

Desarrollo y evaluación de un sistema autoemulsionable de Etoricoxib

Rojas González Lucia¹, Santiago Villarreal Oscar², Bernad Bernad María Josefa², Monroy Barreto Minerva², Miranda Calderón Jorge Esteban^{1*}

¹Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco, Departamento de Sistemas Biológicos. Calzada del Hueso 1100, Coyoacán, Ciudad de México C.P. 04960, México.

²Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Química. Circuito Exterior S/N, Cd. Universitaria, Coyoacán, Ciudad de México 04510, México.

*Autor para correspondencia: jmiranda@correo.xoc.uam.mx

Recibido:

28/febrero/2020

Aceptado:

20/octubre/2020

Palabras clave:

Etoricoxib,
solubilidad,
sistemas
autoemulsionables

Keywords:

Etoricoxib,
solubility,
self-emulsifying systems

RESUMEN

La solubilidad acuosa limitada de algunos fármacos ha llevado a buscar alternativas como lo son los Sistemas autoemulsionables de entrega de Fármacos (SEDDS, por sus siglas en inglés), que aumentan la solubilidad y permeabilidad gastrointestinal de los fármacos. El objetivo de este trabajo fue desarrollar y evaluar un SEDDS para etoricoxib, antiinflamatorio perteneciente al cuadro básico de medicamentos del Sector Salud en México. Los SEDDS cargados con etoricoxib se desarrollaron a partir de diferentes mezclas ternarias de aceite, surfactante y co-surfactante evaluando la eficiencia de autoemulsificación y la capacidad de solubilizar al fármaco. A las mezclas con tales características se les evaluó tamaño de partícula de la emulsión formada obteniendo valores entre 9-230 nm y potencial zeta de -4.07 a -16.43 mV con tiempos de autoemulsificación de hasta 24 segundos. El incremento de la solubilidad del fármaco con esta estrategia fue de hasta 1600 veces con respecto al agua.

ABSTRACT

The limited aqueous solubility of many drugs which has led to develop alternatives, such as the Self-Emulsifying Drug Delivery System (SEDDS) for increasing gastrointestinal solubility and improve its permeability. The objective of this work was to develop and evaluate a SEDDS system for an anti-inflammatory linked to the Health Sector in Mexico: etoricoxib. Ten different ternary mixtures of oil, surfactant and co-surfactant are developed to subsequently characterize the self-emulsification efficiency and select the optimal mixtures to solubilize the drug. From these points, other properties such as particle size were evaluated obtaining values between 9-250 nm and zeta potential of -4.07 to -16.43 mV with self-emulsification times of up to 24 sec. The increase in the solubility of the drug with this type of delivery system was up to 1600 times with respect to water.

Introducción

La optimización de los tratamientos farmacológicos mediante el diseño de nuevos sistemas de administración que muestren una mejor eficacia, selectividad y seguridad es un área que constantemente se encuentra en expansión dentro de la investigación farmacéutica. Muchas investigaciones actualmente se encuentran centradas en los fármacos con una baja solubilidad en agua, con limitada permeabilidad celular y depuración metabólica alta, las cuales son características que pueden disminuir la biodisponibilidad de un medicamento administrado por vía oral (Feeney et al., 2016).

Por lo anterior, considerar la solubilidad del fármaco es crucial ya que la hidrofobicidad y la baja solubilidad en agua son características cada vez más comunes en el desarrollo de nuevas moléculas e incluso de los medicamentos (Hywel et al., 2013).

En los fármacos de la clase II, del Sistema de Clasificación Biofarmacéutica (SCB) como el etoricoxib, el grado de solubilidad/disolución será el que afecte directamente su absorción y su biodisponibilidad, por lo que las tecnologías farmacéuticas para este tipo de compuestos están encaminadas a incrementar la solubilidad (Chavda et al., 2010).

Por lo anteriormente expuesto, se han desarrollado diferentes tecnologías que pretenden aumentar el grado de disolución y la solubilidad aparente, por ejemplo: la reducción del tamaño de partícula, modificación de pH, codisolubencia, la formación de sales, el aislamiento de cocristales o polimorfos cristalinos de alta energía, las dispersiones sólidas, las formulaciones basadas en lípidos (LBF, por sus siglas en inglés), ciclodextrinas, etc. (Chaudhary A. et al., 2012; Qureshi et al., 2015; Vemula et al., 2010).

Algunas de estas técnicas ya han sido desarrolladas para incrementar la velocidad de disolución de etoricoxib y mejorar su absorción, por ejemplo, las dispersiones sólidas empleando diferentes excipientes como acarreadores lipídicos (Chauhan, et al., 2005), empleando polimorfos (Dani, et al., 2014), azúcares acarreadores (Das, et al., 2011), polímeros naturales (Sapkal, et al., 2020), entre otros que, aunque efectivamente mejoran esta propiedad, corresponden a técnicas inestables, complejas de desarrollar y de escalar a nivel industrial además de que, de acuerdo con los resultados obtenidos, existe aún un margen de mejora en la cantidad de fármaco solubilizado y en su velocidad de disolución.

En 2012, se publicó el trabajo sobre un sistema de codisolubencia para este fármaco presentando un bajo incremento de solubilidad además de que no propone el empleo de excipientes lipídicos (Nayak y Panigrani, 2012). Un estudio más en 2015 dio a conocer el desarrollo de un sistema nanoemulsionable a base de poloxámeros, sin embargo, presentó también una baja capacidad de carga de etoricoxib (Vasava, et al., 2015). Finalmente, un estudio de microemulsiones lipídicas cargadas con este fármaco fue desarrollado como alternativa para su administración tópica pero los resultados no muestran una mejora significativa con respecto a su absorción por vía oral (Fonseca, et al., 2019).

