradientes de potencial químico entre las fases, lo que conduce a valores negativos de energía libre sin la necesidad de aporte energético externo. Por el contrario, si los líquidos inmiscibles están en equilibrio termodinámico, la energía para expandir la interfaz no puede ser compensada por el propio sistema, y necesitará un factor

externo como la agitación, para lograr la emulsificación como se representa en la figura 4 (Solans et al., 2016).

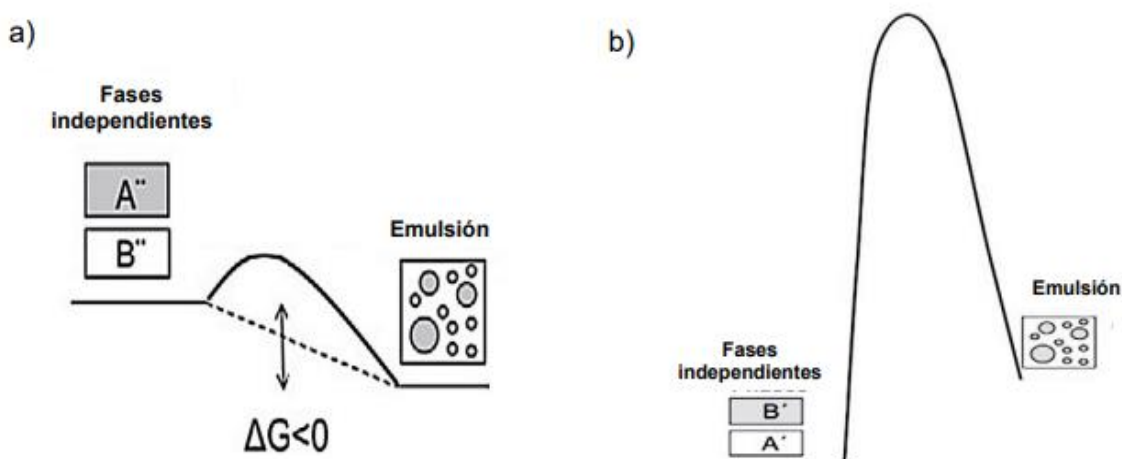


Figura 4. Esquema de los procesos de emulsificación impulsado por el aporte de energía al sistema, (a) poca o nula, (b) factor externo (Tomado de Solans et al., 2016).

3.5.3 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 el proceso de solubilización en el TGI durante la digestión de los lípidos, así como su absorción y biodisponibilidad. La figura 5 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).

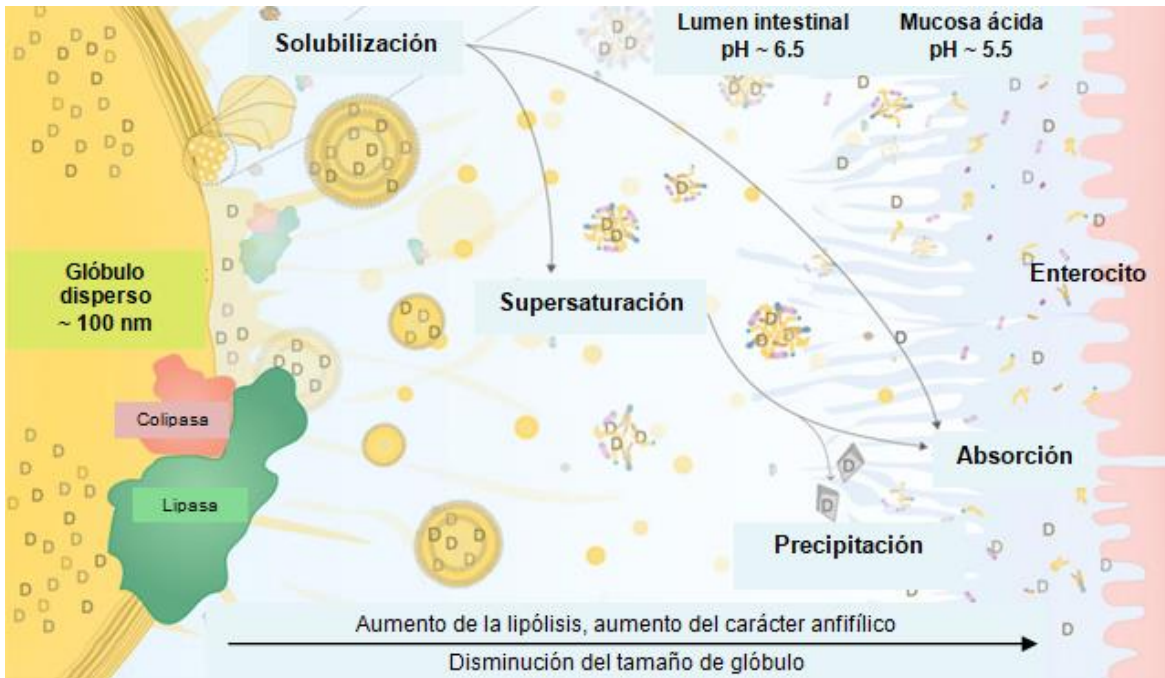


Figura 5. Proceso de dilución de los SEDDS seguido de la formación de diferentes estructuras micelares en el lumen intestinal, para su posterior absorción en los enterocitos (las letras “D” representan moléculas de fármaco) (Tomado de Feeney et al., 2016).

3.6 CARACTERIZACIÓN DE SEDDS

3.6.1 EFICIENCIA DE AUTOEMULSIFICACIÓN

La determinación de la eficiencia de la autoemulsificación o tiempo de la autoemulsificación es un método importante para evaluar las propiedades de las formulaciones diseñadas, cuando se someten a una dilución en medio acuoso y con agitación suave, los SEDDS deben dispersarse completa y rápidamente. Los tensoactivos presentes en el SEDDS reducen la tensión interfacial entre el aceite y las fases acuosas, y facilitan la dispersión y la formación de emulsión de aceite en agua (Czajkowska-Kośnik et al., 2015).

3.6.2 TAMAÑO DE PARTÍCULA E ÍNDICE DE POLIDISPERSIDAD

El tamaño de la partícula de la emulsión determina la absorción y la subsiguiente biodisponibilidad del fármaco; las partículas más pequeñas proporcionan un área superficial más grande, lo que lleva a una liberación más rápida del fármaco en el medio acuoso. El efecto del tamaño de glóbulo de la emulsión en la permeación de la mucosa intestinal ha sido investigado por Gershanik y colaboradores, y encontraron que el tamaño de glóbulo óptimo estaba en el intervalo de 100 - 500 nm (CzajkowskaKośnik et al., 2015). La distribución del tamaño de glóbulo de los SEDDS puede ser determinado por microscopía electrónica o dispersión de 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, 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.

El índice de polidispersión se usa como una medida de una distribución de tamaño que es unimodal, este valor se considera aceptable cuando no rebasa el 0.3 y a su vez infiere en la formación de una dispersión homogénea (Raman et al., 2013). El PDI para DLS típicamente representa la intensidad de la luz dispersada por varias fracciones de las partículas que difieren en sus tamaños y se calcula como se muestra en la ecuación 3 (Bhattacharjee, S., 2016).

$$PDI = \left(\frac{\text{Ancho del pico en } nm}{\text{Media de tamaño en } nm} \right)^2$$

Ecuación 3. Cálculo de PDI para cada pico.

3.6.3 POTENCIAL ZETA

Es una medida de la magnitud de la repulsión o atracción electrostática (o de carga) entre los glóbulos de una emulsión, cuando dos glóbulos hidrofóbicos no cargados están muy cerca, se atraen entre sí por las valencias secundarias de Van der Waals, principalmente las fuerzas de dispersión de London.

La coagulación ocurre cuando los glóbulos 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).

3.6.4 ESTABILIDAD FÍSICA

La estabilidad física de una formulación de tipo SEDDS también es decisivo para su rendimiento, que puede verse afectado de forma negativa por la precipitación del fármaco en la formulación. Además, se podría presentar la separación de las fases entre los excipientes, afectando no solo el rendimiento de la formulación, sino también la apariencia visual, por otra parte, podrían existir fenómenos de inversión de fases e incompatibilidades entre la formulación y la cápsula de gelatina lo que puede resultar en fragilidad, deformación, retraso en la desintegración o liberación incompleta del medicamento (Patel et al., 2012).

3.6.5 PRUEBAS DE DISOLUCIÓN Y ABSORCIÓN

El intestino delgado constituye el lugar fundamental para la absorción de fármacos. Desde un punto de vista farmacológico, el intestino puede considerarse como un órgano diana, ya que se encuentra expuesto directamente a la acción de las sustancias ingeridas.

La disolución *in vitro* es reconocida como un elemento importante en el estudio y desarrollo de un fármaco y su forma farmacéutica, ya que bajo ciertas condiciones puede ser usado como sustituto para la evaluación de la bioequivalencia.

La absorción de fármacos poco solubles en agua puede estar limitada por la velocidad de disolución, con base en los principios termodinámicos que rigen el proceso de solubilización del fármaco, la solubilidad se ve favorecida por la reducción de las fuerzas intermoleculares en el estado sólido y las interacciones de soluto-disolvente en la disolución (Porter et al., 2007).

3.7 PRAZICUANTEL

Es un derivado pirazinoisoquinolínico desarrollado después de descubrir en 1972 que esta clase de compuestos tenía actividad antihelmíntica. El isómero (-) es el que genera gran parte de la actividad antihelmíntica del fármaco. El fármaco presenta actividad útil contra casi todos los céstodos y tremátodos que infestan a los seres humanos, en tanto que en general no afecta a los nemátodos (Andrews, 1985; Symposium, 1981).

El prazicuantel, después de ser captado en forma rápida y reversible, ejerce dos efectos importantes en los esquistosomas adultos. En las concentraciones mínimas eficaces ocasiona el incremento de la actividad muscular, seguido de contracción y parálisis espástica. Los vermes afectados se desprenden de las paredes de los vasos y migran desde las venas mesentéricas al hígado. En concentraciones un poco mayores, el fármaco daña el tegumento del parásito y deja al descubierto algunos antígenos de esa capa (Redman et al., 1996). La eficacia clínica del fármaco guarda una mayor relación con su acción en el

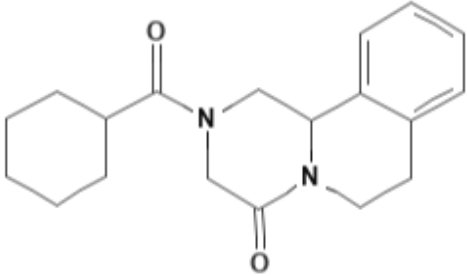
tegumento (Xiao et al., 1985). El fármaco no es eficaz contra los esquistosomas juveniles y, por consiguiente, no lo es en la infestación incipiente. Se piensa que es necesaria una respuesta inmunitaria intacta para que brinde eficacia el fármaco en los seres humanos. Después de la administración oral, el Prazicuantel se absorbe con rapidez y alcanza sus concentraciones máximas en el plasma humano en 1 a 2 h. La farmacocinética del medicamento guarda relación con la dosis. El extenso metabolismo de primer paso hepático, hasta la generación de muchos productos hidroxilados y conjugados inactivos limita la biodisponibilidad del compuesto y hace que las concentraciones plasmáticas de los metabolitos sean, como mínimo, 100 veces mayores que las del Prazicuantel. El fármaco está unido en cerca del 80% a las proteínas plasmáticas. Su semivida plasmática es de 0.8 a 3 h, según la dosis, en comparación con 4 a 6 h, que corresponden a sus metabolitos; tal lapso puede prolongarse en individuos con hepatopatía grave, incluidos los que tienen esquistosomosis hepatoesplénica. Cerca del 70% de la dosis de Prazicuantel oral se recupera como metabolitos en la orina en término de 24 h, y gran parte del resto es metabolizada en el hígado y eliminada por la bilis.

