



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS
FACULTAD DE FARMACIA

**Desarrollo y caracterización de una formulación
autoemulsificante para Dapsona**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRO EN FARMACIA**

Presenta:

L. F. Nancy Sarahy Gaytán Barrientos

DIRECTORES DE TESIS:

Dr. Efrén Hernández Baltazar

Dr. Jesús Rivera Islas

Cuernavaca, Morelos, 2019



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD DE FARMACIA
Consejo Interno de Posgrado

MAESTRÍA EN FARMACIA

Cuernavaca, Morelos a 15 de marzo de 2019
Folio: FF/D/Sac/ CIP /MF/042/2019

L.F. NANCY SARAHY GAYTAN BARRIENTOS
ESTUDIANTE DEL PROGRAMA DE MAESTRÍA EN FARMACIA
P R E S E N T E

Por este medio le informo que, con base en la propuesta hecha en su solicitud, el Consejo Interno de Posgrado le asigno el siguiente jurado para evaluar la tesis **“Desarrollo y caracterización de una formulación autoemulsificante para Dapsona”**

Quedando integrado su comité de la siguiente manera:

PRESIDENTE: Dra. Adriana Valladares Méndez

SECRETARIO: Dr. Sergio Alcalá Alcalá

V.1. Dra. Virginia Flores Morales

V.2. Dr. Jorge Armando Moreno Escobar

V.3. Dra. Karina Mondragón Vásquez

Se le solicita entregar las tesis al jurado designado y dar fluidez a los trámites como se indica en el manual de procedimientos.

Esperando que esta resolución sea en beneficio de su desempeño académico, y sin otro particular por el momento reciba un cordial saludo.

Atentamente
Por una humanidad culta
Una universidad de excelencia

Dr. Julio César Rivera Leyva.

Jefatura de Posgrado



ccp: Dra. Adriana Valladares Méndez, Dr. Sergio Alcalá Alcalá, Dra. Virginia Flores Morales, Dr. Jorge Armando Moreno Escobar,
Dra. Karina Mondragón Vásquez

mitv

**UA
EM**

Una universidad de excelencia

RECTORÍA
2017-2023

Agradecimientos Institucionales

El presente trabajo se realizó en el laboratorio 1 y 4 de la Facultad de Farmacia en la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, bajo la codirección de tesis del Dr. Efrén Hernández Baltazar y el Dr. Jesús Rivera Islas.

Agradezco al CONACyT la beca para estudios de posgrado con número de registro 623092, al proyecto BIONOVA-2015-221965 y PRODEP 103.5/14/10994.

Dedicatorias

Este proyecto se lo dedico principalmente a las mujeres de mi vida a mi mamá *Sara Barrientos Ramírez* y mi hija *Aitana Portillo Gaytán* que fueron mi más grande motivo para poder terminar esta etapa. Son y siempre lo serán mi más grande pilar en la vida. Las amaré hasta mi último suspiro.

A mi familia y amigos que siempre estan al pendiente de mi, gracias por su valioso cariño.

Agradecimientos

A la Facultad de Farmacia por recibirme y permitirme cursar mis estudios de posgrado en sus instalaciones.

A mi comité tutorial conformado por el Dr. Sergio Alcalá Alcalá y el M.F. Edgar Barrera Bautista por sus valiosas aportaciones hacia el proyecto.

A mis directores de tesis, el Dr. Efrén Hernández Baltazar y al Dr. Jesús Rivera Islas por todo el apoyo brindado para la realización del proyecto.

En especial agradezco al Dr. Jesús Rivera Islas por los consejos brindados, por las enseñanzas, pero sobre todo por brindarme su amistad.

A Paul G.C. por el apoyo económico brindado.

A la vida el haberme encontrado una hermana como tú Areli Mastache Juárez, gracias por siempre apoyarme y alentarme en todo, te amo.

A mis compañeros y amigos del laboratorio que hicieron mas amena mi estancia.

I. Índice general	
I. ÍNDICE GENERAL	I
II. ÍNDICE DE FIGURAS	III
III. ÍNDICE DE TABLAS	IV
IV. ABREVIATURAS	V
V. ESTRUCTURAS QUÍMICAS	VI
1. RESUMEN	1
2. ABSTRACT	2
3. INTRODUCCIÓN	3
4. ANTECEDENTES	4
4.1 DAPSONA	4
4.1.1 Características fisicoquímicas de dapsona	5
4.1.2 Farmacocinética y farmacodinamia	6
4.2 LEPRO Y SU DISTRIBUCIÓN	8
4.2.1. Tratamiento de la lepra	9
4.3 FORMULACIONES FARMACÉUTICAS BASADAS EN LÍPIDOS	11
4.3.1 Formulaciones emulsificantes	13
4.3.2 SISTEMAS DE LIBERACIÓN DE FÁRMACOS AUTO-EMULSIFICANTES (SEDDS)	16
4.3.2.1 Componentes esenciales	17
4.3.2.2 Ventajas de los SEDDS	19
4.3.2.3 Relevancia científica y comercial de los SEDDS	20
4.6 NANOEMULSION DE DAPSONA.....	22
5. JUSTIFICACIÓN	24
6. HIPÓTESIS	25
7. OBJETIVOS	25
7.1. OBJETIVO GENERAL.....	25
7.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	25
8. METODOLOGÍA	26
8.1. EQUIPOS Y REACTIVOS.....	26
8.2. SELECCIÓN DE LOS COMPONENTES DEL PROYECTO	27
8.3. SOLUBILIDAD DE DDS EN LOS DIFERENTES COMPONENTES.....	27
8.4. DETERMINACIÓN DE LA MISCIBILIDAD ENTRE LÍPIDOS, TENSOACTIVOS Y CO- TENSOACTIVOS	28
8.5. DESARROLLO DE LOS DIAGRAMAS DE FASE PSEUDO-TERNARIOS	29
8.5.1. DDE con vértices extremos	29
8.5.2. Método de titulación del agua	30
8.6. CARACTERIZACIÓN DE LAS FORMULACIONES.....	30

8.6.1. Determinación de tamaño de partícula e índice de polidispersión	30
8.7. SOLUBILIDAD DE DDS EN LOS SISTEMAS AUTOEMULSIFICANTES	30
8.8. ESTUDIOS DE PERFIL DE LIBERACIÓN <i>IN VITRO</i>	30
8.8.1. Procedimiento para la liberación del fármaco	31
8.8.2 Curvas de calibración para cuantificación de DDS	32
9. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	33
9.1 SOLUBILIDAD APARENTE DE DDS	33
9.2. MISCIBILIDAD DE LOS COMPONENTES SELECCIONADOS.....	34
9.3. EVALUACIÓN POR EL DDE VÉRTICES EXTREMOS	36
9.4 EVALUACIÓN POR EL MÉTODO DE TITULACIÓN DEL AGUA.....	42
9.5. ESTUDIOS DE LIBERACIÓN <i>IN VITRO</i>	44
10. CONCLUSIONES	48
11. PERSPECTIVAS DEL PROYECTO	49
12. REFERENCIAS	50
13. ANEXOS	58