Los resultados anteriores demuestran la necesidad de mejorar las estrategias para incrementar la solubilidad de etoricoxib, de entre ellas, este trabajo presenta el desarrollo de una LBF denominada SEDDS la cual es definida como una mezcla isotrópica de aceite, surfactante y co-surfactante; transparente, con comportamiento de fluido newtoniano y termodinámicamente estables que forman emulsiones aceite/agua (o/w) cuando se expone a medios acuosos bajo agitación suave o, en este caso, con la motilidad digestiva del tracto gastrointestinal (TGI). Estas mezclas isotrópicas tienen que reunir varios requerimientos, los excipientes deben ser biocompatibles, la formación de la emulsión debe ocurrir rápidamente y deben proveer la solubilidad necesaria al fármaco (Heshmati et al., 2013; Hywel et al., 2013; Atef y Belmonte 2008).

Idealmente en un SEDDS, la mezcla debe mantener la solubilización del fármaco a medida que la formulación se dispersa y se digiere en el TGI evitando la precipitación del fármaco hasta que éste se absorba. Por otra parte, al haber una gran cantidad de micelas conteniendo el fármaco se aumenta el área de superficie y por lo tanto la bioabsorción es mejorada (Rathbone et al., 2008). Dentro del desarrollo de este tipo de tecnología farmacéutica la caracterización fisicoquímica juega un papel de suma importancia ya que estos datos indicarán que mezcla de lípidos proporciona un mejor desempeño para la entrega del fármaco en el sitio de absorción, las principales pruebas a evaluar son el tiempo de autoemulsificación, determinación del tamaño de partícula, índice de polidispersidad, potencial zeta y solubilidad al equilibrio (Tripathi et al., 2018).

El fármaco en cuestión; etoricoxib, es un fármaco indicado principalmente para el tratamiento del dolor en artritis reumatoide y osteoartritis, patologías que hasta 2011 afectaban al 14% dentro de la población lo que colocó a México dentro de los países con más alto porcentaje en enfermedades reumáticas, siendo la población más afectada la perteneciente a niveles

socioeconómicos bajos de acuerdo con la Asociación Mexicana de Familiares y Pacientes con Artritis Reumatoide A.C., misma que indica que después de la diabetes, las neoplasias malignas, las dorsopatías y la insuficiencia renal, las enfermedades reumáticas están dentro de las primeras 10 causas de atención médica ambulatoria.

La presente investigación tiene entonces por objeto desarrollar y evaluar las características de un SEDDS cargado con etoricoxib para proponer una formulación que sea capaz de favorecer el proceso de absorción del fármaco.

Metodología

Materiales

El *principio activo* etoricoxib lote ETK5ATA4818 con pureza 98.98% fue donado por el distribuidor HELM de México S.A. Los *excipientes lipídicos* Capryol 90® (monocaprilato de propilenglicol, 2-Hidroxi-propil octanoato), Maisine® (monolinoleato de glicerilo), Labrasol® (macrogol-8-glicérido de caprilocaproilo), Labrafil M2130® (lauroyl polioxil-6 glicérido) y Transcutol® HP (monoetil éter de dietilenglicol), de Gattefossé® fueron proporcionados en donación por Químicos Lyontec, S. de R.L. de C.V. El Tween 80 (polisorbato 80) fue comprado a Merck México S.A. de C.V. y el ácido oleico se compró a Sigma Aldrich. Los *disolventes orgánicos* metanol, etanol, propanol y butanol grado reactivo fueron adquiridos con el distribuidor Reactivos Química Meyer. El agua desionizada fue obtenida mediante el sistema Milli-Q (Millipore).

Determinación de longitud de onda de máxima absorbancia de etoricoxib

Para evaluar la concentración en las preparaciones de excipientes con el fármaco, previamente se realizó una prueba con una solución stock de etoricoxib disuelto en metanol a una concentración de 20 µg/mL (por triplicado) para realizar un barrido de absorbancia y evaluar los picos de absorbancia máxima entre 200 y 400nm por espectrofotometría UV-Visible empleando el equipo Shimadzu UV-1201.

Curva Patrón de Etoricoxib

Se preparó por triplicado una solución stock de 20 µg/mL de etoricoxib a partir de la cual se prepararon las diluciones correspondientes para obtener concentraciones de 16, 8, 4, 2 y 0.4 µg/mL. El metanol fue usado como disolvente para la preparación de esta curva (por triplicado) y se realizó la cuantificación en un espectrofotómetro UV-Vis. Mediante estas preparaciones se evalúa la linealidad del método por lo que los valores de R² y de IC (β1) son determinados.

Solubilidad al equilibrio en disolventes lipídicos puros

En un tubo de ensayo se agregó un exceso de etoricoxib a un volumen de 1 mL de cada excipiente por triplicado (Capryol 90®, ác. oleico, Maisine®, Tween 80, Labrasol®, Labrafil M2130® y Transcutol® HP). Y también se realizó la prueba con agua desionizada para tener una referencia del aumento de solubilidad del soluto. Esta mezcla se agitó con ayuda de un vórtex hasta que el polvo estuviera disperso y las preparaciones fueron colocadas en un baño de agua para controlar la temperatura a 25°C, 37°C y 40°C protegidas de la luz. Se mantuvieron durante 48h con una agitación constante de 100 rpm.

Una vez alcanzado el equilibrio de solubilidad, las mezclas se centrifugaron y se filtró el sobrenadante a través de membranas de nylon Millipore® de tamaño de poro de 0.45µm. De la muestra filtrada se tomó una alícuota y su concentración fue cuantificada mediante espectrofotometría UV-Visible a una longitud de onda de 284 nm.

Construcción de diagramas ternarios

Los diagramas ternarios fueron construidos con aquellos excipientes en donde el fármaco mostró un mayor aumento de solubilidad (aceite/surfactante(co-surfactante)). De acuerdo con los resultados de solubilidad al equilibrio en los excipientes lipídicos puros se realizaron cuatro diagramas ternarios para determinar la composición del SEDDS.

La selección de los puntos para la construcción del diagrama se basó en un diseño estadístico de mezclas utilizando el modelo de vértices extremos.