El Prazicuantel es el fármaco más indicado para tratar la esquistosomosis causada por todas las especies de *Schistosoma* que afectan a los seres humanos y la neurocisticercosis. La cisticercosis se produce cuando el hombre se convierte en el huésped intermediario de la *Taenia solium* al ingerir sus huevecillos. Es la infección por helmintos más frecuente del sistema nervioso. La neurocisticercosis es una enfermedad pleomórfica debida a variaciones individuales en el número y localización de las lesiones en el sistema nervioso, así como a diferencias en la respuesta inmunológica del huésped frente al parásito. Los fármacos cisticidas como el Prazicuantel han modificado el pronóstico de esta entidad; sin embargo, algunos enfermos evolucionan desfavorablemente a pesar del tratamiento (Del Brutto, 2005), la neurocisticercosis, que en la actualidad representa un serio problema de salud pública, no sólo en países en desarrollo de América latina, África y Asia, sino también en los Estados Unidos de América y algunas naciones Europeas. (Del Brutto, 2005). Los regímenes posológicos varían, pero con una sola dosis oral de 40 mg/kg o tres dosis de 20 mg/kg cada una con diferencia de 4

a 6 h se obtienen, en términos generales, índices de cura de 70 a 95% y siempre disminuciones importantes (más del 85%) del número de huevos.

3.7.1 PROPIEDADES FÍSICAS

Tabla 1. Propiedades fisicoquímicas del Prazicuantel

Fórmula química	$C_{19}H_{24}N_2O_2$
Estructura molecular	
Peso molecular	312.4 g/mol
Solubilidad en agua	400 mg/L
Punto de fusión	136 °C
Coeficiente de partición	2.5

4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Es conocido que la absorción de fármacos poco solubles está limitada por la velocidad de disolución y, por lo tanto, la formulación como el proceso de manufactura desempeña un papel importante en la liberación completa y oportuna del principio activo desde la forma farmacéutica que lo contiene.

Uno de los grandes retos de la industria farmacéutica es diseñar la vía de administración de principios activos que presentan características biofarmacéuticas que no permiten su absorción oral directa mediante formas farmacéuticas tradicionales. Así, fármacos como el Prazicuantel pueden presentar una pobre absorción y por ello una baja biodisponibilidad durante su tránsito en el TGI; por lo que el aumento de la solubilidad y la velocidad de disolución se vuelven parámetros críticos en el desarrollo de nuevas formulaciones para este

tipo de activos y vía de administración. Una alternativa tecnológica para resolver ambos inconvenientes y otorgar al producto un valor agregado mediante la reducción del número de dosis al día, es la administración de FBL, específicamente de SEDDS, los cuales tienen propiedades fisicoquímicas y tecnológicas que potencialmente tendrán un efecto en el incremento de la absorción y biodisponibilidad del Prazicuantel por vía oral.

5. HIPÓTESIS

Prazicuantel como fármaco clase II del SCB, presenta baja solubilidad acuosa dando lugar a una velocidad de disolución lenta y una deficiente absorción, por lo tanto su correcta formulación en un sistema lipídico autoemulsionable incrementará su solubilidad acuosa, velocidad de disolución y permeación.

6. OBJETIVO GENERAL

Desarrollar mediante un SEDDS, una formulación estable que permita incrementar la solubilidad de Prazicuantel, en un vehículo potencialmente útil para su administración oral.

6.1 OBJETIVOS PARTICULARES

- Determinar el incremento de solubilidad al equilibrio de Prazicuantel en diferentes vehículos respecto al agua a tres diferentes temperaturas de interés (25, 37 y 40°C).
- Establecer la(s) zona(s) de emulsificación espontánea mediante el uso de diagramas de fase ternarios utilizando los excipientes seleccionados considerando el mayor incremento de solubilidad de Prazicuantel.
- Caracterizar fisicoquímicamente las formulaciones preparadas que presentan un proceso de emulsificación espontánea, utilizando pruebas de caracterización como apariencia física, tiempo de emulsificación, determinación de tamaño de partícula y potencial zeta y capacidad de carga de API.

- Seleccionar las formulaciones con capacidad para ser sistemas de entrega de Prazicuantel por vía oral y evaluar su desempeño mediante perfiles de disolución y permeación.

7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 MATERIALES

7.1.1 PRINCIPIO ACTIVO, EXCIPIENTES Y SOLUCIONES DE TRABAJO

Principio activo: Prazicuantel materia prima. Lote: 20180201 Pureza 99.68%

Medicamento de referencia: Cisticid® Prazicuantel tabletas 600 mg, MERCK (Lote: M81735).

Vehículos orgánicos: Metanol, Etanol, Propanol y Butanol. Aceites: Capryol 90 (Monocaprilato de propilenglicol (tipo II)), Maisine CC (Monolinoleato de glicerilo) y Labrafac lipophile (Triglicérido caprílico / cáprico). Surfactantes: Labrasol (Glicéridos de Caprilocaproil polioxil-8), Tween 80, Tween 40 y Labrafil M 2125 CS (Glicéridos de linoleoil polioxil-6). Cosurfactantes: Transcutol HP (dietilenglicol monoetil éter), PEG 200 Y Propilenglicol.

Medio de disolución: HCl 0.1 N y Lauril sulfato de sodio.

Solución de lavado de tejido intestinal: NaCl (9 g), KCl (0.34 g), CaCl₂ 2H₂O (0.19 g), NaH₂PO₄ 2H₂O (0.72 g) y H₂O (c.b.p. 1L). Solución para conservación de tejido intestinal: NaCl (9 g), NaH₂PO₄ 2H₂O (1.36 g), Na₂HPO₄ (1.09 g), Benzoato de sodio (0.1 g) y H₂O (c.b.p. 1L). Solución de trabajo para perfiles de permeación: NaCl (9 g), NaH₂PO₄ 2H₂O (1.36 g), Na₂HPO₄ (1.09 g) y H₂O (c.b.p. 1L).

7.1.2 APARATOS Y EQUIPOS

Balanza analítica marca OHAUS, modelo ANALYTICAL Plus; agitador tipo vórtex marca Lab-line Instruments, modelo super mixer 1290; baño de agua con agitación marca Julabo modelo SW22; espectrofotómetro UV-Vis marca

Perkin Elmer, modelo lambda 2S; espectrofotómetro marca Shimadzu, modelo UV-1201; parrilla con agitación magnética marca Cole-Parmer, modelo StableTemp; refrigerador marca MABE, modelo RME1436V; analizador de tamaño de partícula Malvern Zetasizer, modelo Nano-series; disolutor marca VanKel, modelo VK7000; membranas PVDF 0.45 µm.

7.2 MÉTODOS

7.2.1 DESARROLLO DE FORMULACIÓN LIPÍDICA

7.2.1.1 CARACTERIZACIÓN DE PRAZICUANTEL

7.2.1.1.1 BARRIDO DE ABSORBANCIA Y CURVA PATRÓN

Se preparó por triplicado una disolución stock de 800 µg/mL de PC y se realizó un barrido de absorbancia de 200 a 400 nm. A partir de la disolución stock de PC se realizaron diluciones hasta una concentración de 4 µg/mL utilizando Metanol QP como disolvente, se prepararon tres curvas con 7 puntos cada una y se realizó la cuantificación en un espectrofotómetro UV-Vis utilizando una celda de cuarzo.

7.2.1.2 INTERFERENCIA DE EXCIPIENTES (UV-Vis)

Se prepararon diluciones de cada excipiente lipídico en metanol considerando la concentración más elevada en la que se presenta dentro de las mezclas ternarias (tabla 2), a estas preparaciones se les realizó un barrido de 200 – 400 nm.

7.2.1.3 SOLUBILIDAD AL EQUILIBRIO EN VEHÍCULOS PUROS

Se agregó un exceso de PC a un volumen de 3 mL de cada vehículo por triplicado, la mezcla resultante se agitó de manera vigorosa con un vórtex hasta alcanzar la dispersión completa del principio activo. Los tubos se colocaron en un baño a temperatura controlada de 25°C y agitación de 180 rpm durante un periodo de 48 h, el ensayo se replicó modificando la temperatura para obtener resultados a 25, 37 y 40 °C. Al término del tiempo establecido las mezclas fueron filtradas utilizando filtros PVDF 0.45 µm para obtener sistemas traslucidos, se realizaron las

diluciones necesarias con metanol QP y se cuantificó la cantidad de PC disuelta con la ayuda de la curva patrón descrita anteriormente.

7.2.1.4 CONSTRUCCIÓN DE DIAGRAMAS TERNARIOS

Seleccionando los vehículos oleosos en los que se aumentó de manera más considerable la solubilidad de PC en la prueba de solubilidad al equilibrio, se construyeron los diagramas de fase ternarios y se realizó un mapeo de 10 puntos distribuidos dentro de un área de trabajo caracterizada por tener concentraciones de aceite de 5-45%, surfactante de 50-90% y cosurfactante de 5-45%. Cada punto se preparó por triplicado para cada diagrama establecido (Tabla 2).

Tabla 2. Composición en % para cada punto dentro del área de trabajo seleccionada.

Diagrama	Composición (%)		
PUNTO	Aceite	Surfactante	Co-surfactante
1	5	50	45
2	5	70	25
3	5	90	5
4	15	55	30
5	15	65	20
6	15	75	10
7	25	50	25
8	25	60	15
9	25	70	5
10	45	50	5

7.2.1.5 MÁXIMA CAPACIDAD DE CARGA

Para cada mezcla preparada se agregó un exceso de PC, se mezclaron con un vórtex hasta obtener una mezcla completamente turbia, los sistemas obtenidos se resguardaron en un baño con agitación en condiciones de 25°C y 100 rpm durante un periodo de 48 h. Al término del tiempo establecido las mezclas fueron filtradas

utilizando filtros PVDF 0.45 μm para obtener sistemas traslucidos, se realizaron las diluciones necesarias con metanol QP y se cuantificó la cantidad de PC disuelta.

7.2.2 CARACTERIZACIÓN DE SEDDS

7.2.2.1 EMULSIFICACIÓN IN VITRO Y CLASIFICACIÓN POR APARIENCIA FÍSICA

Se tomó una alícuota de 1 mL de la mezcla lipídica cargada con PC y se agregó a un vaso de precipitados con 250 mL de agua desionizada y se mantuvo una agitación de 100 rpm para simular el movimiento peristáltico, se determinó el tiempo de emulsificación (tiempo de dispersión completa de la fase lipídica) y los sistemas fueron clasificados de acuerdo al grado de turbidez presentado, con una escala de 0-4, donde 0-Completamente traslucido, 1-Ligeramente turbio, 2-Turbidez media, 3-Completamente turbio y 4-Separación de fases o precipitación.

7.2.2.2 TAMAÑO DE PARTÍCULA Y POTENCIAL ZETA

Para los sistemas que presentaron una emulsificación espontánea *in vitro* satisfactoria se tomó una alícuota de 10 mL y se analizó utilizando el equipo Zetasizer modelo Nano-series con una celda capilar DTS1060. Las determinaciones se realizaron por triplicado.

7.2.2.3 CICLADO DE ESTABILIDAD FÍSICA

Todas las mezclas lipídicas preparadas fueron resguardadas en recipientes de vidrio individuales sellados con un tapón hermético de goma y un casquillo de aluminio perfectamente ajustado. Las mezclas fueron expuestas a cuatro ciclos de temperatura, alternando entre 4°C y 40°C, cada ciclo con una duración de 7 días.