II. Índice de Figuras

Figura 1. Estructura química del fármaco antilepra dapsona.	4
Figura 2. Celda unitaria de DDS en archivo DAPSUO03 [CCDC, marzo, 2017].	5
Figura 3. Nuevas Fases Sólidas de DDS. a) Derivados con L-aminoácidos, b) derivados sililados, c) sales farmacéuticas y d) co-cristales.	6
Figura 4. Metabolismo hepáticos de DDS.	7
Figura 5. Pasos en el metabolismo del folato bloqueados por las sulfonamidas y la trimetoprima.	8
Figura 6. Caso clínico de un hombre de 36 años que presenta lesiones maculares, hipercrómicas y nodulares [Toro et al, 2014].	10
Figura 7. Tipos más comunes de emulsiones.	13
Figura 8. Escala HLB de Griffin [1949].	14
Figura 10. Transporte linfático de fármaco disuelto en lípidos.	18
Figura 11. Número de publicaciones anuales sobre SEDDS entre 1992-2018. Información obtenida de web of science, 5 de diciembre de 2018.	20
Figura 12. Dispositivo para realizar prueba de liberación in vitro.	31
Figura 13. Solubilidad de DDS a temperatura ambiente.	33
Figura 14. Miscibilidad de la mezcla binaria de vitamina E y tween 20 después de la agitación (a) y en reposo (b) de las proporciones 30:70, 50:50 y 70:30.	34
Figura 15. Miscibilidad de la mezcla binaria de vitamina E y propilenglicol después de la agitación (a) y en reposo (b) de las proporciones 30:70, 50:50 y 70:30.	34
Figura 16. Miscibilidad de la mezcla binaria de vitamina E y PEG 400 después de la agitación (a) y en reposo (b) de las proporciones 30:70, 50:50 y 70:30.	35
Figura 17. Miscibilidad de la mezcla binaria de vitamina E y tween 80 después de la agitación (a) y en reposo (b) de las proporciones 30:70, 50:50 y 70:30.	35
Figura 18. Miscibilidad de la mezcla binaria de vitamina E y transcutool después de la agitación (a) y en reposo (b) de las proporciones 30:70, 50:50 y 70:30.	35
Figura 19. Diagramas pseudoternario y matriz experimental del DDE de mezclas con vértices extremos.	36
Figura 20. Apariencia visual de las formulaciones con vitamina E + tween80-transcutool 1:1 + HCl _{ac} .	36
Figura 21. Apariencia visual de las formulaciones con vitamina E + tween 80-transcutool 1:1 + HCl _{ac} .	37
Figura 22. Apariencia visual de las formulaciones con vitamina E + tween 80:transcutool 3:1 + HCl _{ac} .	38
Figura 23. Diagrama de fase ternario y matriz experimental de los sistemas lipídicos propuestos.	39
Figura 24. Formulaciones evaluadas con vitamina E, tween 80:transcutool 1:1.	39
Figura 25. Formulaciones dispersadas en medio acuoso ácido, correspondientes a las mostradas en la figura 24.	40
Figura 26. Solubilidad aparente de DDS en las diferentes formulaciones.	40
Figura 27. Comparación de los valores de talla de las formulaciones con y sin fármaco.	41
Figura 28. Comparación de los valores de PDI de las formulaciones con y sin fármaco.	42
Figura 29. Diagrama de fase pseudoternario de la mezcla vitamina E + tween 80:transcutool 1:1 de	43
Figura 30. Curva de cuantificación de DDS en HCl _{ac} .	45
Figura 31. Perfil de liberación del fármaco.	46
Figura 32. Fotografías del medio de liberación de las formulaciones F6 y F7 al término del experimento de liberación in vitro.	47

III. Índice de Tablas

Tabla 1. Velocidad de disolución de ejemplos de NFS.	6
Tabla 2. Clasificación de la Lepra.	9
Tabla 3. Tratamiento para Lepra multibacilar y paucibacilar.	10
Tabla 4. Formas farmacéuticas de Dapsona.	11
Tabla 5. Sistema de clasificación de formulaciones lipídicas.	12
Tabla 6. Ejemplos de diferentes sistemas de administración de fármacos auto-emulsionantes.	21
Tabla 7. Clasificación de las formulaciones y caracterización a tiempo cero y a 90 días de almacenamiento bajo condiciones de estrés.	22
Tabla 8. Componentes de SEDDS y sus valores de HLB.	27
Tabla 9. Valores de peso molecular y densidad de los componentes seleccionados.	28
Tabla 10. Relación de proporciones binarias para vitamina E y propilenglicol.	28
Tabla 11. Relación de proporciones binarias para vitamina E y tween 20.	28
Tabla 12. Relación de proporciones binarias para vitamina E y tween 80.	28
Tabla 13. Relación de proporciones binarias para vitamina E y PEG 400.	29
Tabla 14. Relación de proporciones binarias para vitamina E y transcutool.	29
Tabla 15. Valores de talla y Pdl de las formulaciones con vitamina E + tween 80:transcutool 1:1 + HCl _{ac} .	37
Tabla 16. Valores de talla y Pdl de las formulaciones con vitamina E + tween 80:propilenglicol 1:1 + HCl _{ac} .	38
Tabla 17. Proporciones, talla y Pdl de las mezclas Lípido:Ts-Cs (3:1).	43
Tabla 18. Proporciones, talla y PDI de las mezclas Lípido:Ts-Cs (1:3).	44
Tabla 19. Parámetros de regresión.	45

IV. Abreviaturas

A

Ampere

BB

Borderline

BCS

Biopharmaceutical Classification System

BL

Borderline Lepomatosa

BT

Borderline Tuberculoide

CAS

Chemical Abstracts Service

CCDC

Centro de Datos Cristalográficos de Cambridge

Cd

Co-disolvente

CM

Capmul MCM:myvacet

cm

Centímetros

Cs

Co-tensoactivo

CPM

Capmul MCM:tween 80 (30:70):myvacet

CP-P80

Capryol 90:tween 80 (30:70):myvacet

CPS

Centromix CPS:butanol (67:33):myvacet

DAP-NOH

Dapsona Hidroxilada

DDS

Dapsona

DDS-CAF-1

Dapsona-cafeina 1

DDS-FLA

Dapsona-flavona

DDSGA

Dapsona-ácido glucurónico

DDS-HBZ

Dapsona-2(3H)-benzotiazolona

DDS-LUT

Dapsona-luteolina

DDS-SUL

Dapsona-sulfanilamida

e.g,

gramos

g

gramos

G6PD

Glucosa -6- fosfato-deshidrogenasa

HLB

Balance hidrofílico-lipofílico

HCl

Ácido clorhídrico

I

Indeterminada

INF-γ

Interferon gamma

Kg

Kilogramos

L

Litros

LBM

Lecitina:butanol (67:33):myvacet

LCT

Triglicéridos de cadena larga

LL

Lepomatosa

M

Masa molar de la molécula

m

Metro

MADDS

Monoacetildapsona

MCT

Triglicéridos de cadena media

MD-I

Mesilato de dapsona monohidratada

MD-II

Mesilato de dapsona, polimorfo II

ME

Microemulsión

mg

Miligramos

μg

Microgramos

Mh

Masa molar de la parte hidrofílica

MI

Método de incorporación

min

Minutos

mN

MiliNewton

NADP

Nicotinamida-Adenina-Dinucleótido-Fosfato (oxidada)