Diez experimentos fueron diseñados al azar para cada diagrama los cuales se distribuyen como se muestra en la figura 1. Los límites de los excipientes lipídicos para este diseño quedaron establecidos de la siguiente manera: Aceite 5-40%, Surfactante 50-85% y Co-Surfactante 10-45%.

Máxima capacidad de carga para mezclas lipídicas

Para cada mezcla preparada se agregó por triplicado un exceso de etoricoxib, se mezcló con ayuda de un vórtex y se mantuvieron estas preparaciones en agitación constante (100rpm) durante 72 h y con temperatura controlada (25°C). Posterior a este tiempo, las mezclas fueron filtradas a través de membranas de nylon 0.45µm y se realizaron las diluciones apropiadas empleando metanol como disolvente para cuantificar el fármaco solubilizado mediante espectrofotometría UV-Visible (λ=284nm).

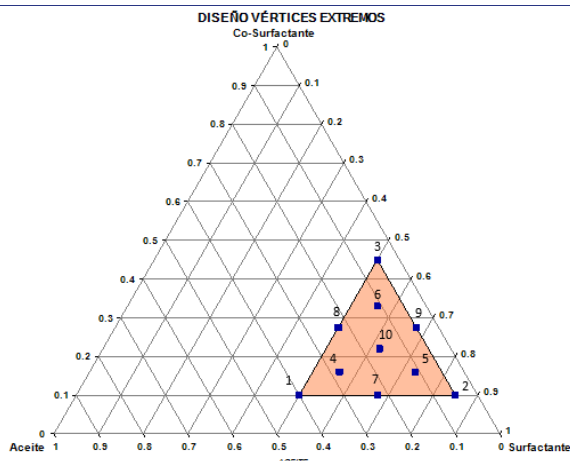
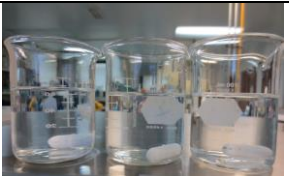
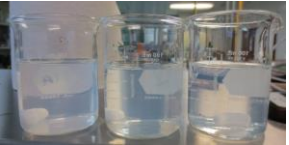
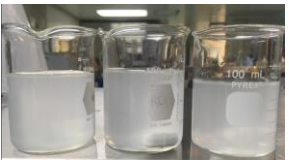



Figura 1. Área de trabajo seleccionada con base en el diseño de vértices extremos con diez puntos distribuidos al azar.

Tiempo de autoemulsificación y apariencia física

Una vez obtenida la mezcla lipídica cargada con etoricoxib se tomó una alícuota de 1 mL que se agregó a un vaso de precipitados con 250 mL de agua desionizada y se mantuvo una agitación suave para simular el movimiento peristáltico, se determinó el tiempo de emulsificación (tiempo de dispersión completa de la fase lipídica en la fase acuosa). Las propiedades de emulsificación espontánea de cada formulación, así como su dispersabilidad y apariencia fueron evaluadas visualmente con base en el sistema de clasificación que se muestra en la tabla 1.

Tabla 1. Escala de turbidez de emulsiones (0-3).

0 (Transparente)	
1 (Traslúcido)	
2 (Turbidez media)	
3 (Completamente turbio)	

Determinación de tamaño de partícula, PDI y potencial zeta

Para las mezclas lipídicas con fármaco añadido que presentaron una emulsificación espontánea satisfactoria *in vitro*, se analizaron por triplicado tanto el tamaño de partícula e índice de polidispersión como el potencial zeta. Para la determinación de tamaño de partícula se preparó una dilución del fármaco de 1mL en 250 mL de agua desionizada. Esta muestra fue analizada en el equipo Zetasizer Malvern modelo ZSP. Para la prueba de potencial zeta se prepara una dilución acuosa al 1% y se analiza a través del determinador de potencial zeta ZetaProbe 300 de Dispersion Technology Instruments.

Resultados y discusión

Determinación de longitud de onda de máxima absorbancia de etoricoxib

El fármaco etoricoxib presenta dos señales de absorbancia máxima a 237nm y 284nm como se muestra en la figura 2.

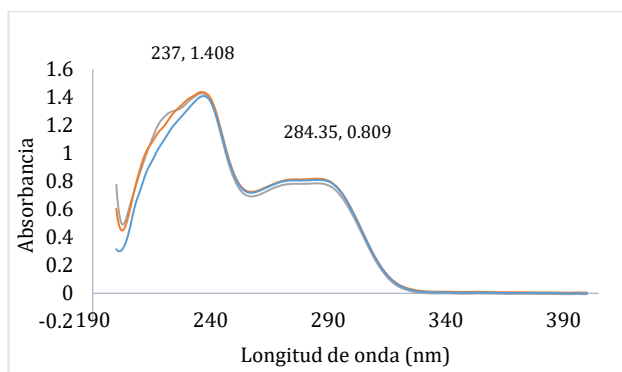


Figura 2. Determinación de la longitud de onda con máxima absorbancia mediante un barrido espectrofotométrico de 200 a 400 nm de una solución de etoricoxib a una concentración de 20µg/mL.

Por lo tanto, la longitud de onda con la que se trabajó fue de 284 nm ya que esta permite obtener las absorbancias adecuadas con las diluciones correspondientes para realizar las cuantificaciones de etoricoxib tanto en los excipientes lipídicos puros como en las mezclas ternarias.

Curva Patrón de Etoricoxib

Se realizó por triplicado la preparación de la curva patrón de etoricoxib y se demostró que el método es lineal ya que se obtiene un coeficiente de regresión lineal (R^2) de 0.9999 y un IC (β_1) que no incluye el cero (0.0410-0.0418) ajustándose al modelo matemático de mínimos cuadrados.