Al término del periodo de ciclado de temperatura las mezclas lipídicas fueron caracterizadas nuevamente mediante la cuantificación de PC disuelto, eficiencia de emulsificación, tamaño de partícula y potencial zeta.

7.2.3 DESEMPEÑO DE SEDDS

7.2.3.1 PERFIL DE DISOLUCIÓN

La evaluación de los perfiles de disolución se llevó a cabo conforme a la metodología descrita en la FEUM 11a ed para tabletas de Praziquantel 600 mg. El medio de disolución se preparó utilizando HCl 0.1 N y Lauril sulfato de sodio. La referencia se preparó pesando una cantidad de SRef de praziquantel equivalente a 33 mg de praziquantel, en un matraz volumétrico de 50 mL, se agregó una alícuota de 5.0 mL de metanol, agitando hasta disolver y llevar al aforo con el medio de disolución. Para las formulaciones lipídicas evaluadas se agregó la cantidad de volumen equivalente a los 600 mg contenidos en las tabletas de referencia. Los tiempos de muestreo para determinar el porcentaje disuelto fueron a los 5, 10, 15, 25, 40 y 60 minutos. La cuantificación del PC se realizó mediante espectroscopia UV y la prueba se realizó por triplicado para cada formulación.

7.2.3.2 PERMEABILIDAD EN SISTEMA EX VIVO

Utilizando la primera porción de intestino delgado de lechón de 3 meses, se realizaron cortes de 7 cm eliminando todos los restos de timo con solución de lavado de tejido intestinal, las porciones intestinales fueron colocadas en refrigeración utilizando solución para conservación de tejido intestinal.

Se realizó un amarre en ambos extremos del tejido, se agregó al interior del saco intestinal 4 mL de solución de trabajo conteniendo la dosis de cada muestra con ayuda de una cánula. Se depositó el saco intestinal en un vaso enchaquetado con 150 mL de solución de trabajo a 37.0 ± 0.5 °C y agitación constante. Se realizaron 12 muestreos durante un periodo de 4 horas con reposición del medio (figura 16).

8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1 DESARROLLO DE FORMULACIÓN LIPÍDICA

8.1.1 CARACTERIZACIÓN DE PRAZICUANTEL

PC presenta dos picos de absorbancia máxima, uno a 237 nm y otro a 265 nm. Se decidió realizar un barrido de absorbancia máxima a todas las concentraciones de PC a las que se trabajaría en la curva patrón, y se estableció trabajar con la longitud de onda de 265 nm para realizar todas las cuantificaciones necesarias durante la realización del protocolo experimental, ya que el pico que aparece a 237 nm se ve influenciado por la concentración de PC como se muestra en la figura 6.

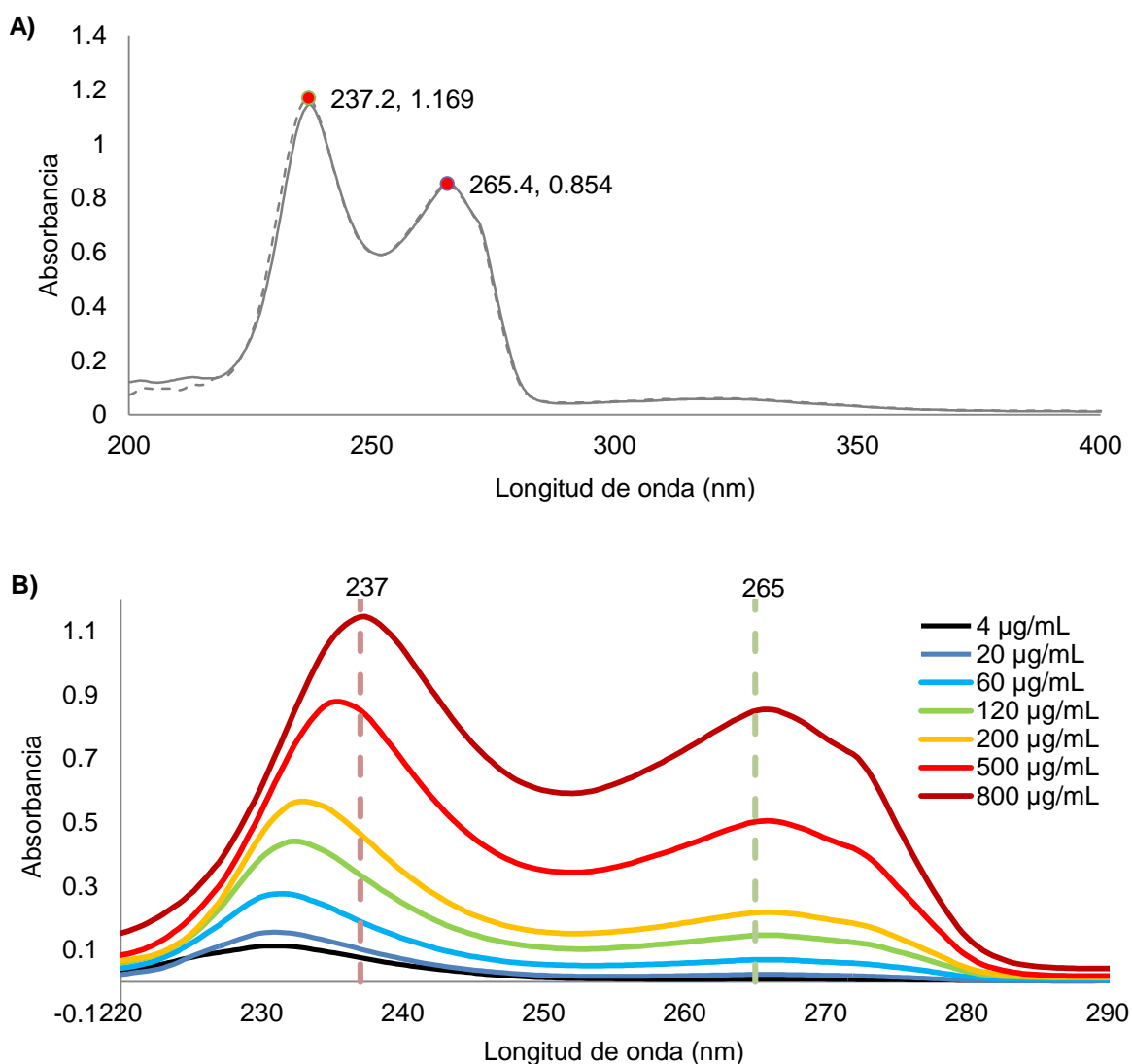


Figura 6. A) Barrido de absorbancia de PC y B) influencia de la concentración sobre el patrón de picos de absorbancia máxima.

Se realizó por triplicado la preparación de una curva patrón de PC. Para cada una de las concentraciones se obtuvo un %CV < 2% y un coeficiente de correlación (R^2) de 0.9983 para los datos representados de manera gráfica (figura 7).

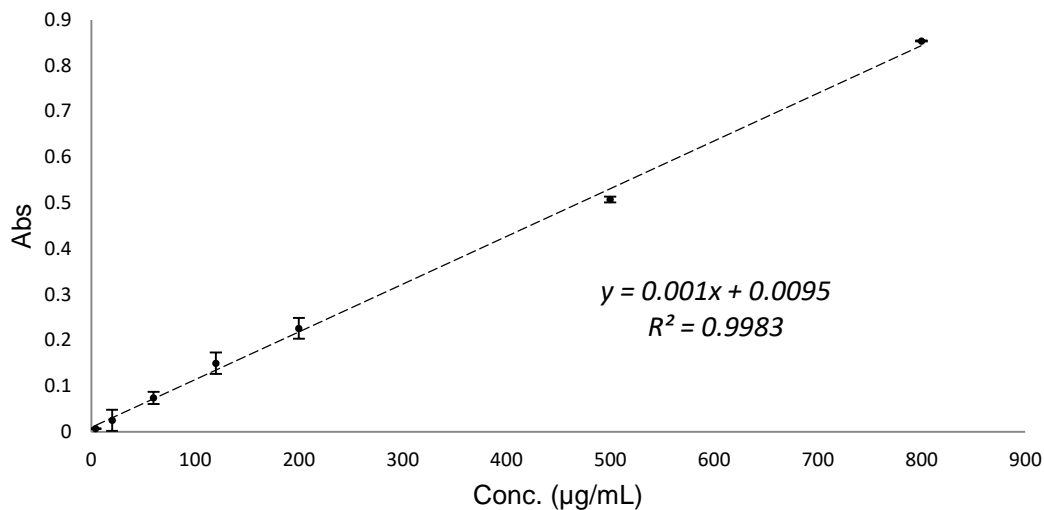
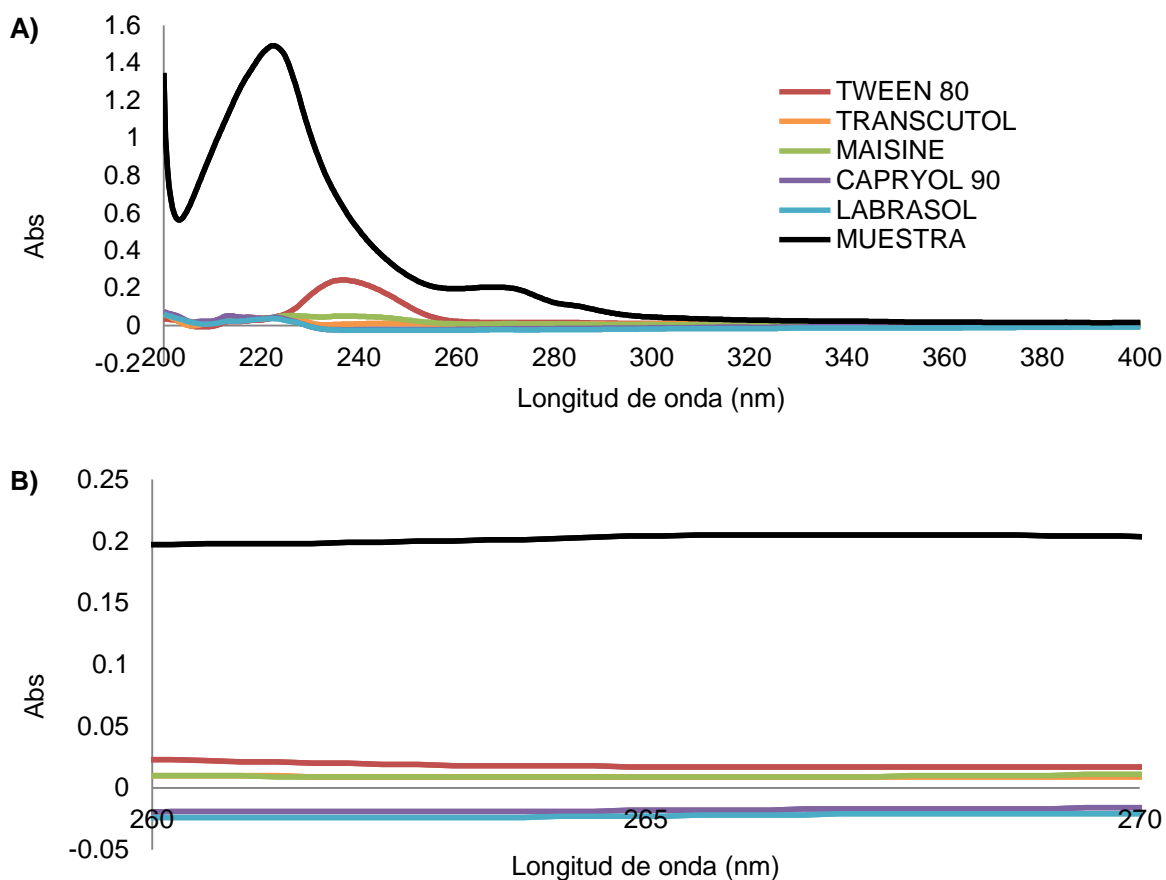


Figura 7. Curva patrón preparada como referencia para la cuantificación de PC.