NADPH

Nicotinamida-Adenina-Dinucleótido-Fosfato (reducida)

NE

Nanoemulsion

NFS

Nuevas Fases Sólidas

ng

Nanogramos

nm

Nanómetro

NOM

Norma Oficial Mexicana

o

Oil

OMS

Organización Mundial de la Salud

PdI

Índice de polidispersión

PM

Peso molecular

s

Segundos

SEDDS

Self-emulsifying Drug Delivery System

SMEDDS

Self-microemulsifying Drug Delivery System

SNEDDS

Self-nanoemulsifying Drug Delivery System

TD-I

Tosilato de dapsona, forma I

TD-II

Tosilato de dapsona, forma II

TGI

Tracto gastrointestinal

Ts

Tensoactivo

TT

Tuberculoide

UDP-GA

Ácido urinia 5'-difosfoglucurónico

UGT

Glucuronosiltransferasa

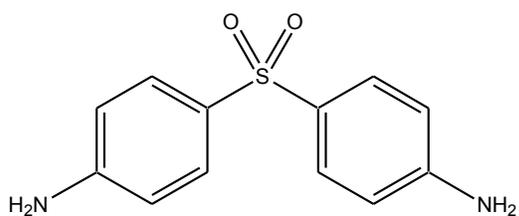
UV-vis

Ultravioleta visible

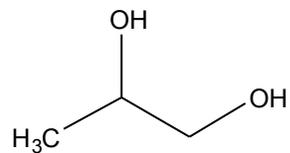
w

Water

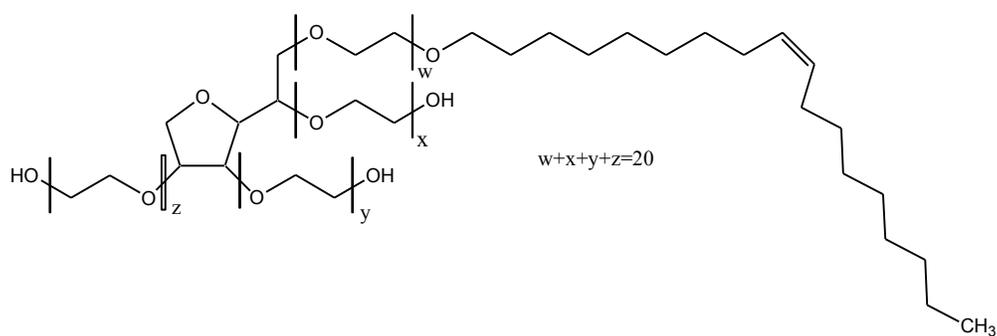
V. Estructuras químicas



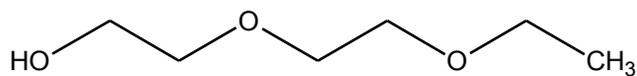
Dapsona (DDS)



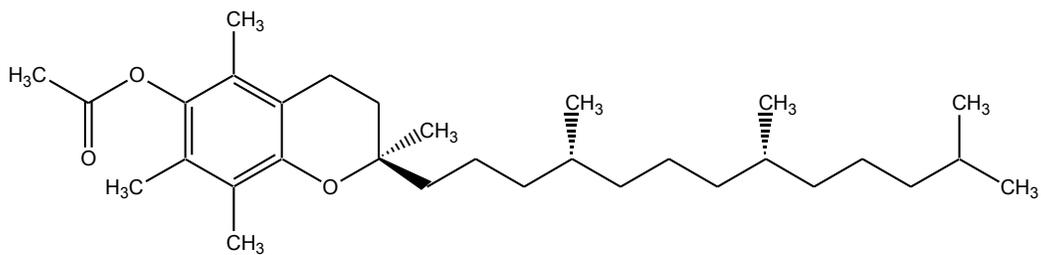
Propilenglicol



Tween 80



Transcutol



Acetato de vitamina E

1. Resumen

La vía de administración de medicamentos de mayor elección es la vía oral; sin embargo, muchos medicamentos se ven afectados por la generación de metabolitos durante el metabolismo de primer paso. Tal es el caso de dapsona, fármaco de primera elección para el tratamiento de la lepra. Pertenece a la clase II del Sistema de Clasificación Biofarmacéutica (SCB) y se considera una sulfonamida debido a su mecanismo de acción dirigido a la inhibición de la síntesis del ácido fólico. Debido a su baja solubilidad acuosa se requieren dosis altas para alcanzar el efecto terapéutico. Lo cual incrementa la incidencia de efectos adversos como la metahemoglobinemia.

El desarrollo de sistemas basados en lípidos comprenden desde las soluciones lipídicas hasta soluciones micelares acuosas, las cuales son una alternativa para la formulación de fármacos clase II y IV. Dentro de las emulsiones se encuentran las mezclas llamadas Sistemas de Liberación de Fármacos Auto-emulsificantes (SEDDS, por sus siglas en inglés). Estos son mezclas isotrópicas, físicamente estables y que utilizan ingredientes como lípidos, tensoactivos, co-tensoactivo/co-disolvente y fármaco. Son formulaciones adecuadas para su administración oral en cápsulas de gelatina blanda o dura. Se caracterizan por formar emulsiones finas de tipo aceite en agua (o/w) cuando se dispersan en una fase acuosa bajo agitación moderada.

En el presente trabajo se aborda el diseño de los estudios de formulación de un sistema autoemulsificante para dapsona, basado en la solubilidad del fármaco en los componentes de la formulación y en los sistemas autoemulsificantes propuestos. Para la preparación y la caracterización se emplearon diseños experimentales de vértices extremos y el método de titulación del agua. Se generaron los diagramas de fase pseudoternarios y se analizó el tamaño de partícula de las formulaciones. Finalmente, se determinó el perfil de liberación del fármaco para las formulaciones F6 y F7 en una solución acuosa de HCl_{ac} pH 1.2 mediante el uso de membranas de diálisis y la cuantificación del fármaco se evaluó por espectroscopía UV-vis a una longitud de onda de 290 nm. Liberando un 50 % de la dosis en un lapso de 3 horas.