Solubilidad al equilibrio en disolventes lipídicos puros

Los resultados de solubilidad en los excipientes lipídicos puros muestran un mayor aumento de esta propiedad para etoricoxib en los aceites Capryol 90® y ácido oleico, en los surfactantes Tween 80 y Labrasol® y el co-surfactante Transcutol®HP (Figura 3). La baja solubilidad en Maisine® podría estar relacionada con su viscosidad ya que de los tres vehículos oleosos evaluados, es quien presenta una mayor viscosidad (120 cp) mientras que Capryol®90 y ácido oleico se encuentran alrededor de 20 cp. La viscosidad influye en la distribución del soluto y dificulta el proceso de solvatación. Por su parte, Labrasol® es un polioxilglicérido que está compuesto de una mezcla de mono, di y triésteres de glicerol y mono y diésteres de polietilenglicol (PEG) y su capacidad disolvente está en función de la concentración de los grupos éster, las fracciones de PEG y el largo de la cadena carbonada. En el caso de Tween 80 (ésteres de ácidos grasos de sorbitán), la solubilidad del fármaco puede estar relacionada con su grado de etoxilación ya que entre más polioxoetilada se encuentre la molécula, mayor es la capacidad de disolver fármacos poco solubles en agua. La diferencia que existe con Labrafil M2130® es que este posee un menor valor de HLB (9) además de su naturaleza sólida que dificulta su manipulación y la incorporación del fármaco en las condiciones de trabajo. El Transcutol® HP disminuye el efecto de hidrofobicidad del fármaco mejorando la solubilidad.

La tabla 2 muestra los resultados de solubilidad de etoricoxib para cada excipiente en las 3 temperaturas evaluadas así como la solubilidad acuosa y el aumento de esta propiedad con respecto al agua.

A partir de la selección de los excipientes lipídicos Capryol 90®, ácido oleico, Tween 80, Labrasol® y Transcutol®HP se construyen los diagramas de fase ternarios de los sistemas lipídicos tipo SEDDS que se desean obtener.

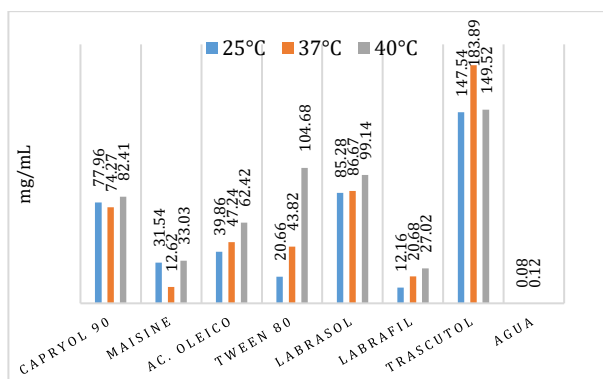


Figura 3. Solubilidad promedio de etoricoxib (mg/mL) en excipientes puros y en agua a 25, 37 y 40 °C (n=3).

Tabla 2. Solubilidad en excipientes puros (mg/mL) a 25, 37 y 40°C e incremento de solubilidad de etoricoxib con respecto a la solubilidad acuosa (cada valor representa la media ± error estándar).

Excipiente	25°C	37°C	40°C	Incremento de solubilidad (25 °C)
Capryol® 90	77.96 ±1.64	74.27 ±1.59	82.41 ±2.91	974.5
Maisine®	31.54 ±4.18	12.62 ±0.64	33.03 ±2.94	394.25
Ac. Oleico	39.86 ±1.22	47.24 ±2.24	62.42 ±0.97	498.25
Tween 80	20.66 ±1.93	43.82 ±2.93	104.68 ±0.04	258.25
Labrasol®	85.28 ±1.82	86.67 ±3.03	99.14 ±4.98	1066
Labrafil M2130®	12.62 ±3.24	20.68 ±4.72	27.02 ±2.87	152
Transcutol HP®	147.5 ±1.79	183.8 ±0.03	149.52 ±0.71	1844.25
Agua	0.08 ±0.01	0.12 ±0.01	-----	1

Construcción de diagramas ternarios

De acuerdo con los resultados de solubilidad al equilibrio con diferentes excipientes lipídicos los diagramas ternarios a desarrollar como posibles SEDDS son los siguientes (aceite/surfactante/co-surfactante):

- A: Capryol 90®/Tween 80/Transcutol®HP
- B: Capryol 90®/Labrasol®/Transcutol®HP
- C: Ác. Oleico/Tween 80/Transcutol®HP
- D: Ác. Oleico/Labrasol®/Transcutol®HP

Para la selección de los puntos se elige el diseño de vértices extremos ya que este abarca solo una subporción dentro del sistema simplex y existe presencia de restricciones de límite inferior y superior sobre los componentes. Una vez determinados los excipientes lipídicos, se determinó la zona favorable de emulsificación de acuerdo con datos bibliográficos (Kallakunta et al., 2013; Singh et al., 2019; Truong et al., 2016; Kamble et al., 2016; Alqahtani et al., 2014; Song et al., 2013; Mahmoud et al., 2009). De esta manera, el diseño de vértices extremos elige puntos que abarcan adecuadamente el espacio seleccionado.

Las proporciones porcentuales de cada punto en los cuatro diagramas ternarios se muestran en la tabla 3.

Tabla 3. Proporciones de excipientes lipídicos en el diagrama ternario (%).

No.	Aceite	Surfactante	Co-surfactante
1	40	50	10
2	5	85	10
3	5	50	45
4	28	56	16
5	11	73	16
6	11	56	33
7	22.5	67.5	10
8	22.5	50	27.5
9	5	67.5	27.5
10	16	62	22

Es importante mencionar que una vez que las mezclas lipídicas fueron preparadas, estas mostraron una buena miscibilidad de los componentes sin separación de fases a temperatura ambiente por lo que ninguna de las mezclas fue descartada por inmiscibilidad, separación de fases o fenómenos de coalescencia.