8.1.2 INTERFERENCIA DE EXCIPIENTES (UV-Vis)

Realizando el barrido de absorbancia máxima para los excipientes lipídicos y comparándolo con el espectro de absorbancia de PC a una concentración de 24.1 mg/mL en una matriz lipídica, se puede observar en la figura 8 que a 265 nm los excipientes que presentan una posible interferencia son Tween 80, Maisine CC y Transcutol HP, la contribución en porcentaje de cada uno de estos respecto a la señal del PC es de 8.3, 2.4 y 3.4 % respectivamente considerando que se trata de la concentración más elevada de cada excipiente comparada con la más baja de PC.



*Figura 8. Interferencia de excipientes lipídicos comparada con el barrido de absorbancia para la muestra que presento la menor carga de PC. A) Barrido de absorbancia de 200-400 nm y B) interferencia a 265 nm. *Todas las muestras fueron preparadas con el mismo factor de dilución.*

8.1.3 SOLUBILIDAD AL EQUILIBRIO EN VEHÍCULOS PUROS

El propósito de evaluar la solubilidad al equilibrio de Prazicuantel es para identificar y seleccionar una fase oleosa, surfactante y cosurfactante que tengan una buena capacidad de solubilización de este principio activo a una temperatura de 25 °C, para poder desarrollar una formulación de tipo SEDDS. La identificación de la solubilidad del fármaco en aceites, surfactantes y cosurfactantes es importante para lograr una carga óptima del fármaco (Pouton, 2000).

Analizando el caso de los disolventes orgánicos, estos muestran un aumento de solubilidad conforme aumenta la longitud de la cadena hidrocarbonada de los alcoholes primarios (figura 9), para el caso del metanol, este presenta el mayor aumento de solubilidad de PC saliendo de la tendencia mostrada por los demás alcoholes, esto se puede explicar considerando su tamaño molecular y distribución espacial, lo cual le permite solvatar de manera más eficiente a moléculas de mayor tamaño.

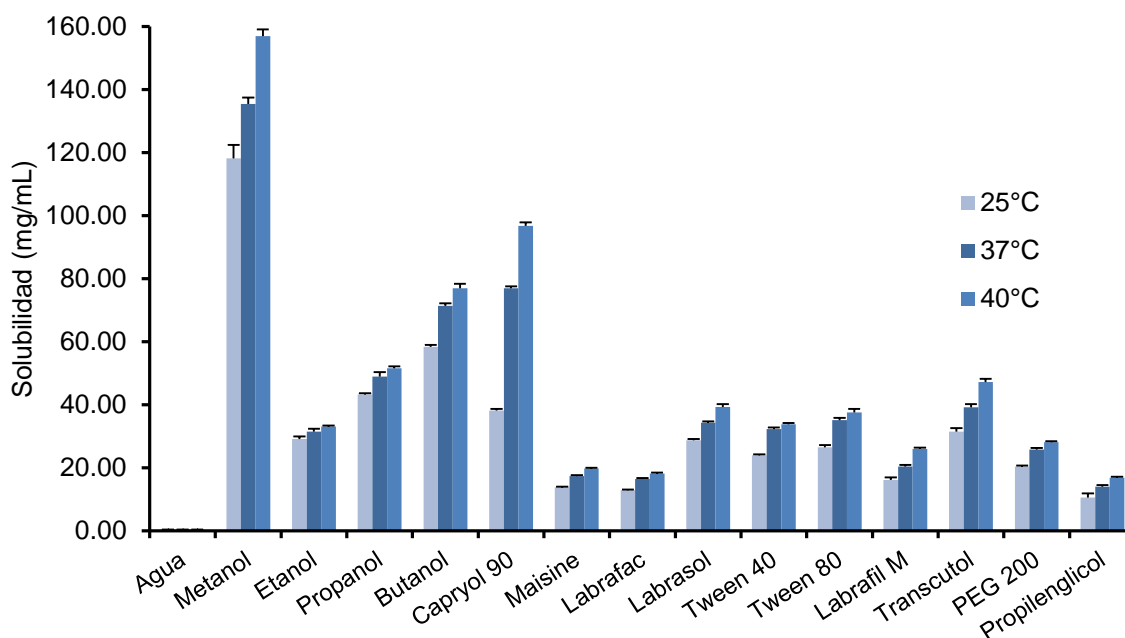


Figura 9. Incremento de solubilidad de PC respecto a su solubilidad acuosa a tres temperaturas (25, 37 y 40°C)

Respecto a los vehículos oleosos se observó un incremento considerable de la capacidad para solubilizar el PC en comparación con el agua (tabla 3), para los aceites empleados el que presentó un mayor aumento de solubilidad del PC fue Capryol 90, en el caso de los surfactantes tween 80 y Labrasol presentan el mayor aumento de solubilidad, al igual que Transcutol HP para el caso de los cosurfactantes. La selección de estos 4 vehículos oleosos permitirá realizar la construcción de diferentes diagramas de fase ternarios como parte de una estrategia de pre formulación de los sistemas tipo SEDDS que se desean obtener.

A continuación se muestran las características más importantes de cada uno de los vehículos seleccionados:

- **Capryol 90**

Fórmula Molecular: $C_{11}H_{22}O_3$ (Octanoato de propilenglicol)

Descripción: Un excipiente insoluble en agua no iónico utilizado como vehículo, solubilizante y cosurfactante en la formulación oral basada en lípidos SEDDS y SMEDDS. Solubilizante para API poco solubles y potenciador de la biodisponibilidad. Su composición consiste en ésteres de propilenglicol del ácido caprílico (C8), compuestos principalmente de monoésteres y una pequeña fracción de diésteres.

- **Labrasol**

Nombre USP NF: Glicéridos de Caprilocaproil polioxil-8

Descripción: Surfactante no iónico. Solubilizante y surfactante O / W para microemulsiones. Es capaz de autoemulsionar al ponerse en contacto con medios acuosos y formar una dispersión fina. Se sintetiza mediante una reacción de alcoholisis / esterificación usando triglicéridos de cadena mediana de aceite de coco y PEG 400 como materiales de partida. Se ha documentado que el Labrasol aumenta la solubilidad de fármacos poco solubles en agua y también se ha demostrado que facilita la absorción de éstos en el tracto gastrointestinal.

- **Tween 80**

Fórmula Molecular: $C_{32}H_{60}O_{10}$

Descripción: El Tween 80 es un surfactante no iónico hidrofílico. Es una sustancia formulada por la reacción del éster de ácido graso de sorbitán (surfactante no iónico) con óxido de etileno. Se utiliza para la emulsificación de aceite en agua (O/W).

- **Transcutol HP**

Fórmula Molecular: $C_6H_{14}O_3$

Descripción: Co-surfactante en la preparación y caracterización de formulaciones basadas en lípidos como nanoemulsiones, microemulsiones, autonanoemulsiones y automicroemulsiones (SNEDDS / SMEDDS). Tiene un

papel como disolvente prático. Es miscible con etil éter, piridina, cloroformo, etanol, acetona, benceno y agua a 25°C. Se trata de un alcohol primario sustituido por un grupo 2-etoxietoxi, un diéter y un hidroxipoliéter: éter monoetílico de dietilenglicol altamente purificado.

Tabla 3. Solubilidad al equilibrio en diferentes vehículos de carácter lipofílico, así como para diferentes disolventes orgánicos.

Vehículos	Solubilidad [mg/mL]					
	25 °C	*	37 °C	*	40 °C	*
Agua	0.44 ± 0.01	-	-----	-	-----	-
Metanol	118.24 ± 4.22	268	135.49 ± 2.02	307	156.95 ± 2.20	355
Etanol	29.21 ± 0.80	66	31.50 ± 0.92	71	33.11 ± 0.34	75
Propanol	43.26 ± 0.40	98	48.93 ± 1.49	111	51.57 ± 0.69	117
Butanol	58.39 ± 0.63	132	71.45 ± 0.73	162	76.95 ± 1.47	174
Capryol 90	38.26 ± 0.52	87	76.96 ± 0.69	174	96.74 ± 1.20	219
Maisine CC	13.84 ± 0.58	31	17.39 ± 0.14	39	19.83 ± 0.45	45
Labrafac lipophile	12.98 ± 1.10	29	16.46 ± 0.38	37	18.25 ± 0.24	41
Labrasol	28.74 ± 0.41	65	34.35 ± 0.38	78	39.30 ± 0.92	89
Tween 80	26.54 ± 0.69	60	35.14 ± 0.76	80	37.64 ± 1.09	85
Tween 40	23.96 ± 0.38	54	32.35 ± 0.45	73	34.83 ± 0.46	77
Labrafil M 2125 CS	16.22 ± 0.76	37	20.45 ± 0.52	46	26.06 ± 0.41	59
Transcutol HP	31.53 ± 1.07	71	39.24 ± 0.97	89	47.27 ± 0.97	107
PEG 200	20.45 ± 0.31	46	25.85 ± 0.48	58	28.12 ± 0.34	64
Propilenglicol	10.64 ± 1.24	24	14.05 ± 0.52	32	16.94 0.31	38

* *Relación de solubilidad respecto a la acuosa (25°C), calculada con el*

$$\text{cociente de: } \frac{\text{Solubilidad de PC en vehículo "i"}}{\text{Solubilidad de PC en agua (25°C)}}$$

8.1.4 CONSTRUCCIÓN DE DIAGRAMAS TERNARIOS

Se establecieron 2 diagramas de fase ternarios empleando los 4 vehículos oleosos seleccionados: Diagrama A: Capryol90/Labrasol/Transcutol y Diagrama B: Capryol90/Tween80/Transcutol. Se realizó un mapeo seleccionando 10 puntos aleatorios de manera que éstos cubrieran la mayor área posible de la zona de trabajo establecida mostrada en la figura 10. Así, para cada uno de los dos diagramas establecidos se prepararon los 10 puntos por triplicado correspondientes a las proporciones mostradas anteriormente en la tabla 2. Las mezclas lipídicas no presentaron problemas de separación de fases entre los excipientes después de un proceso de agitación vigorosa al momento de la preparación de las mezclas ternarias.