2. Abstract

The preferred route of administration of drugs is the oral route, however, many drugs are affected by the generation of metabolites during the first pass metabolism. It is the case of dapson, the drug of first choice for the treatment of leprosy. Dapson belongs to Class II of the Biopharmaceutical Classification System (BCS) and is considered a sulfonamide-like due to its mechanism of action led to the inhibition of the folic acid synthesis. As a consequence of its poor water-solubility it is required a high doses to achieve the therapeutic effect. The high doses and the toxic metabolites increase the incidence of adverse effects such as methemoglobinemia.

The development of lipid-based systems is an alternative for the formulation of drugs Class II and IV. Within the emulsions are mixtures called Self-emulsifying Drug Delivery Systems (SEDDS). These are physically stable isotropic mixtures of lipids, surfactants, co-surfactants/co-solvents, and drugs. SEDDS are suitable for the oral route in soft or hard gelatin capsules. They typically generate fine oil-in-water (o/w) emulsions when they are dispersed in an aqueous medium under gentle agitation.

The present study aimed to the design for the formulation studies of a self-emulsifying systems for dapson. These studies are based on the drug solubility in the formulation components and the self-emulsifying systems behavior experimentally observed. For the preparation and characterization we employed experimental design (DOE) and the method of titration with water. Hence we generated pseudo-ternary phase diagrams and analyzed the particle size of the dispersion. Finally, the release profile for formulations F6 and F7 was carried out in aqueous solution of HCl_{ac} pH 1.2 using dialysis membranes as container. The drug quantification was evaluated by UV-vis spectroscopy at a wavelength of 290 nm. Releasing the 50 % of the dose within 3 hours.

3. Introducción

Dapsona es un fármaco que se encuentra dentro de la Clase II del Sistema de Clasificación Biofarmacéutica debido a su baja solubilidad y alta permeabilidad. Es el fármaco de primera elección para el tratamiento de la lepra; sin embargo, se prescribe en un régimen de polifarmacia. Su baja solubilidad acuosa repercute en la dosis requerida para lograr el efecto terapéutico. Por lo que se administran altas dosis causando efectos adversos no deseados.

El poco interés en la generación de nuevas formas farmacéuticas para dapsona nos ha llevado a desarrollar un diferente tipo de formulación a las encontradas en el mercado, con el fin de generar una formulación que mejore su solubilidad acuosa y disminuya sus efectos secundarios.

El presente trabajo propone la generación de una nueva formulación autoemulsificante para dapsona empleando vitamina E como agente lipídico, tween 80 como agente emulsificante y transcutool como agente co-tensoactivo; que sea capaz de modificar la solubilidad acuosa del fármaco mediante una previa solubilización del fármaco en el sistema, y posiblemente, impactar en la dosis requerida para lograr el efecto terapéutico.

En el capítulo de antecedentes se detallan los aspectos farmacológicos de dapsona, así como algunos métodos empleados para mejorar la solubilidad acuosa de fármacos Clase II y IV, así como las estrategias empleadas para el fármaco mismo. En el capítulo de metodología se describen los métodos empleados para alcanzar los objetivos propuestos en el proyecto. Finalmente, el capítulo de resultados presenta la información sobresaliente acerca de la obtención de los sistemas autoemulsificantes, la caracterización del tamaño de partícula y el perfil de liberación *in vitro*.

4. Antecedentes

4.1 Dapsona

La Dapsona (4-(4-aminofenil) sulfonilanilina, DDS) es un fármaco empleado como bacteriostático y leprostático (figura 1). Sintetizado por primera vez por Emmil Fromm y Jacob Wittman [1908] mediante la síntesis de las sulfonas a partir del *p*-nitrotiofenicol. Hasta 1937 se comenzó a usar como agente antibacteriano en el tratamiento de infecciones estreptocócicas [Fourneau *et al*, 1937], al mismo tiempo se intentó demostrar su efecto anti-inflamatorio sin obtener éxito alguno. En ese mismo año surgió un derivado de las sulfonas, la sal glucosulfona de sodio, con el nombre comercial “Promin®” [Cowdry & Ruangsiri, 1940].

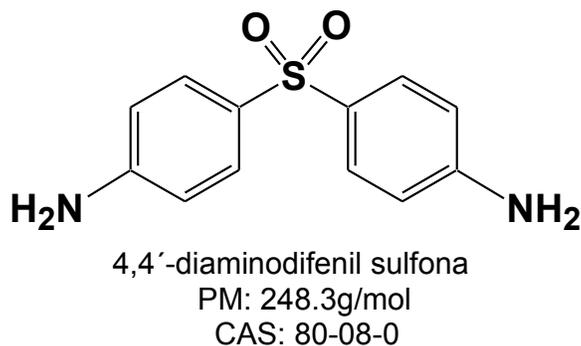


Figura 1. Estructura química del fármaco antilepra dapsona.

Debido a su acción bacteriostática, DDS se comenzó a usar como una suspensión a base de aceite de coco administrada de manera intravenosa contra *Mycobacterium leprae*, para el tratamiento de la lepra en 1945, y fue probada en 100 pacientes durante un año [Cochrane *et al*, 1949; Molesworth *et al*, 1949]. Sin embargo, fue hasta 1949 cuando se administró DDS por vía oral [Wozel, 1989]. Posteriormente, se comenzó a usar en el tratamiento de la dermatitis herpetiforme [Esteves & Brandao, 1950], dermatitis pústular subcórnea [Sneddon & Wilkinson, 1956] y otras dermatosis poco comunes. Además se ha probado para el tratamiento de las siguientes enfermedades: lupus eritematoso, sarcoma de Kaposi, psoriasis pustular, granuloma facial, acné y otros desórdenes asociados. No obstante, la mayoría de estos usos aún no han sido aprobados [Wolf *et al*, 2000; Sánchez-Saldaña 2008].

4.1.1 Características fisicoquímicas de dapsona

DDS es un polvo cristalino de color blanco a amarillo pálido sin olor, muy poco soluble en agua (0.16 mg/L), ligeramente soluble en etanol y muy soluble en acetona; posee un valor de logP de 0.97 [Lam *et al*, 2010; DrugBank, 2018]. Posee dos valores de pKa 6.25 y 8.69, los cuales son atribuidos a las aminas de su estructura química. También posee una estructura cristalina dirigida por interacciones de puente de hidrógeno entre el grupo sulfona (O=S=O) y los grupos amino (NH₂) con una distancia N-H...O=S de 1.98(9) Å como se muestra en la figura 2.

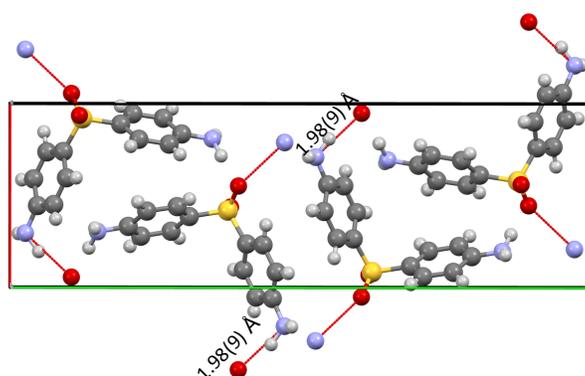


Figura 2. Celda unitaria de DDS en archivo DAPSU003 [CCDC, marzo, 2017].