Máxima capacidad de carga para mezclas lipídicas

Los resultados de la solubilidad máxima de etoricoxib en cada uno de los puntos (1-10) de los cuatro diagramas (A-D) se muestran en la figura 4 mientras que la tabla 4 muestra el incremento de solubilidad que tiene este fármaco con respecto a su solubilidad acuosa dejando ver que este tipo de sistemas lipídicos representan una buena alternativa para incrementar la solubilidad de fármacos Clase II SCB.

De acuerdo con estos resultados, se puede observar que el punto con la máxima solubilidad corresponde al B3 (ver figura 4) con un incremento de más de 1600 veces con respecto a la solubilidad acuosa del fármaco, esto probablemente debido a que este diagrama contiene el vehículo oleoso y el surfactante que mostraron un mayor incremento de la solubilidad (Capryol 90® y Labrasol®).

Por otra parte, el punto con menor solubilidad es el A2 el cual muestra un incremento de 595 veces con respecto al agua y la razón puede encontrarse en que es el punto que contiene una mayor cantidad de Tween 80 al igual que el punto C2. Tween 80 como excipiente puro exhibió el menor incremento de este parámetro (ver Figura 3).

En la figura 4 se aprecia que dentro del punto 2 tanto el diagrama A como el C muestran los menores incrementos de solubilidad y estos diagramas son los que incorporan Tween 80 como surfactante.

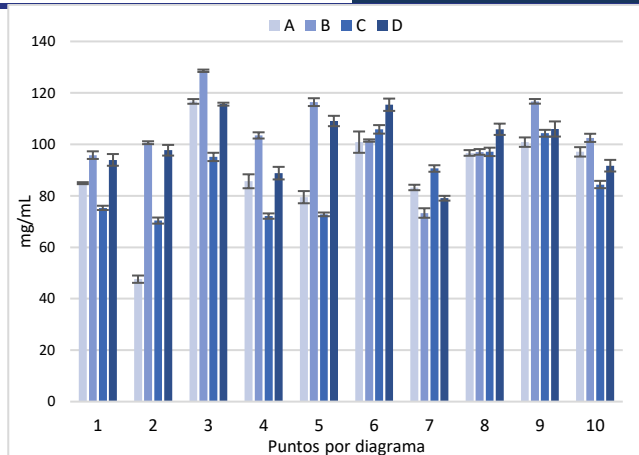


Figura 4. Solubilidad de etoricoxib (mg/mL) obtenida en los diez puntos de cada uno de los diagramas (A-D) propuestos.

Tabla 4. Incremento de solubilidad de etoricoxib con respecto a la solubilidad acuosa.

Puntos/ Diagrama	A	B	C	D
1	1061	1198	941	1174
2	595	1258	880	1221
3	1459	1607	1189	1445
4	1071	1293	902	1110
5	993	1455	910	1363
6	1261	1268	1323	1442
7	1040	916	1133	988
8	1208	1213	1213	1323
9	1261	1559	1304	1325
10	1213	1282	1055	1146

Dado que Transcutol® HP como excipiente puro fue quien arrojó los mayores incrementos de solubilidad de etoricoxib se esperaba que los puntos con mayores cantidades de este excipiente mostraran las más altas capacidades de carga en cada diagrama, y de acuerdo con lo que se muestra en la tabla 3 corresponden al punto 3, 6, 8 y 9. En efecto, el gráfico de la figura 4 revela que estos puntos presentan los resultados más altos de solubilidad del fármaco.

Tiempo de autoemulsificación 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.

Es importante mencionar que la agitación suave que se aplica en la prueba es un intento de simulación del movimiento peristáltico en el tracto gastrointestinal debido a que en este tipo de formulaciones el proceso de emulsificación no requiere un alto consumo de energía como aplicación de calor o una agitación vigorosa por lo que, se considera un proceso termodinámicamente espontáneo.

Dentro de esta prueba, el grado de turbidez; es decir, la apariencia física de la emulsión es un indicativo del tamaño de partícula ya que como se indica en el trabajo de Heshmati, et al., 2013, cuando las partículas o gotas tienen un tamaño nanométrico conservan la transparencia después de la dilución en un medio acuoso.

Como se mencionó anteriormente, los sistemas fueron clasificados en una escala 0-3 según su característica física de opacidad al momento de incorporar la fase lipídica a la acuosa. Los resultados de estas pruebas se presentan en la tabla 5.

Aquellos sistemas con emulsificación favorable fueron seleccionados para continuar con las pruebas de caracterización de tamaño de partícula y potencial zeta.

Con respecto a los tiempos de emulsificación obtenidos todos son menores a 130s por lo que se consideran favorables. Con respecto al grado de turbidez, los puntos del sistema A y C se encontraron transparentes lo cual es característico de microemulsiones. Este parámetro es un indicativo del tamaño de la partícula en la emulsión, se esperaría que las formulaciones catalogadas como clase 0 o 1 presenten un tamaño de partícula menor que las clasificadas en esta escala como 2 y/o 3.

En los cuatro diagramas los puntos 1, 4, 7, 8 y 10 no presentan emulsificación espontánea, al analizar las composiciones de estas mezclas de acuerdo con la tabla 3 corresponden a aquellos puntos con mayor cantidad de aceite.

Esto puede estar relacionado con el requerimiento de una mayor energía para superar la barrera ocasionada por la presencia de este excipiente. Dicho de otra manera, es posible que, para estas cantidades de aceite, el surfactante y co-surfactante no alcancen la proporción necesaria para producir una emulsión. Por lo tanto, se establece que este es un factor determinante para la correcta dispersión de estos sistemas en un medio acuoso.

Tabla 5. Prueba de autoemulsificación y tiempos de dispersión de las mezclas lipídicas en medio acuoso y grado de turbidez. (N.A. No Aplica debido a que no presenta formación de emulsión).

Puntos/ Diagrama	Tiempo de autoemulsificación / Grado de Turbidez			
	A	B	C	D
1	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
2	N.A.	20 s / 3	N.A.	16 s / 0
3	90 s / 0	24 s / 2	60 s / 0	33 s / 1
4	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
5	N.A.	20 s / 2	N.A.	30 s / 1
6	N.A.	N.A.	N.A.	26 s / 3
7	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
8	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
9	90 s / 0	26 s / 2	N.A.	21 s / 0
10	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.