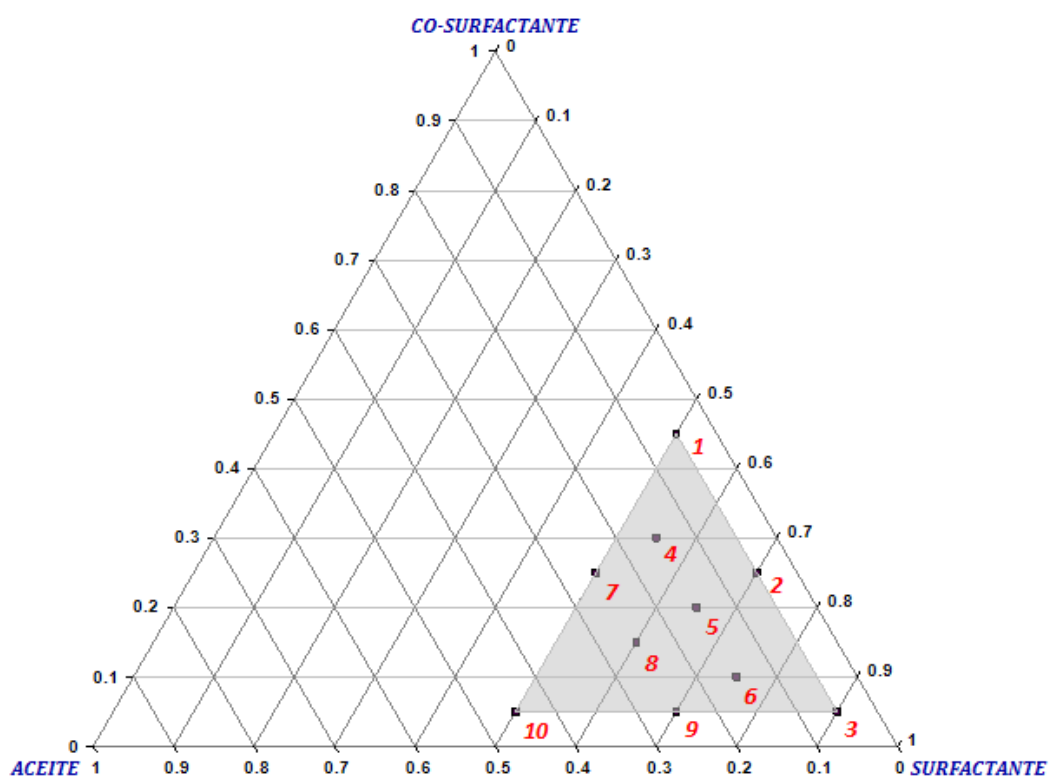


Figura 10. Área de trabajo seleccionada, caracterizada por una concentración de surfactante de 50- 90%, mientras que el aceite y cosurfactante se encuentran en concentraciones de 5-45 %.

8.1.5 MÁXIMA CAPACIDAD DE CARGA

Las mezclas ternarias obtenidas se identificaron utilizando la letra A o B respecto al diagrama utilizado, seguida de un número del 1 al 10 correspondiente al punto dentro del área de trabajo. Se obtuvo un incremento de solubilidad de PC de 70-160 veces respecto a su solubilidad acuosa, este incremento de solubilidad es el resultado de la interacción entre los tres excipientes utilizados, ya que es mayor al incremento presentado por los componentes individuales.

Posterior a la prueba de estabilidad física mediante un ciclado de temperatura, las mezclas lipídicas fueron cuantificadas nuevamente para descartar algún proceso de degradación del PC, los resultados obtenidos se muestran en las tablas 4 y 5, donde se puede observar que solamente dos formulaciones (B9 y B10) superan un 5% de pérdida de PC, cantidad que se considera significativa según la NOM-NOM-073-SSA1-2015, estabilidad de fármacos y medicamentos, por lo que estas formulaciones fueron descartadas. Verificando que en el fondo de los recipientes de vidrio no estuviera presente algún precipitado, se encontró que ninguna formulación presentó problemas de precipitación de PC durante el ciclado de temperatura.

Tabla 4. Máxima capacidad de carga de PC en mezclas lipídicas para el Diagrama A: Capryol90/Labrasol/Transcutol.

Punto	Carga (mg/mL)	Incremento de solubilidad	Carga post-ciclado (mg/mL)	% PC Perdido
A1	40.1 ± 2.2	91	40.0 ± 0.5	0.3
A2	35.8 ± 2.4	81	35.6 ± 0.9	0.3
A3	28.3 ± 0.7	64	28.2 ± 2.2	0.4
A4	37.7 ± 1.1	86	37.1 ± 3.1	1.5
A5	32.3 ± 1.5	73	31.5 ± 0.5	2.5
A6	32.7 ± 1.8	74	31.5 ± 0.2	3.5
A7	41.3 ± 1.8	94	39.6 ± 0.3	4.1
A8	35.2 ± 0.7	80	33.8 ± 0.7	3.9

A9	36.2 ± 0.1	82	34.6 ± 3.5	4.4
A10	37.6 ± 1.0	85	36.6 ± 0.2	2.7

Tabla 5. Máxima capacidad de carga de PC en mezclas lipídicas para el Diagrama B: Capryol90/Tween80/Transcutol

Punto	Carga (mg/mL)	Incremento de solubilidad	Carga post-ciclado (mg/mL)	% PC Perdido
B1	68.6 ± 2.9	156	68.2 ± 0.5	0.5
B2	62.4 ± 0.8	142	62.3 ± 0.5	0.1
B3	61.5 ± 0.6	140	61.2 ± 0.5	0.6
B4	68.0 ± 0.2	155	67.8 ± 0.5	0.3
B5	65.4 ± 1.2	149	64.9 ± 0.5	0.7
B6	59.0 ± 1.9	134	58.5 ± 0.4	0.8
B7	64.5 ± 0.7	147	63.4 ± 1.6	1.8
B8	67.2 ± 0.8	153	65.0 ± 0.5	3.3
B9	68.3 ± 6.1	155	63.1 ± 0.2	7.6
B10	65.4 ± 1.4	149	58.7 ± 1.5	10.2

8.2 CARACTERIZACIÓN DE SEDDS

8.2.1 EMULSIFICACIÓN IN VITRO Y APARIENCIA FÍSICA

Los resultados de la prueba de emulsificación *in vitro* sirven como parámetro comparativo de lo que pudiera suceder en un sistema vivo, por lo que esta caracterización es de vital importancia como prueba de aceptación o rechazo de los sistemas preparados. Los SEDDS forman una emulsión lechosa con un tamaño de gota de 5 a 100 µm; los SNEDDS forman nanoemulsiones con un tamaño de gota de 50 a 300 nm; y los SMEDDS pueden formar microemulsiones muy finas de 5 a 100 nm. Esta característica física es una herramienta de utilidad para conocer si los sistemas formados corresponden a los esperados.

Los sistemas fueron clasificados en una escala de 0-4 según su característica física de opacidad o formación de precipitado al momento de incorporar la fase lipídica a la acuosa según se muestra en la Figura 11.

Los sistemas clasificados de 0-3 según la escala propuesta y que presentaron un proceso de emulsificación en un tiempo menor a 60 segundos fueron seleccionados para seguir con las pruebas de caracterización de tamaño de partícula y potencial zeta, mientras que los sistemas que presentaron problemas para dispersar la fase lipídica, generaban fenómenos de separación de fases o daban lugar a la precipitación del principio activo fueron descartadas para las siguientes etapas de caracterización.

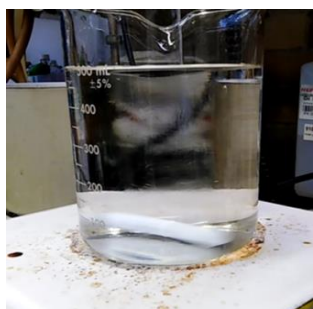
Tabla 6. Emulsificación *in vitro* y apariencia física

Punto	Apariencia (0-4)	Tiempo de dispersión (s)	Punto	Apariencia (0-4)	Tiempo de dispersión (s)
A1	1	9.5 ± 0.8	B1	0	28.1 ± 0.5
A2	2	9.7 ± 1.6	B2	0	34.3 ± 2.1
A3	3	11.8 ± 1.0	B3	0	44.8 ± 0.2
A4	4	----	B4	0	26.5 ± 1.9
A5	4	----	B5	0	33.6 ± 3.7
A6	4	----	B6	0	45.6 ± 0.4
A7-10	4	----	B7-10	4	----

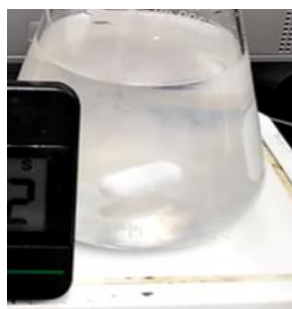
Los datos mostrados en la tabla 6 corresponden a la caracterización inicial de las formulaciones preparadas, se observa que para los diagramas A y B únicamente 3 y 6 formulaciones respectivamente, presentaron un proceso completo de dispersión de la fase lipídica en el medio acuoso, siendo las formulaciones que contienen un menor porcentaje de aceite (5% y 15%) y con una mayor proporción de agente surfactante y cosurfactante. Las características que definieron la selección de los dos surfactantes fueron su capacidad de solubilización de PC y su HLB. El surfactante del Diagrama A (Labrasol) presenta un HLB de 12, mientras que el correspondiente al diagrama B (Tween 80) presenta un HLB de 15, para

lograr un alto rendimiento emulsionante, el surfactante empleado debe tener un alto HLB y una alta hidrofiliidad para la formación inmediata de gotas y la rápida propagación de la formulación en medios acuosos. Se obtuvieron formulaciones de Tipo III B según el LFCS, las cuales contienen cantidades no mayores del 20% de aceite y concentraciones mayores de surfactante y cosurfactante.

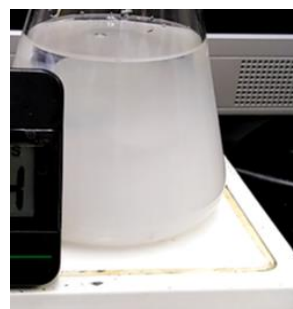
Considerando el alto valor de HLB de los agentes surfactantes utilizados y su carácter hidrofílico se pueden analizar los bajos valores de tiempo de dispersión de la fase lipídica, teniendo en todos los casos satisfactorios tiempos menores a 60 segundos, estos datos son indicativos del valor negativo de energía libre del sistema ($\Delta G < 0$), como resultado de la disminución de la tensión en la interfase.



0- Completamente traslucido



1- Ligeramente turbio



2- Turbidez media



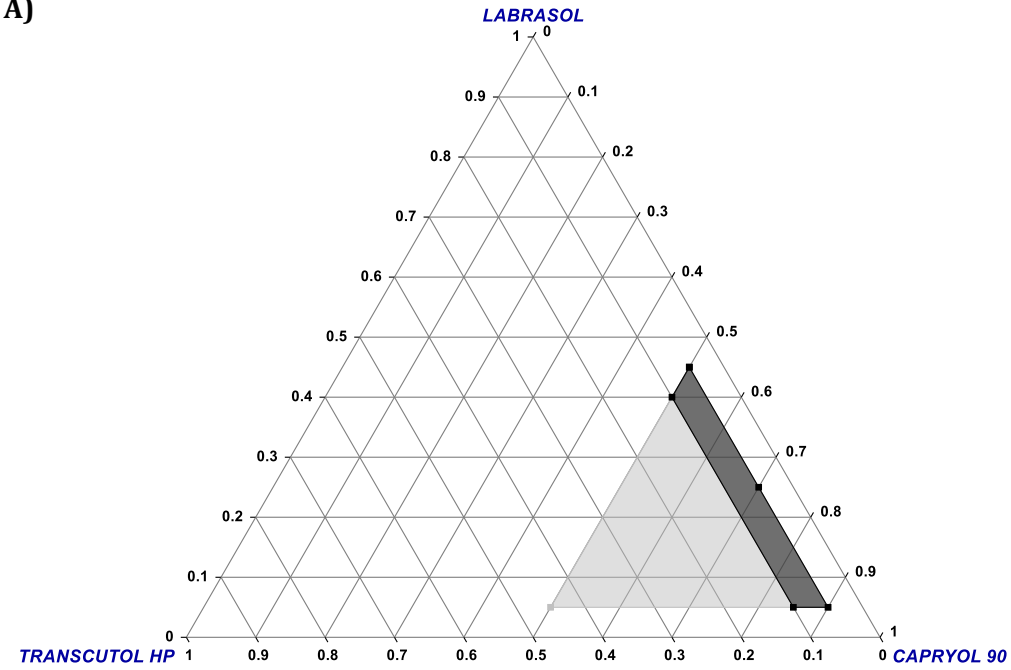
3- Completamente turbio



4- Separación de fases o precipitación

Figura 11. Apariencia de cada uno de los niveles de turbidez según la escala de 0 – 4 que se utilizó para la clasificación de los sistemas preparados.