La baja solubilidad acuosa se debe a la fuerte unión entre las moléculas enlazadas principalmente por puentes de hidrógeno (figura 2). La fuerza de los puentes de hidrógeno se observa en su distancia, siendo en este caso intensos porque son menores a 2 Å. Por lo que se requiere mayor energía para romper la estructura cristalina.

El fármaco ha sido objeto de la implementación de las estrategias tradicionales para incrementar su solubilidad acuosa. Dichas estrategias son el desarrollo de nuevas fases sólidas (NFS), tales como derivados del fármaco con *L*-aminoácidos y sililados [Pochopin *et al*, 1995; Lin *et al*, 2014], sales convencionales (e.g. clorhidrato) [Lam *et al*, 2010], sales con ácidos sulfónicos [Flores-Pacheco *et al*, 2019; Gaytán-Barrientos *et al*, 2016] y co-cristales [Jiang *et al*, 2014]. Algunos ejemplos se muestran en la figura 3.

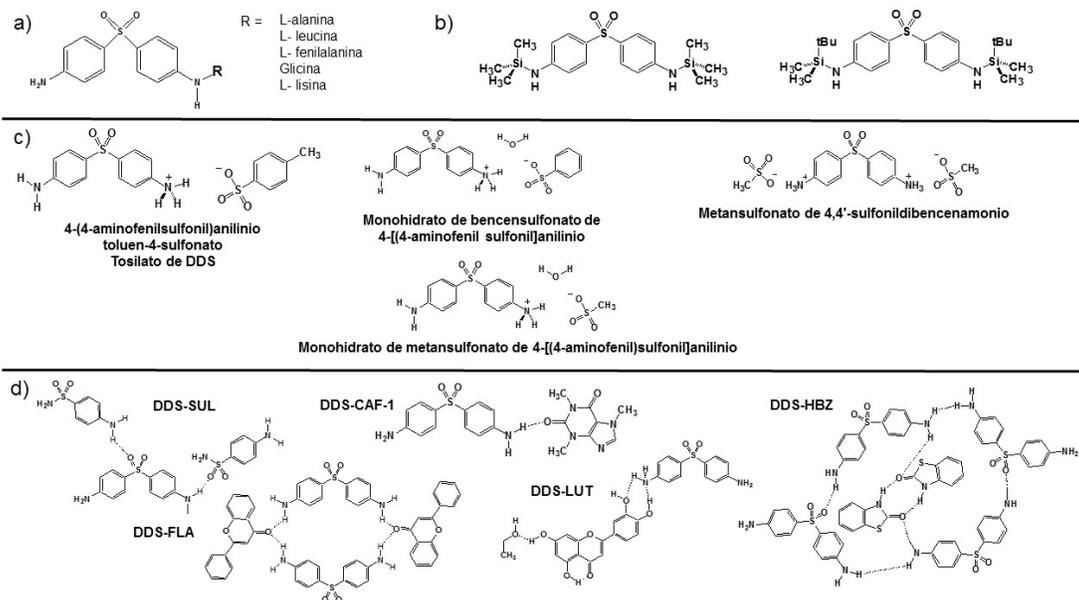


Figura 3. Nuevas Fases Sólidas de DDS. a) Derivados con L-aminoácidos, b) derivados siliados, c) sales farmacéuticas y d) co-cristales.

En la tabla 1 se muestran los valores de velocidad de disolución de algunas de las NFS mencionadas anteriormente. A pesar de que las estrategias han mejorado algunas de las propiedades biofarmacéuticas de DDS, como la velocidad de disolución, se requieren varios estudios de preformulación antes de llevar a cabo una nueva forma farmacéutica.

Tabla 1. Velocidad de disolución de ejemplos de NFS.

Fase sólida	Velocidad de disolución intrínseca	Razón	Referencia
DDS	98.9 ¹	1	Jiang <i>et al</i> , 2014
DDS-SUL	70.6 ¹	0.71	Jiang <i>et al</i> , 2014
DDS-FLA	46.6 ¹	0.47	Jiang <i>et al</i> , 2014
DDS-LUT	105.1 ¹	1.06	Jiang <i>et al</i> , 2014
DDS-CAF-1	94.9 ¹	0.95	Jiang <i>et al</i> , 2014
DDS-HBZ	52.4 ¹	0.53	Jiang <i>et al</i> , 2014
DDS	0.22 ²	1	Flores-Pacheco, 2018
TD-I	0.42 ²	1.91	Flores-Pacheco, 2018
TD-II	0.67 ²	3.05	Flores-Pacheco, 2018
MD-I	0.16 ²	0.72	Sánchez-Segoviano, 2018
MD-II	1.69 ²	7.68	Sánchez-Segoviano, 2018

¹Disolución capilar, método no farmacopeicos, unidades (µg/cm²*min)

²Método FEUM, unidades (mg/cm²*min)

4.1.2 Farmacocinética y farmacodinamia

Una vez absorbida, DDS presenta una fuerte unión con proteínas plasmáticas con valores

entre 70-90% [DrugBank, 2018]. De 2-8 horas posteriores a la administración oral de 50 y 300 mg de DDS, se alcanzan concentraciones séricas entre 0.63 y 4.82 mg/L. Tiene un tiempo de vida media en el organismo de 12 a 30 horas [Zuidema, 1986]. Su rango terapéutico es de 0.1 a 5 mg/L para el tratamiento de la lepra [Pieters *et al*, 1987b], y por vía oral presenta una biodisponibilidad > 86 % [Pieters & Zuidema, 1987^a].

El fármaco se acumula en piel, músculo, hígado, riñón, atraviesa la barrera hematoencefálica y la barrera placentaria. Sufre metabolismo hepático por dos vías: *N*-hidroxilación (CYP450 2C9, 2E1 y 3A4) y *N*-acetilación (*N*-acetiltransferasa) [Zhou *et al*, 2009]. Esto genera los metabolitos hidroxilaminodapsona (DDS-NOH) y monoacetildapsona (MADDS), respectivamente (figura 4), siendo el primero el responsable de la metahemoglobinemia producida por DDS [Fitzpatrick, 2010]. Su eliminación ocurre por la vía renal en un 90 % y biliar en un 10 %. De un 5-15 % de fármaco se elimina por la vía renal. Mientras que MADDS se excreta en mayor cantidad, DDS-NOH se conjuga con el ácido glucurónico para poder ser excretado en la orina [Zuidema, 1986].