Determinación de tamaño de partícula, PDI y potencial zeta

Los resultados de la prueba de tamaño de partícula, PDI y potencial zeta se muestran en la tabla 6. Las formulaciones que presentaron un proceso favorable de emulsificación espontánea (A3, A9, B2, B3, B5, B9, C3, D2, D3, D5, D6 y D9) fueron caracterizados a través de la evaluación del tamaño de partícula y de su potencial zeta. El tamaño de la partícula de la emulsión se encuentra relacionado con la velocidad de absorción y, por tanto, de la biodisponibilidad del fármaco. A medida que disminuye el tamaño de las gotas de una emulsión, se proporciona un área de superficie interfacial más grande, lo que facilita la descomposición enzimática de las gotas de lípidos por la lipasa pancreática. Por lo que la liberación del fármaco es más rápida y frecuente.

Uno de los parámetros de gran importancia es el índice de polidispersidad (PDI) pues nos da información sobre la homogeneidad del tamaño de las partículas dispersas en el medio. La polidispersidad es la relación entre la desviación estándar y el tamaño promedio de la partícula, lo cual significa la uniformidad del tamaño de partícula en la formulación. Cuanto mayor es el valor de polidispersidad, menor es la uniformidad (Dixit et al., 2010).

De acuerdo con Swarnakar, et al., 2019 un valor de PDI <0.3 se considera aceptable e indica una población homogénea de formulación lipídica. En cuanto a el resultado de la determinación de la polidispersidad, la formulación D6 representa el valor más bajo; por lo tanto, las gotas de emulsión más uniformes tras la

dilución a diferencia del punto B5 que arroja un resultado fuera de criterio de aceptación.

Sin incluir el punto B5, todos los puntos poseen valores aceptables tanto de tamaño de partícula como de PDI, sin embargo, estos resultados junto con los de potencial zeta, tiempo de emulsión y capacidad de carga son evaluados para seleccionar los puntos a evaluar en las pruebas de perfiles de disolución.

En general, los tamaños de partícula se encuentran entre 10-500 d.nm, el potencial zeta entre (-4.0) y (-16.43) mV y el PDI de 0.084-0.619.

Los resultados muestran que las emulsiones con el surfactante con mayor valor de HLB son aquellas que presentan un menor tamaño de partícula, es decir, el Tween 80 (HLB 15) forma nanoemulsiones (9.65 - 12.31 d.nm) mientras que cuando se emplea Labrasol como surfactante (HLB 12) las partículas poseen un tamaño mayor (98.10 - 500.4 d.nm), se puede decir que para estos sistemas, un HLB mayor proporcionará emulsiones con un menor tamaño de partícula. Esto puede ser explicado dado que cuando el carácter hidrofílico del surfactante es mayor, se favorece la interfase y también se reduce la energía necesaria para producir nanoemulsiones o/w además de que mejora su estabilidad, evitando agregaciones que podrían generar partículas de mayor tamaño (Almeida y Tippavajhala, 2019).

Como se mencionó en el análisis de la turbidez, se comprueba que existe una relación entre este parámetro y el tamaño de partícula ya que las formulaciones de los diagramas A y D se clasificaron como Transparentes (grado 0) y son las que muestran un tamaño de partícula menor, en cambio las formulaciones de los diagramas B y D varían en la escala desde grado 0 hasta 3 debido a que los tamaños de partícula son mayores.

El tamaño de la partícula está controlado principalmente por la naturaleza y la concentración de surfactante, generalmente, entre mayor concentración haya de este, el tamaño de la partícula será menor. En este caso, este concepto se cumple en el diagrama A ya que el punto A9 posee un porcentaje mayor de Tween 80 en la mezcla, mismo caso para el diagrama B en el punto B2 con 85% de surfactante en la formulación, al igual que el punto D2. En el caso del diagrama C sólo se cuenta con un punto por lo que no es posible hacer esta comparación.

Cuando la concentración del surfactante se incrementa y el tamaño de la partícula disminuye puede explicarse por la estabilización de las gotas de aceite como resultado de la localización de las moléculas de surfactante en la interfaz aceite-agua. Sin embargo, en algunos casos, el tamaño promedio de las partículas puede aumentar al

incrementar las concentraciones de surfactante lo cual puede atribuirse a la disrupción interfacial provocada por una mejor penetración de agua en las gotas de aceite mediada por el aumento de la concentración de surfactante y que conduce a la expulsión de las gotas de aceite a la fase acuosa (Dixit et al., 2010). De acuerdo con Constantinides, 1995, un SEDDS se considera eficiente en cuanto a este parámetro, si al ponerse en contacto con un medio acuoso se forma una fina emulsión con tamaños de partícula de menos de 5 µm y con una agitación suave. En este caso, los resultados son favorables.

Tabla 6. Tamaño de partícula, potencial zeta e índice de polidispersidad (PDI) de los puntos con resultados favorables de autoemulsificación.

Formulación	Tamaño de partícula (d.nm)	PDI	Potencial zeta (mV)
A3	10.62±0.37	0.209±0.04	-10.37±0.20
A9	9.65±0.21	0.133±0.02	-6.70±0.12
B2	195.37±1.07	0.297±0.01	-4.33±0.15
B3	230.10±7.76	0.257±0.003	-7.03±0.09
B5	500.4±21.23	0.619±0.04	-4.07±0.07
B9	216.20±1.69	0.295±0.03	-4.83±0.07
C3	12.31±0.12	0.228±0.02	-9.83±0.03
D2	98.10±2.75	0.162±0.004	-4.70±0.10
D3	110.13±1.73	0.154±0.01	-10.47±0.54
D5	130.37±1.34	0.118±0.01	-9.23±0.27
D6	175.97±0.71	0.084±0.002	-16.43±0.73
D9	98.21±1.48	0.137±0.01	-8.03±0.19

La determinación de potencial zeta por otra parte, se realiza para identificar la carga de las partículas e indica el grado de repulsión electrostática entre las partículas en una dispersión. Cabe mencionar que, en las mezclas propuestas en este trabajo, como en las formulaciones SEDDS convencionales la carga de la partícula es negativa debido a la presencia de ácidos grasos.