A)



B)

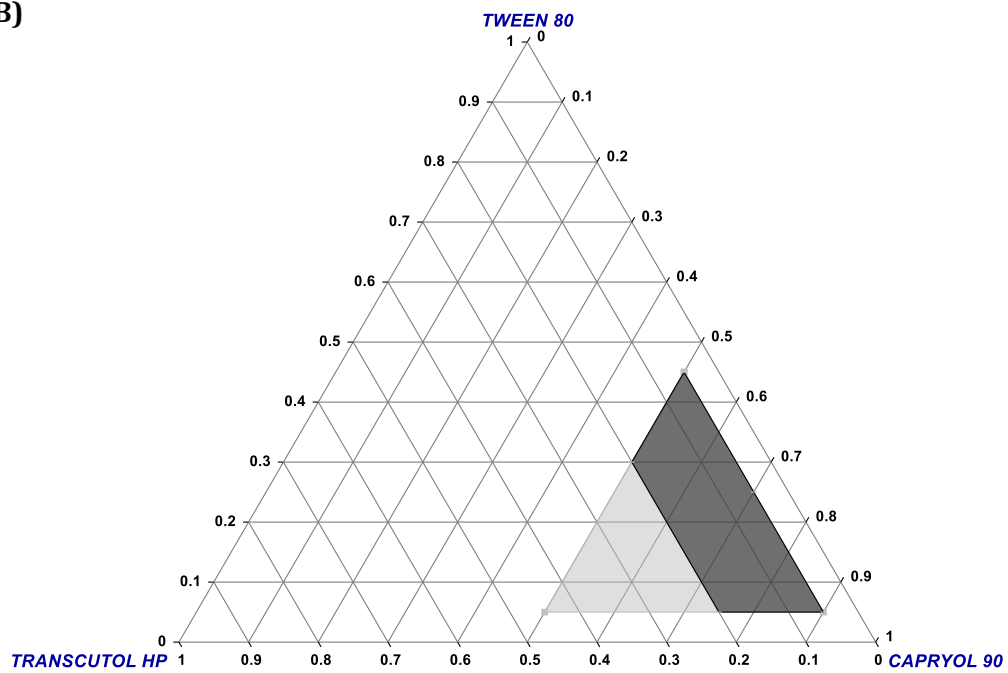


Figura 12. Zonas de autoemulsificación para los 2 diagramas construidos representadas por la zona de color negro.

Considerando los puntos que presentaron un proceso de dispersión de la fase lipídica satisfactoriamente, se delimitaron las zonas de interés dentro de los dos diagramas ternarios, estas zonas se muestran en la Figura 12.

Una vez terminado el ciclado de temperatura para las formulaciones, se realizó nuevamente la prueba de emulsificación espontánea a los sistemas que no presentaban problemas de dispersión de la fase lipídica en el medio acuoso, para el diagrama A las formulaciones A1, A2 y A3 no se presentó ningún cambio significativo en la apariencia física ni en el tiempo de dispersión de la fase lipídica, mientras que para el diagrama B, las formulaciones B1, B2, B3 y B4 no presentaron cambios significativos respecto a las propiedades mostradas anteriormente, las formulaciones B5 y B6 presentaron un proceso de precipitación del principio activo como resultado de una inestabilidad térmica durante los cambios de temperatura, de esta manera el diagrama B fue modificado omitiendo las formulaciones B5 y B6. La nueva zona de autoemulsificación se muestra en la figura 13.

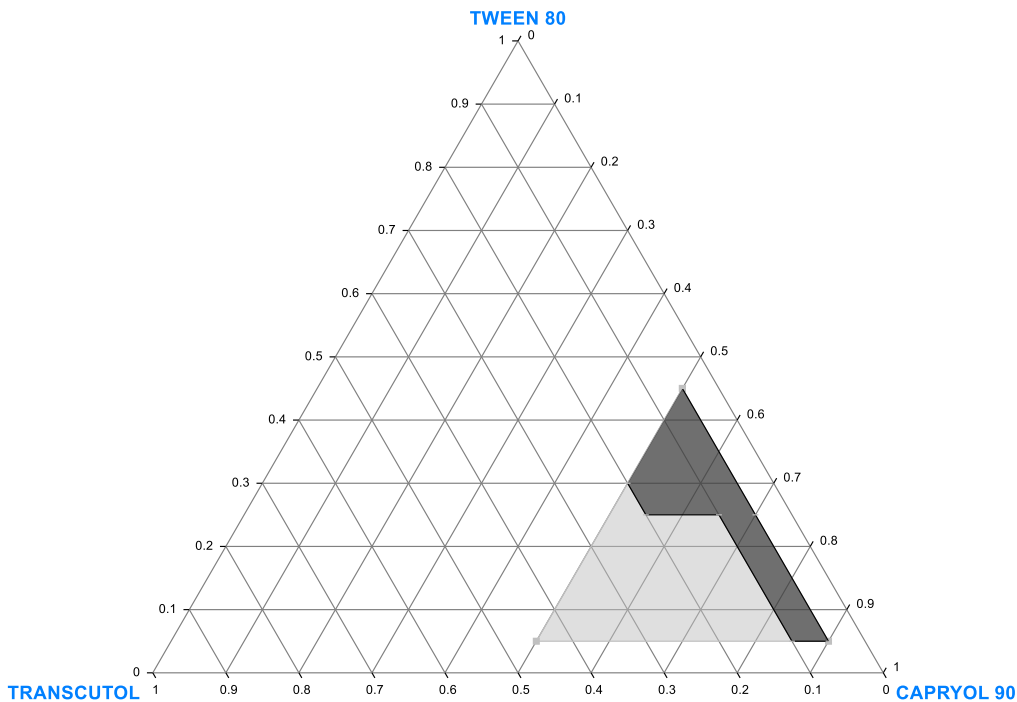


Figura 13. Zonas de autoemulsificación corregida para el diagrama B

De esta manera únicamente las formulaciones A (1-3) y B (1-4) fueron consideradas para realizar las siguientes pruebas de caracterización.

8.2.2 TAMAÑO DE GLÓBULO Y POTENCIAL ZETA

El tamaño de glóbulo de la emulsión determina la velocidad de permeación y como consecuencia la biodisponibilidad del fármaco; los glóbulos más pequeños proporcionan un área superficial más grande, lo que lleva a una liberación más rápida del fármaco en el medio acuoso.

Los tamaños de glóbulo determinados para las formulaciones capaces de realizar un proceso de emulsificación espontánea presentan valores menores a los 350 nm e índices de polidispersidad (PDI) inferiores a 0.3, estos valores de PDI se consideran aceptables y a su vez infieren que al término del proceso de dispersión se obtiene una dispersión homogénea (Raman et al., 2013).

Tabla 7. Caracterización de SEDDS por tamaño de glóbulo, índice de polidispersidad y potencial zeta.

Formulación	Tamaño (nm)	PDI	Potencial Zeta (mV)
A1	337.6 ± 34.1	0.297	-32.2 ± 0.3
A2	215.6 ± 4.0	0.288	-22.7 ± 0.1
A3	185.4 ± 2.9	0.192	-21.8 ± 1.2
B1	113.0 ± 32.4	0.111	-3.6 ± 1.1
B2	51.9 ± 11.2	0.136	-1.4 ± 0.7
B3	75.0 ± 32.3	0.102	-8.1 ± 0.7
B4	55.8 ± 7.5	0.203	-2.3 ± 0.3

El potencial zeta se utiliza para identificar la carga de las partículas. El valor del potencial zeta indica el grado de repulsión electrostática entre las partículas en una dispersión. Un valor absoluto grande del potencial zeta proporciona estabilidad de la dispersión y evita la agregación.

Singh y colaboradores, en su trabajo *Canagliflozin loaded SMEDDS: formulation optimization for improved*, encontraron que para formulaciones de tipo SEDDS con un alto contenido de agente surfactante y cosurfactante, en comparación con una baja cantidad de aceites, los valores óptimos de potencial zeta fueron de -2.2383 a -12.352 (Singh *et al.*, 2019).

Este parámetro está a consideración recordando que la formación de las estructuras micro y nanométricas se da de manera espontánea *in situ* después de su administración, por lo que al comenzar el proceso de auto ensamblaje de las estructuras, también dará comienzo el proceso de digestión donde los lípidos parcialmente digeridos en el estómago se solubilizarán en los fluidos del TGI en presencia de jugo biliar y pancreático, las emulsiones se convertirán adicionalmente en micelas de sal biliar y vesículas laminares. (Mu, 2013).

8.3 DESEMPEÑO DE SEDDS

8.3.1 PERFIL DE DISOLUCIÓN

Se realizó la metodología para las 7 formulaciones propuestas como posibles sistemas de entrega después de la etapa de caracterización fisicoquímica y para las tabletas de Prazicuantel, Cisticid® 600 mg con la finalidad de comparar el incremento del % de PC disuelto respecto al tiempo.

Las formulaciones correspondientes al diagrama A alcanzan porcentajes de disolución superiores al 80% después de 10 minutos, mientras que el producto de referencia supera por poco el 40% al mismo tiempo (Figura 14). Se observa un incremento de la velocidad de disolución por parte de los sistemas SEDDS elaborados, alcanzando porcentajes de disolución superiores al producto de referencia, siendo la formulación A2 la que alcanzó el mayor incremento de porcentaje disuelto después de 60 minutos.

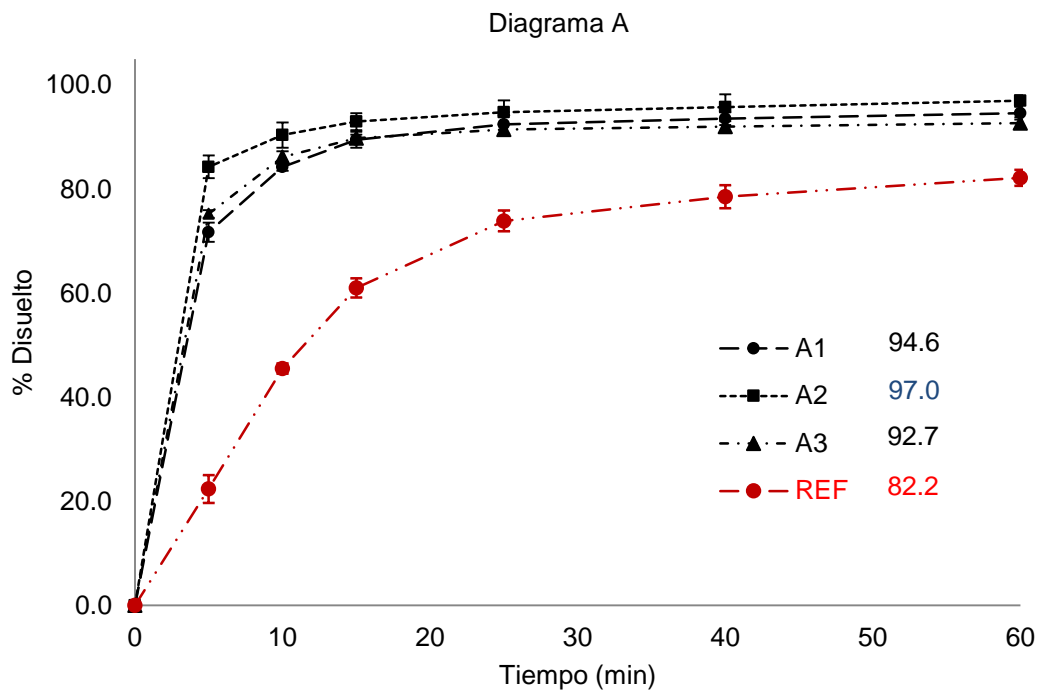


Figura 14. Perfiles de disolución para el diagrama A.