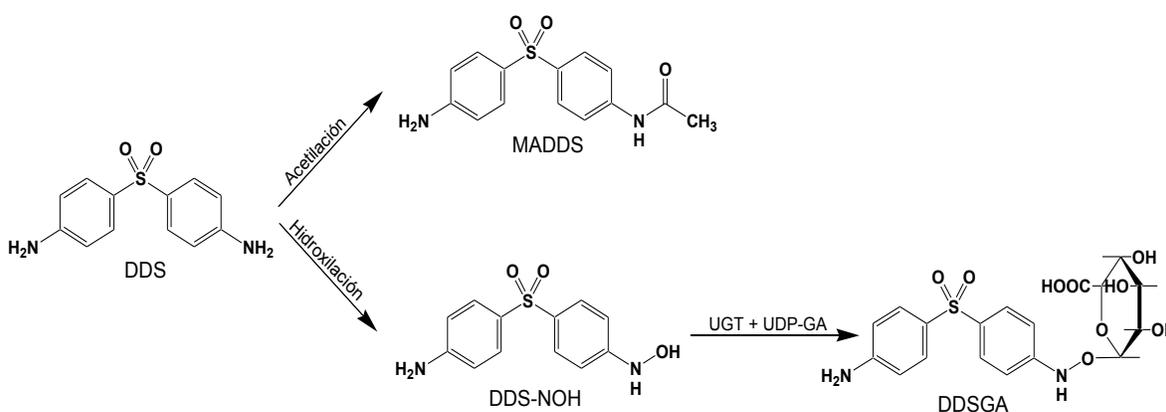


Figura 4. Metabolismo hepáticos de DDS.

La actividad bacteriostática de DDS se debe principalmente a la inhibición de la incorporación del ácido *p*-aminobenzoico a la molécula de ácido fólico, por lo que inhibe el crecimiento de microorganismos dependientes de la síntesis del ácido fólico endógeno. Al combinarse con otros fármacos como la trimetoprima, inhibidor competitivo del dihidrofolato reductasa [Lee *et al*, 1989; Acquir-Immun, 1993], se introducen bloqueos

secuenciales de la vía biosintética de tetrahidrofolato como se muestra en la figura 5 [Zhu & Stiller, 2001; Jara, 2007; Hilal-Dandan & Brunton, 2008].

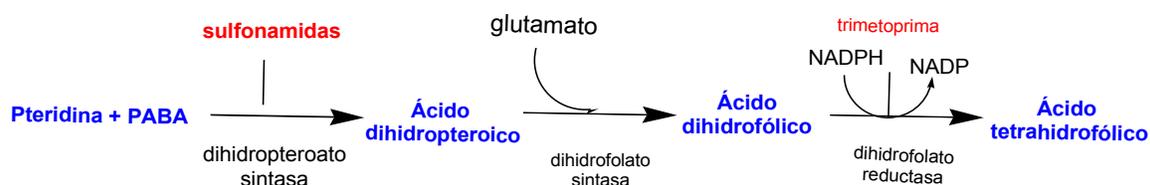


Figura 5. Pasos en el metabolismo del folato bloqueados por las sulfonamidas y la trimetoprima.

Los efectos no deseados más graves son la hemólisis y la metahemoglobinemia. La primera puede ser más intensa cuando los pacientes tienen una deficiencia enzimática de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD) [Jara, 1991]. Mientras que la segunda es habitual cuando se dosifican 200 mg/día de DDS, que puede presentarse en la mayoría de los casos. Se produce por la oxidación de la hemoglobina por el metabolito hidroxilamino de la dapsona [Valdivia, 1996].

Otros efectos adversos poco frecuentes que se observan en 1 a 2 % de los pacientes son hepatitis, leucopenia, estomatitis, anorexia, atrofia óptica, psicosis, rash cutáneo, síndrome de Stevens-Johnson y nefritis [Sánchez-Saldaña, 2008].

4.2 Lepra y su distribución

La lepra, o enfermedad de Hansen, es una enfermedad infectocontagiosa crónica, causada por el bacilo *Mycobacterium leprae* que afecta principalmente piel y nervios periféricos. En casos severos puede provocar lesiones progresivas y permanentes en la piel, los nervios, las extremidades y los ojos; causándole al paciente una discapacidad parcial o total [OMS, 2018]. El primer reporte conocido de la enfermedad es del año 600 a.C. en la India [Concha *et al*, 2008].

La transmisión del bacilo ocurre por vía aérea, mediante la expulsión de microgotas de saliva al hablar, toser o estornudar. Estas microgotas deben ser inhaladas por un individuo con una respuesta inmune celular hacia la micobacteria [NOM-027-SSA2-2007]. Con la administración de DDS se logró contener la enfermedad; sin embargo, los tiempos prolongados de tratamiento dificultan su efecto terapéutico. Por lo que *M. leprae* ha empezado a crear resistencia a DDS [Matsouka *et al*, 2000]. No obstante, el

descubrimiento de rifampicina y clofazimina dio un giro al tratamiento de la lepra, con lo que este se convirtió en un tratamiento multimedicamentoso a partir de 1981. Actualmente, la lepra, es considerada como un problema de salud pública a nivel mundial afectando a más de 16 millones de pacientes [OMS, 2018].

Actualmente en México, los estados que presentan mayor número de casos nuevos son Sinaloa con 22, Michoacán con 11, Jalisco y Guerrero con 14 nuevos casos respectivamente [Boletín Epidemiológico de la Secretaria de Salud, 2018]. Los grupos de edad más afectados son los mayores de 25 años y con mayor incidencia en el género masculino.

4.2.1. Tratamiento de la lepra

Para un adecuado diagnóstico y tratamiento de la lepra, se crearon dos clasificaciones con base en los estudios clínicos e histopatológicos (tabla 2).

Tabla 2. Clasificación de la lepra.

Clasificación OMS	Clasificación Ridley-Jopling	Características
Paucibacilar (PB) 1-5 lesiones cutáneas	Indeterminada (I)	Etapa más temprana. Lesiones de 1 o 2 máculas hipopigmentadas. No evidencia de granulomas e infiltrado inflamatorio es inespecífico.
	Tuberculoide (TT)	Granulomas epiteloideos rodeando los elementos neurovasculares. Disminución de la sensibilidad.
	Borderline tuberculoide (BT)	Similar a TT. Lesiones más numerosas
Multibacilar (MB) >5 lesiones cutáneas	Media borderline (BB)	Placas de borde elevado en declive.
	Borderline lepromatosa (BL)	Lesiones más definidas, asimétricas y áreas de piel sana.
	Lepromatosa (LL)	Abundantes bacilos en piel y mucosa nasal. Pérdida de cejas y pestañas.

La duración del tratamiento farmacológico para la lepra PB es de al menos seis meses, comprende un mínimo de 6 dosis mensuales de rifampicina y DDS, y una dosis diaria de DDS durante 162 días. Los pacientes deben someterse a un examen clínico anual, al menos durante dos años después de haber completado el tratamiento.

La duración del tratamiento farmacológico para la lepra MB es de al menos un año. El tratamiento consiste en una dosis diaria de clofazimina y DDS duante 324 días, y una dosis mensual de DDS, rifampicina y clofazimina durante un año. Los pacientes deben ser

estudiados clínica y bacteriológicamente al menos una vez al año, durante un mínimo de cinco años después de finalizar el tratamiento.