Algunos autores como Czajkowska-Kośnik, 2015; apuntan que las formulaciones de SEDDS con un potencial zeta superior a ± 30 mV se consideran estables y se previenen la agregación de las partículas. Los resultados de esta prueba para los sistemas evaluados no muestran valores de potencial zeta cercanos a este criterio (ver figura 5). El punto D6 es el que muestra el valor más cercano (-16.43 mV).

Es importante mencionar que, a pesar de estos resultados, las propuestas de sistemas SEDDS no pueden descartarse por esta prueba ya que la formación de las emulsiones ocurriría de manera espontánea *in situ*

después de su administración oral. Esto quiere decir que el proceso de formación de las partículas en la emulsión ocurrirá junto con el proceso de digestión y que el tiempo de residencia intestinal no será prolongado por lo que la estabilidad necesaria sería momentánea y el parámetro de potencial zeta no necesariamente es decisivo.

A pesar de esto, la carga negativa de las partículas es indicador de su capacidad de atravesar la mucosa que cubre las superficies epiteliales a lo largo de todo el tubo digestivo pues se ha demostrado que esta mucosa contiene subestructuras aniónicas como ácido siálico y ácido sulfónico que tienen carga neta negativa por lo que las micro- y nano-partículas que no poseen carga o que son negativas son capaces de atravesar esta barrera a diferencia de las partículas cargadas positivamente las cuales quedan inmovilizadas sin poder permear debido a estas interacciones iónicas (Suchaoin, et al., 2016). De acuerdo con los resultados obtenidos hasta este punto, para continuar con las pruebas de perfiles de disolución se seleccionan 5 puntos: A3, B3, C3, D3 y D6.

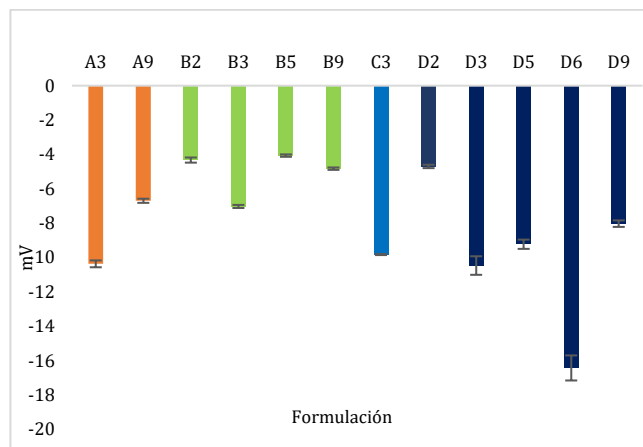


Figura 5. Caracterización de SEDDS por potencial zeta.

Estos puntos como se ha indicado poseen la misma proporción de excipientes variando el tipo de aceite y el surfactante y, dado que no se ha descartado ningún punto por alguna incompatibilidad en los excipientes, es importante continuar con el estudio incluyendo al menos un punto de cada diagrama. El punto D6 mostró una capacidad de carga máxima muy similar a D3 por lo que llama la atención la continuación de la evaluación de este punto además D6 resalta por su bajo PDI y por presentar el máximo valor de potencial zeta.

Conclusiones

A través de un análisis de solubilidad en excipientes lipídicos puros, se eligieron aquellos en donde se presenta un mayor incremento de la solubilidad de etoricoxib para desarrollar sistemas tipo SEDDS.

Las formulaciones lipídicas tipo SEDDS presentaron un incremento de solubilidad de hasta 1600 veces con respecto a la solubilidad acuosa de etoricoxib.

Después de la caracterización de este tipo de formulaciones, se eligen 5 mezclas diferentes (A3, B3, C3, D3 y D6) que de acuerdo con su caracterización son aptas para desarrollo de este tipo de formulaciones. El proceso de emulsificación espontánea ocurre en menos de 90 segundos, con tamaños de partícula inferiores a 250 d.nm y potenciales zeta de -7.03 a -16.43 mV.

Al mejorar la propiedad fisicoquímica de solubilidad acuosa, se espera que con el empleo de estos sistemas SEDDS aumente la velocidad de disolución y de absorción de este fármaco.

Agradecimientos

Agradecemos a CONACYT por la beca otorgada para los estudios de posgrado con número de apoyo 723227 inscrito en el PNPIC No. 001546. Así mismo, a la Universidad Autónoma Metropolitana por el apoyo económico. Un agradecimiento especial a Químicos Lyontec S. de R.L. de C.V. de México quien donó parte de la materia prima esencial para el desarrollo de este proyecto y a Helm S.A. de México por la donación del activo etoricoxib.

Referencias

- Alqahtani S., Alayoubi A., Nazzal S., Sylvester P.W., Kaddoumi A., (2014) Enhanced Solubility and Oral Bioavailability of γ -Tocotrienol Using a Self-Emulsifying Drug Delivery System (SEDDS). *Lipids* 49, 819-829.
- Almeida, S. R. D., & Tippavajhala, V. K. (2019). A Rundown Through Various Methods Used in the Formulation of Solid Self-Emulsifying Drug Delivery Systems (S-SEDDS). *AAPS PharmSciTech*, 20(8), 323.
- Atef E, Belmonte A. (2008) 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.
- Chaudhary A., Nagaich U., Gulati N., Sharma V.K., Khosa R. L., Partapur M.U. (2012). Enhancement of solubilization and bioavailability of poorly soluble drugs by physical and chemical modifications: A recent review. *J Adv Pharm Educ Res*, 2(1), 32-67.
- Chauhan B., Shimpi S., Paradkar A. (2005). Preparation and characterization of etoricoxib solid dispersions using lipid carriers by spray drying technique. *AAPS pharmscitech*, 6(3), E405-E409.
- Chavda H.V., Patel C.N. Anand I.S. (2010) Biopharmaceutics Classification System. *Systematic Reviews in Pharmacy*, 1(1), 62-69