Respecto a las formulaciones B1 y B4 se observa un incremento del porcentaje disuelto cercano al 80% a los 5 minutos, cantidad que se mantiene alcanzando una meseta y resultando en un porcentaje disuelto de PC inferior al presentado por la referencia.

La formulación B3 alcanzó rápidamente el 100% de fármaco disuelto a los 5 minutos, teniendo una liberación inmediata del principio activo.

La formulación B2 presentó una cinética de disolución creciente alcanzando un 80% a los 5 minutos y aumentando un 10 % en el tiempo restante del estudio, alcanzando un 91.6% de PC disuelto, valor que se encuentra por encima del que presentó el producto de referencia (Figura 15).

Diagrama B

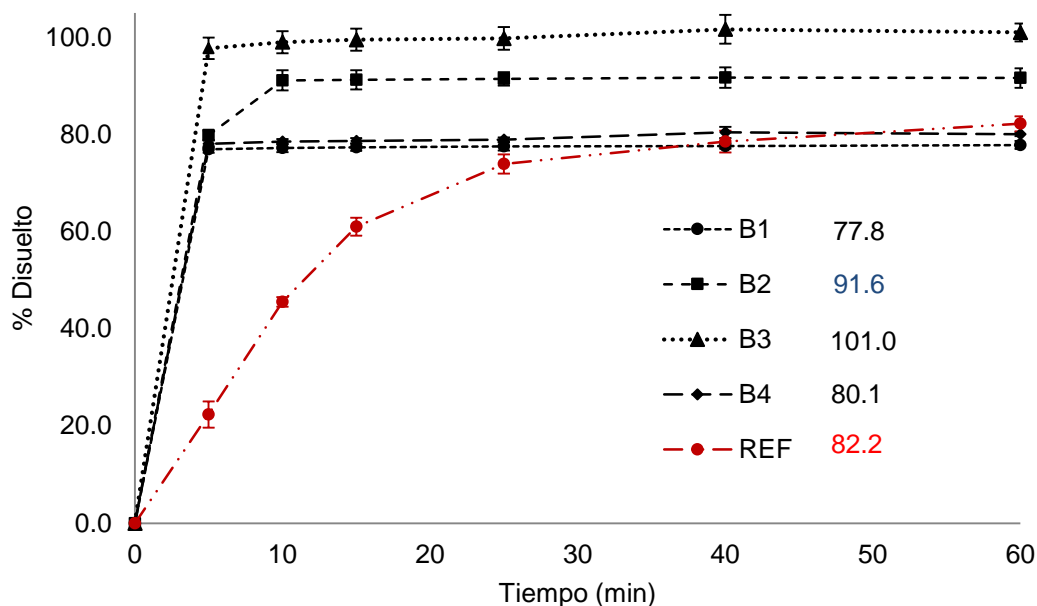


Figura 15. Perfiles de disolución para el diagrama B.

Las formulaciones A2 y B2 fueron las que presentaron un mejor desempeño respecto a la velocidad de disolución y el porcentaje disuelto en comparación al producto de referencia, estas formulaciones seleccionadas tienen en común una baja cantidad de aceite y proporciones elevadas de agente surfactante y cosurfactante lo que favorece la formación de estructuras micro y nanométricas en tiempos menores a 60 segundos, con lo cual el PC se encuentra disuelto en medios acuosos a tiempos menores que una forma de dosificación convencional como lo son las tabletas, ya que estas últimas deben pasar por un proceso de humectación y disgregación para posteriormente tener al fármaco disuelto en el medio. Es por esto que en intervalos de tiempo de 0 a 10 minutos los sistemas SEDDS alcanzan porcentajes de disolución mayores a la referencia, lo cual es indicativo de un incremento en la velocidad de disolución del PC resultando en una posible mejora para ser absorbido en el tracto gastrointestinal.

8.3.2 PERMEABILIDAD EN SISTEMA EX VIVO

Se realizó un estudio de permeación en un sistema *ex vivo* utilizando la primera porción intestinal de cerdo para las dos formulaciones seleccionadas anteriormente. Para el protocolo se establecieron 4 sistemas de estudio los cuales fueron un Control sin Prazicuantel, Prazicuantel como materia prima, Tabletas de Prazicuantel (Cisticid® 600 mg) y las formulaciones en cuestión (A2 y B2).



Figura 16. Preparación para estudio de permeación en sistema ex vivo. A) Lavado, B) Preparación de porciones intestinales y C) montaje del sistema.

Analizando las figuras 17 y 18 se puede observar que Prazicuantel como materia prima presenta una cinética de permeación lenta utilizando el medio de trabajo seleccionado, alcanzando un 13.8% de fármaco cuantificado al exterior del saco intestinal al término del tiempo de ensayo, la señal correspondiente al producto de referencia presenta un aumento considerable respecto a la cantidad de fármaco

que logró permear hasta el exterior del saco intestinal, alcanzando un 50.2 % y un incremento de más de 3 veces respecto a PC como materia prima. Para el caso de la formulación A2 se observa que desde un tiempo de 20 minutos se alcanzó una concentración de 28.6% de fármaco, la cual supera a la cantidad total de PC permeado en su forma pura al termino de 4 horas, se observa un mayor incremento de la cantidad permeada respecto al tiempo y al finalizar el estudio se determinó la cantidad de 92.1% de fármaco en el exterior del saco intestinal, obteniendo un incremento de más de 6 veces respecto a PC como materia prima.

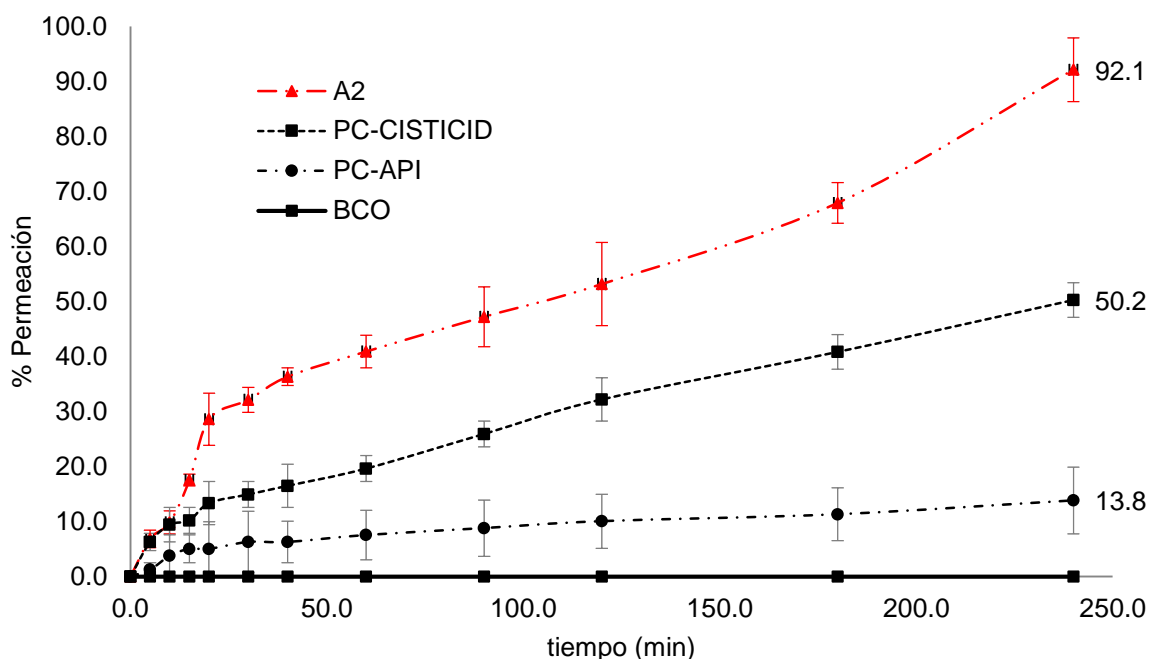


Figura 17. Estudio de permeación en sistema ex vivo. Formulación A2

Para el caso de la formulación B2 se observa que no hay diferencia respecto al medicamento de referencia hasta un tiempo de 180 minutos, tiempo en el cual se comporta de manera similar a la formulación comercial, transcurrido este tiempo se observa un incremento significativo de la cantidad de fármaco cuantificado al exterior del saco intestinal, alcanzando un 89.4% de fármaco fuera del saco intestinal lo que corresponde a un incremento de 6 veces respecto a PC como materia prima.

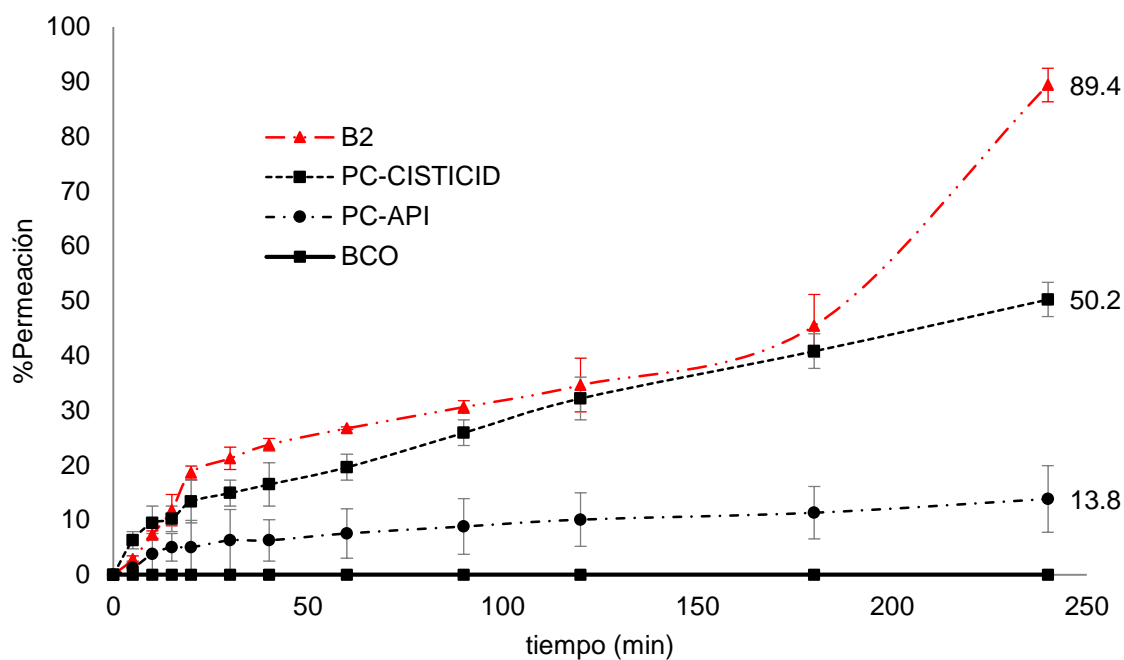


Figura 18. Estudio de permeación en sistema ex vivo. Formulación B2

Las formulaciones A2 y B2 presentan características que promueven el incremento de la permeación, uno de ellos es el tamaño de las estructuras formadas una vez dispersada la fase lipídica, con 215.6 y 51.9 nm respectivamente, el efecto del tamaño del glóbulo de la emulsión en la permeación de la mucosa intestinal ha sido investigado por Gershanik y colaboradores y encontraron que el tamaño de la partícula óptimo estaba en el intervalo de 100 - 500 nm (CzajkowskaKośnik et al., 2015). El tamaño de glóbulo de la formulación A2 se encuentra dentro del rango recomendado anteriormente, con lo cual se explica la rápida velocidad de permeación de PC a través del saco intestinal, mientras que el tamaño de partícula de la formulación B2 está por debajo del rango óptimo recomendado formando estructuras micelares de tipo IV según el sistema LFCS propuesto.