En la figura 6 se muestra un ejemplo de paciente que presenta lepra lepromatosa multibacilar, con estudios de baciloscopia positivos.



Figura 6. Caso clínico de un hombre de 36 años que presenta lesiones maculares, hipercrómicas y nodulares [Toro *et al*, 2014].

Al término del tratamiento, el paciente debe ser evaluado como lo indica el apartado 6.2.4.2 de la Norma Oficial Mexicana NOM-027-SSA2-2007. Las dosificaciones correspondientes para cada caso se muestran en la tabla 3.

Tabla 3. Tratamiento para Lepra multibacilar y paucibacilar.

Lepra Multibacilar				
MEDICAMENTO	NIÑOS		ADULTO	CONTRAINDICACIONES Y EFECTOS SECUNDARIOS
	>10 años >30 kg de peso	10-15 años		
Dosis mensual supervisada				
Rifampicina (a)	25-30 mg/kg	450 mg	600 mg	Hepatopatía Daño renal Anemia severa Hemólisis Metahemoglobinemia
Clofazimina	1 mg/kg/día	150 mg	300 mg	
Dapsona	1-2 mg/kg/día	50 mg	100 mg	
Dosis diaria autoadministrada				
Dapsona	1-2 mg/kg/día	50 mg	100 mg	Hepatopatía Daño renal Anemia severa Hemólisis Metahemoglobinemia
Clofazimina	1 mg/kg/día (b)	50 mg alrededor	50 mg	
Lepra Paucibacilar				
MEDICAMENTO	NIÑOS		ADULTO	CONTRAINDICACIONES Y EFECTOS SECUNDARIOS
	>10 años >30KG de peso	10-15 años		
Dosis mensual supervisada (mínimo 6 dosis mensuales)				
Rifampicina (a)	25-30 mg/kg	450 mg	600 mg	Hepatopatía Daño renal
Dapsona	1-2 mg/kg/día	50 mg	100 mg	

Dosis diaria autoadministrada (mínimo 162 dosis diarias)				Anemia severa Hemólisis Metahemoglobinemia
Dapsona	1-2 mg/kg/día	50 mg	100 mg	

- a) En caso de hepatopatía se utiliza clofazimina y dapsona.
b) 2 o 3 veces por semana.
c) Cada tercer día.

DDS se comercializa en dos formas farmacéuticas; sin embargo, recientemente se han probado nuevas formulaciones para enfrentar sus problemas de solubilidad y toxicidad; dichas formulaciones se indican en la tabla 4. En México, el IMSS solo distribuye tabletas ranuradas de 100 mg, cada frasco contiene 1000 tabletas en tiras rígidas, distribuidas por Farmacéutica Ago del Pacífico [Cuadro Básico del IMSS, 2018].

Tabla 4. Formas farmacéuticas de Dapsona.

Forma farmacéutica	Vía de Administración	Dosis	Nombre comercial	Laboratorio/Referencia
Gel*	Tópica	50 mg/1g	Aczone	ALLERGAN, Qit Inc.
Gel*	Tópica	75 mg/1g	Aczone 7.5	ALLERGAN, INC.
Tableta*	Oral	100 mg	Dapsone	Jacobus Pharmaceutical Company Inc.
Tableta*	Oral	100 mg	NA	Farmacéutica Ago del Pacífico
Solución intravenosa**	Intravenosa	0.2-12 mg/Kg	NA	MX PA03006549 A
Nanoemulsión**	Tópica	2%w/w	NA	Borges <i>et al</i> , 2013
Nanoemulsión**	Oral	NA	NA	Monteiro <i>et al</i> , 2012

NA = No aplica.

*Comerciales

**Propuestas/En investigación

4.3 Formulaciones farmacéuticas basadas en lípidos

Una estrategia para incrementar la biodisponibilidad y solubilidad en el fluido intestinal de fármacos clase II y IV del Sistema de Clasificación Biofarmacéutica (BCS, por sus siglas en inglés) es utilizar sistemas de liberación de fármacos basados en lípidos [Haus, 1998].

Este tipo de sistemas abarcan emulsiones, soluciones oleosas, liposomas, y sistemas de emulsificación rápida como las micro- y las nanoemulsiones [Porter, *et al*, 2007]. Sin embargo, también se pueden encontrar estos tipos de sistemas en estado sólido o semisólido, un ejemplo de ellos son las nanopartículas lipídicas sólidas. Los componentes básicos de estos sistemas son el lípido, el tensoactivo (Ts), el co-tensoactivo (Cs) o co-disolvente (Cd) y el fármaco. El lípido y el fármaco son los componentes indispensables

en todos sistemas lipídicos farmacéuticos. Mientras que la presencia del tensoactivo, co-tensoactivo o co-disolvente puede variar en función del tipo de sistema a formular.

Pouton & Porter [2000, 2006] han propuesto una clasificación de los sistemas lipídicos en cuatro tipos principales (tabla 5). Las formulaciones tipo I están hechas principalmente de mezclas de mono y diglicéridos como Imwitor 988/Capmul MCM [Haus, 2007]; las tipo II son formuladas con aceites polares o triglicéridos de cadena media, y tensoactivos insolubles en agua [Pouton, 1985]; las tipo III pueden incluir triglicéridos de cadena corta, media o larga y tensoactivos solubles en agua; finalmente, las tipo IV excluyen cualquier aceite/lípido de su formulación por lo que se basan en tensoactivos o mezclas de ellos y co-disolventes [Pouton & Porter, 2008].

Tabla 5. Sistema de clasificación de formulaciones lipídicas.

Tipo de Formulación	Materiales	Características	Ejemplo
Tipo I	Aceites sin tensoactivos.	No son dispersantes, requieren digestión.	Ácido valproico (Depakene® /Abbott)
Tipo II	Aceites y tensoactivos insolubles en agua.	*SEDDS formados sin componentes solubles en agua.	Tretinoína (Vesanoid®/Roche)
Tipo III	Aceites, tensoactivos y co-disolventes.	*SEDDS/**SMEDDS formados con componentes solubles en agua.	Ciclosporina A (Neoral®/Sandimmune®/Novartis) (Gengraf®/Abbott)
Tipo IV	Tensoactivos solubles en agua y co-disolventes, sin aceites.	La formulación dispersa típicamente para formar una solución micelar.	Amprenavir (Agenerase®/GSK)

*SEDDS: *Self-emulsifying drug delivery system*, por sus siglas en inglés.

**SMEDDS: *Self-microemulsifying drug delivery system*, por sus siglas en inglés.

Un alto porcentaje de los productos farmacéuticos basados en lípidos comercializados son formulaciones tipo III como consecuencia de su variación en proporciones (oleosas o acuosas), éstas se dividen en dos grupos: A y B. El grupo A representa a las formulaciones con mayor proporción de lípido y el grupo B a las formulaciones que son solubles en agua. [Pouton, 2000].