- Constantinides P.P. (1995) Lipid Microemulsions for improving drug dissolution and oral absorption: Physical and Biopharmaceutical Aspects. *Pharmaceutical Research*, 12(11), 1561-1572.
- Czajkowska-Kośnik A. (2015). Development and Evaluation of Liquid and Solid Self-Emulsifying Drug Delivery Systems for Atorvastatin. *Molecules*, 20(12), 21010 - 21022.
- Dani P., Puri, V., Bansal, A. K. (2014). Solubility advantage from amorphous etoricoxib solid dispersions. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 40(1), 92-101.
- Das A., Nayak A.K., Mohanty B., Panda S. (2011). Solubility and dissolution enhancement of etoricoxib by solid dispersion technique using sugar carriers. *ISRN pharmaceuticals*, 2011.
- Dixit A.R., Rajput S.J., Patel, S.J. (2010) Preparation and bioavailability assessment of SMEDDS containing valsartan. *AAPS PharmSciTech*, 11(1), 314-321.
- Feeney O.M., Crum M.F., McEvoy C.L., Trevaskis N.L., Williams H.D., Pouton C.W., Charman W.N., Bergstrom C.A.S., Porter C.J.H., (2016) 50 years of oral lipid-based formulations: Provenance, progress and future perspectives. *Adv Drug Delivery Reviews*, 101, 167-194.
- Fonseca, V. R., Bhide, P. J. Joshi, M. P. (2019). Formulation, Development and Evaluation of Etoricoxib Nanosize Microemulsion Based Gel for Topical Drug Delivery. *Indian Journal Of Pharmaceutical Education And Research*, 53(4), S571-S579
- Heshmati N., Cheng X., Eisenbrand G., Fricker, G., (2013). Enhancement of oral bioavailability of E804 by Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System (SNEDDS) in rats. *J of Pharmaceutical Sciences*, 102(10), 3792-3799.
- Hywel D.W., Trevaskis N.L., Charman S.A., Shanker R.M., Charman W.N., Pouton C.W., Porter J.H. (2013) Strategies to Address Low Drug Solubility in Discovery and Development. *Pharmacological reviews*, 65 (1), 320-325, 328-334.
- Kallakunta V.R. Eedara B.B., Jukanti R., Ajmeera R.K., Bandari S. (2013) A Gelucire 44/14 and labrasol based solid self-emulsifying drug delivery system: formulation and evaluation. *J of Pharmaceutical Investigation* 43, 185-196.
- Kamble R.N., Metha P.P., Kumar A. (2016) Efavirenz Self-Nano-Emulsifying Drug Delivery System: In Vitro and In Vivo Evaluation. *AAPS PharmSciTech* 17, 1240-1247.
- Mahmoud E.A., Bendas E.R., Mohamed M.I. (2009) Preparation and Evaluation of Self-nanoemulsifying Tablets of Carvedilol. *AAPS PharmSciTech* 10, 183-192.
- Nayak, A.K., Panigrahi P.P. (2012). Solubility enhancement of etoricoxib by cosolvency approach. *ISRN Physical Chemistry*, 2012.
- Qureshi MJ, Mallikarjun C, Kian WG. (2015) 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.
- Rathbone M.J., Hadgraft J., Roberts M. (2008) Modified-Release Drug Delivery Technology, 1, 2a Ed. CRC Press p. 269-278.
- Sapakal S.B., Adhao V.S., Thenge R.R., Darakhe R.A., Shinde S.A., Shrikhande V.N. (2020). Formulation and Characterization of Solid Dispersions of Etoricoxib Using Natural Polymers. *Turkish J of PS*, 17(1), 7.
- Song W.H., Park J.H., Yeom D.W., Ahn B.K., Lee K.M., Woo S.H., Choi Y.W. (2013) Enhanced dissolution of celecoxib by supersaturating self-emulsifying drug delivery system (S-SEDDS) formulation. *Archives of Pharmacal Research* 36, 69-78.
- Singh D., Tiwary A.K., Bedi N. (2019) Canagliflozin loaded SMEDDS: formulation optimization for improved solubility, permeability and pharmacokinetic performance. *J of Pharmaceutical Investigation*, 49, 67-85.
- Suchaoin W. (2016) Development and in vitro evaluation of zeta potential changing self-emulsifying drug delivery systems for enhanced mucus permeation. *International Journal of Pharmaceutics*, 510(1), 255-262.
- Swarnakar N. K., Venkatesan N., Betageri G., (2019) Critical In vitro Characterization Methods of Lipid-Based Formulations for oral delivery: a comprehensive review, *AAPS Pharmaceutical Sciences Technology*, 20(16).
- Tripathi C.B., Gupta N., Kumar P. (2018) ω -3 Fatty Acid Synergized Novel Nanoemulsifying System for Rosuvastatin Delivery: In Vitro and In Vivo Evaluation. *AAPS PharmSciTech* 19, 1205-1218
- Truong D.H., Tran T.H., Ramasamy T., Choi J.Y., Lee H.H., Moon C., Choi H., Yong C.S., Kim J.O. (2016) Development of Solid Self-Emulsifying Formulation for Improving the Oral Bioavailability of Erlotinib. *AAPS PharmSciTech* 17, 466-473.
- Vasava S.S., Chotai, N.P., Patel H.K. (2015). Formulation and evaluation of nanosuspension drug delivery system of etoricoxib. *Pharma Science Monitor*, 6(1), 10-27.
- Vemula V.R., Lagishetty V., Lingala S. (2010). Solubility enhancement techniques. *International J of pharmaceutical sciences review and research*, 5(1), 41-51.