9. CONCLUSIONES

Se determinaron los excipientes lipídicos en los cuales se presentó un mayor aumento de la solubilidad de Prazicuantel respecto a su solubilidad acuosa, estos vehículos presentaron un incremento de solubilidad de hasta 87 veces.

A través de esta determinación del incremento de solubilidad fue posible seleccionar los componentes adecuados para la formulación de un sistema lipídico tipo SEDDS capaz de aumentar la solubilidad, velocidad de disolución y absorción de PC.

Se establecieron dos zonas en los diagramas de fase ternarios en las cuales las mezclas presentan un proceso de emulsificación espontánea en tiempos menores a los 60 segundos y se establecieron 7 formulaciones con tamaños de partícula inferiores a 350 nm, potenciales zeta de -1.4 a -32.2 mV y con estabilidad física resistente a cambios de temperatura. Los sistemas obtenidos presentaron un incremento de solubilidad del Prazicuantel de 60 a 170 veces comparadas con el agua.

Las formulaciones A2 y B2 presentaron un aumento de porcentaje disuelto comparadas con el medicamento de referencia Cisticid tabletas 600 mg y los perfiles de permeación en un sistema *ex vivo* demostraron que existe un incremento de la permeación por parte de los sistemas SEDDS desarrollados.

10. REFERENCIAS

- 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.
- Akbarieh, M., Besner, J. G., Galal, A., & Tawashi, R. (1992). Liposomal delivery system for the targeting and controlled release of praziquantel. *Drug development and industrial pharmacy*, 18(3), 303-317.
- 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.
- Andrews P. Praziquantel: mechanisms of antischistosomal activity. *Pharmacol. Ther.* 29, 129–156 (1985).
- Atef E, Belmonte A. Formulation and in vitro and in vivo characterization of a phenytoin self-emulsifying drug delivery system (SEDDS). *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 35, 4:257-263 (2008).
- Bhattacharjee, S. (2016). DLS and zeta potential—what they are and what they are not?. *Journal of controlled release*, 235, 337-351.
- Becket, G., Schep, L. J., & Tan, M. Y. (1999). Improvement of the in vitro dissolution of praziquantel by complexation with α -, β - and γ -cyclodextrins. *International journal of pharmaceutics*, 179(1), 65-71.
- Brutto, O. H. del. (2005). Neurocisticercosis: Actualización en diagnóstico y tratamiento. *Neurología (Barc., Ed. impr.)*, 412–418.
- Czajkowska-Kośnik A., Szekalska M., Amelian A., Szymańska E. and Winnicka K. (2015). Development and Evaluation of Liquid and Solid Self-Emulsifying Drug Delivery Systems for Atorvastatin. *Molecules*, 20(12), 21010-21022
- David J. Hauss. Oral Lipid-Based Formulations. Vol. 170. Informa Healthcare. USA 2007 PP 1-63
- Devalapally H., Silchenko S., Zhou F., Mcdade J., Goloverda G., Owen A. and Hidalgo I. (2013). Evaluation of a Nanoemulsion Formulation Strategy for Oral Bioavailability Enhancement of Danazol in Rats and Dogs. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 102(10), 3808-3815

- 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.
- Douroumis, Dionysios, and Alfred Fahr. Drug Delivery Strategies for Poorly Water-Soluble Drugs, John Wiley & Sons, Incorporated, 2013. ProQuest Ebook Central, <https://bidi.uam.mx:9155/lib/uam-ebooks/detail.action?docID=1116228>.
- Fatouros D., Deen G., Arleth L., Bergenstahl B., Nielsen F., Pedersen J., and Mullertz A. (2007). Structural development of self-nano emulsifying drug delivery systems (SNEDDS) during in vitro lipid digestion monitored by small angle X-ray scattering. *Pharm Res*, 24(10), 1844-1853
- Feeney O., Crum M., McEvoy C., Trevaskis N., Williams H., Pouton C., Charman W., Bergström C. and Porter, C. (2016). 50 years of oral lipid-based formulations: Provenance, progress and future perspectives. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 1(101), 167–194.
- Felton, L. A. (2013). Remington Essentials of Pharmaceutics. Philadelphia Collage of Pharmacy
- Garzón M., Vázquez M., Villafuerte L., García B. and Hernández A. (2009). Effect of formulation components on the properties of solid lipid nanoparticles. *Rev Mex Cienc Farm*, 40(2), 26-40
- Gershanik T., Benzeno S. and Benita S. (1998) Interaction of a self-emulsifying lipid drug delivery system with the inverted rat intestinal mucosa as a function of droplet size and surface charge. *Pharm. Res.*, 15(6):863–869.
- 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.
- Jannin V., Chevrier S., Michenaud M., Dumont C., Belotti S, Chavant Y. and Demarne, F. (2015). Development of self-emulsifying lipid formulations of BCS class II drugs with low to medium lipophilicity. *International Journal of Pharmaceutics*, 495(1), 385-392

- Javadzadeh Y., Siahi-Shadbad M., Barzegar-Jalali M. and Nokhodchi A. (2005). Enhancement of dissolution rate of piroxicam using liquisolid compacts. *Il Farmaco* 60(4): 361-365.
- 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.
- Kang J., Hoon D., Ohc Y., Yong C. and Choi, H. (2012). Effects of solid carriers on the crystalline properties, dissolution and bioavailability of flurbiprofen in solid selfnanoemulsifying drug delivery system (solid SNEDDS). *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 80(2), 289–297.
- Kumar B., Marasini N., Hiep T., Choi H., Soon C. and Oh. J. (2012). Formulation, Characterization and Optimization of Valsartan Self-Microemulsifying Drug Delivery System Using Statistical Design of Experiment. *Chem. Pharm. Bull.*, 60(11), 1409- 1418.
- Mainardes, R. M., & Evangelista, R. C. (2005). PLGA nanoparticles containing praziquantel: effect of formulation variables on size distribution. *International journal of pharmaceutics*, 290(1-2), 137-144.
- Martínez M. (2016). Desarrollo de micro y Nanoemulsiones de liberación sostenida. (Tesis doctoral). Universidad Complutense, España.
- Massik M., Abdallah O., Galal S. and Daabis N. (2003). Semisolid Matrix Filled Capsules: An Approach to Improve Dissolution Stability of Phenytoin Sodium Formulation. *Drug development and industrial pharmacy*, 29(5), 531-543
- Mohan L., Jaggi M. and Talegaonkara S. (2014). Development of protocol for screening the formulation components and the assessment of common quality problems of nano-structured lipid carriers. *International Journal of Pharmaceutics*, 461(2), 403-410.
- Mutyam S., Bejugam N., Parish H., Reddy V., Bogatcheva E. and Shankar G. (2014). Permeability enhancing lipid-based co-solvent and SEDDS formulations of SQ641, an antimycobacterial agent. *Pharm Dev Technol*, 20(5), 598-607.

- Nekkanti V., Karatgi P., Prabhu R. and Pillai R. (2010). Solid Self Microemulsifying Formulation for Candesartan Cilexetil. *AAPS PharmSciTech*, 11(1), 9-17
- NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-073-SSA1-2015, estabilidad de fármacos y medicamentos, así como de remedios herbolarios
- Passerini, N., Albertini, B., Perissutti, B., & Rodriguez, L. (2006). Evaluation of melt granulation and ultrasonic spray congealing as techniques to enhance the dissolution of praziquantel. *International Journal of Pharmaceutics*, 318(1-2), 92-102.
- Patel A., Sharma N. and Kumar A. (2012). Self-emulsifying drug delivery system: A gentle approach for drug delivery. *International Journal of Drug Delivery*, 4(3), 297–309
- Porter C., Trevaskis N., and Charman W. (2007). Lipids and lipid-based formulations: Optimizing the oral delivery of lipophilic drugs. *Nature Reviews Drug Discovery*, 6(3), 231–248.
- 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. (2006). Formulation of poorly water-soluble drugs for oral administration: physicochemical and physiological issues and the lipid formulation classification system. *Eur. J. Pharm. Sci.* 29(3), 278–287.
- Qureshi MJ, Mallikarjun C, Kian WG. Enhancement of solubility and therapeutic potential of poorly soluble lovastatin by SMEDDS formulation adsorbed on directly compressed spray dried magnesium aluminometasilicate liquid loadable tablets: A study in diet induced hyperlipidemic rabbits. *Asian journal of pharmaceutical sciences* 10, 40-56 (2015).
- Raman V., Babu B., Jukanti R., Kishan R. and Bandari S. (2013). A Gelucire 44/14 and labrasol based solid self- emulsifying drug delivery system: formulation and evaluation. *Journal of Pharmaceutical Investigation*, 43(3), 185-196.
- Robinson JR. Introduction: semi-solid formulations for oral drug delivery. *Bull TechGattefosse* 89, 11-13 (1996).

- S. G. Sáyago-Ayerdi, M. P. Vaquero, A. Schultz-Moreira, S. Bastida y F. J. Sánchez-Muniz. Utilidad y controversias del consumo de ácidos grasos de cadena media sobre el metabolismo lipoproteico y obesidad. *Nutrición Hospitalaria* 2008; 23(3) 191-202. España.
- Serajuddin, A. T. (2007). "Salt formation to improve drug solubility." *Adv Drug Deliv Rev* 59(7): 603-616.
- Shakeel F., Haq N., El-badry M., Alanazi F. and Alsarra I. (2013). Ultra-fine super self-nanoemulsifying drug delivery system enhanced solubility and dissolution of indomethacin. *J Mol Liq*, 180, 89-94.
- Shaker F., Haq N., Alanazi F. and Alsarra I. (2013). Impact of various nonionic surfactants on self-nanoemulsification efficiency of two grades of Capryol (Capryol90 and Capryol-PGMC). *Journal of Molecular Liquids*, 182, 57-63.
- Singh, D., Tiwary, A. K., & Bedi, N. (2019). Canagliflozin loaded SMEDDS: formulation optimization for improved solubility, permeability and pharmacokinetic performance. *Journal of Pharmaceutical Investigation*, 49(1), 67-85.
- Smith, B. T. (2015). "Remington Education: Physical Pharmacy." 1st Edición
- Solans C., Morales D. and Homs M. (2016). Spontaneous emulsification. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 22, 88-93
- Tiong, N. and A. A. Elkordy (2009). "Effects of liquisolid formulations on dissolution of naproxen." *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 73(3): 373-384.
- Venkata R, Basanth B, Raju J, Ram K, Suresh B. Gelucire 44/14 and labrasol based solid self-emulsifying drug delivery system: formulation and evaluation. *Journal of Pharmaceutical Investigation* 43, 185–196 (2013).
- Williams H., Anby M., Sassene P., Kleberg K., Bakala-N'Goma J., Calderone M., Jannin V., Igonin A., Partheil A., Marchaud D., Jule E., Vertommen J., Maio M., Blundell R., Benameur H., Carrière F., Müllertz A., Pouton C., and Porter C. (2012). Toward the Establishment of Standardized In vitro Tests for Lipid-Based Formulations. 2. The Effect of Bile Salt Concentration and Drug Loading on the

Performance of Type I, II, IIIA, IIIB, and IV Formulations during in Vitro Digestion. *Mol. Pharmaceutics*, 9(11), 3286–3300.

- Williams H., Trevaskis N., Charman S., Shanker R., Charman W., Pouton C. and Porter C. (2013). Strategies to Address Low Drug Solubility in Discovery and Development. *Pharmacological Reviews*, 65(1), 315–499.
- 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., Pan, B., Wang, M., Zhu, L., Wang, F., Dong, Z., ... & Zhou, W. (2010). Formulation, characterization and pharmacokinetics of praziquantel-loaded hydrogenated castor oil solid lipid nanoparticles. *Nanomedicine*, 5(5), 693-701.