Esta clasificación permite una fácil interpretación de los estudios *in vivo* para cada caso, además nos ayuda a escoger el tipo de formulación adecuada para cierto fármaco en base a sus propiedades fisicoquímicas.

4.3.1 Formulaciones emulsificantes

Las emulsiones farmacéuticas son dispersiones líquidas compuestas por una fase dispersante y un medio de dispersión (figura 7). Es requisito indispensable dos fases líquidas no miscibles, un medio acuoso y un medio oleoso, y un tercer componente llamado emulsificante, que ayuda a la estabilidad del sistema. Existen sistemas de agua en aceite (w/o), siendo el agua la fase dispersa y el aceite el medio de dispersión, aceite en agua (o/w), siendo el aceite la fase dispersa y el agua el medio de dispersión. También existen las emulsiones múltiples (w/o/w o o/w/o) en las cuales la fase dispersante contiene gotas de otra fase [Florence & Attwood, 2011; Alfonso R, 2003].

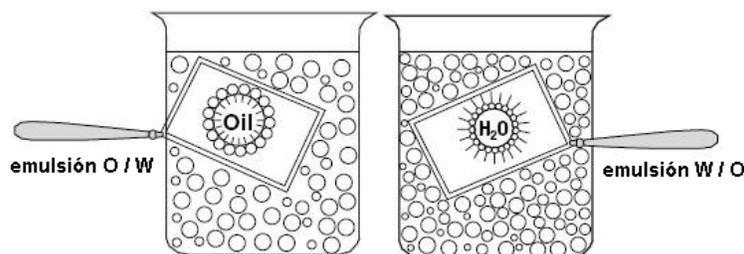


Figura 7. Tipos más comunes de emulsiones.

El Balance Lipofílico-Hidrofílico (HLB) es una escala (figura 8) que permite medir el valor requerido de la fase oleosa para que una emulsión pueda generarse. Se basa en medir la hidrofobicidad o lipofobicidad de una molécula anfifílica, e.g. tensoactivos y emulsificantes, para determinar su compatibilidad con el medio dispersante.

Los componentes de carácter hidrofílico poseen valores altos de HLB (8-16), actúan como agentes solubilizantes, detergentes y tienden a formar emulsiones del tipo o/w, contrario a ello los de carácter lipofílico poseen valores bajos de HLB (3-8) y tienden a formar una emulsión w/o [Griffin, 1949].

En general, el HLB, es una escala numérica que va de 0 hasta 20 para tensoactivos no iónicos. De manera global, indica la contribución relativa de las regiones hidrofílicas o lipofílicas de un tensoactivo [Florence & Attwood, 2011].

Para calcular el HLB de cada componente se puede emplear una fórmula empírica basado en las observaciones de Griffin:

$$HLB = 20 * Mh/M$$

Ecuación 1. Fórmula empírica propuesta por Griffin.

Donde Mh es la masa molar de la parte hidrofílica de la molécula y M la masa molar de toda la molécula, generando un resultado en la escala de 0-20. Un valor cercano a 0 indica un componente de naturaleza lipofílica, mientras que valores cercanos a 20 implican a componentes hidrofílicos (figura 8).

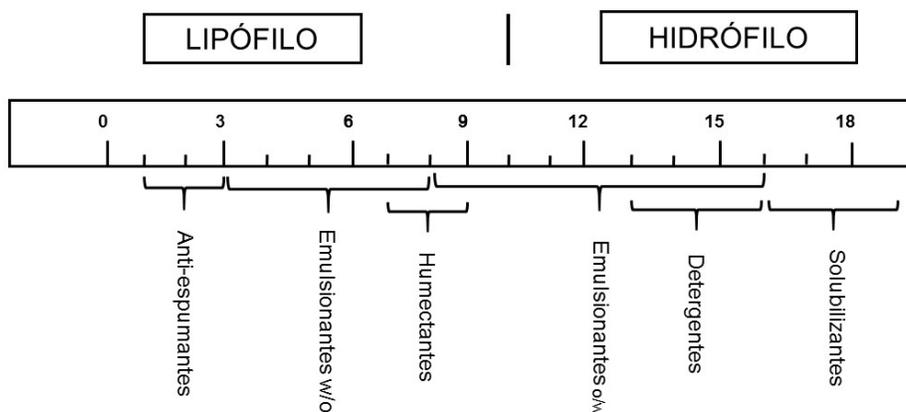


Figura 8. Escala HLB de Griffin [1949].

El uso de la escala HLB de Griffin es relevante en la planeación experimental, ya que nos permite establecer los valores de HBL requeridos para cada componente, así como para el medio dispersante del sistema en función de la formulación que se pretende generar.

En el caso de las mezclas de componentes el HLB se calcula en base a las fracciones molares de cada componente en la mezcla como se indica en la ecuación 2.

$$HLB_{mix} = fHLB_A + (1 - f)HLB_B$$

Ecuación 2. Cálculo del HLB de una mezcla mediante las fracciones molares de cada componente.

La ecuación anterior es importante debido a que es necesario saber el HLB de la mezcla a emplear para mejorar la estabilidad de los sistemas a obtener; si colocamos un componente de carácter hidrofílico vamos a requerir de un componente con un valor de HLB alto, de igual manera si usamos un componente de carácter lipofílico vamos a requerir de otro componente con valor de HLB bajo, para obtener la formación de micelas.

Una microemulsión (ME) es un sistema homogéneo de baja viscosidad que puede contener una mezcla de tensoactivos. Son sistemas termodinámicamente estables, poseen tamaños de partícula generalmente menores a 100 nm, tienen baja tensión interfacial ($1-50 \text{ mN}\cdot\text{m}^{-1}$), y pueden ser dispersiones aceite en agua (o/w); agua en aceite (w/o) o múltiples (w/o/w o o/w/o) [Florence & Attwood, 2011; Routledge, 2018].

Un ejemplo es la microemulsión de paclitaxel de Nornoo *et al* [2009], quienes evaluaron diferentes tensoactivos, o mezclas de estos, como se indica en la figura 9. La región sombreada de los diagramas de fase pseudoternarios representa las zonas de ocurrencia de la microemulsión. Y observaron que la región de microemulsión para LBM cubre un 48.5 % del área del diagrama de fase. Mientras que CPS y CM solo cubren el 45.15 % y 20 %, respectivamente. El análisis de tamaño de partícula revela que para LBM y CM se encuentra un rango de 687 – 1010 nm; Para CP-P80, CPM Y CPS se registraron tallas de 272 a 363 nm. También observaron una mejora de la permeabilidad con la combinación CM que fue de $19.7 \times 10^{-5} \text{ cm/s}$, y LBM que fue de $5.71 \times 10^{-5} \text{ cm/s}$, en comparación con la formulación control de paclitaxel CE la cual fue de $1.85 \times 10^{-5} \text{ cm/s}$.

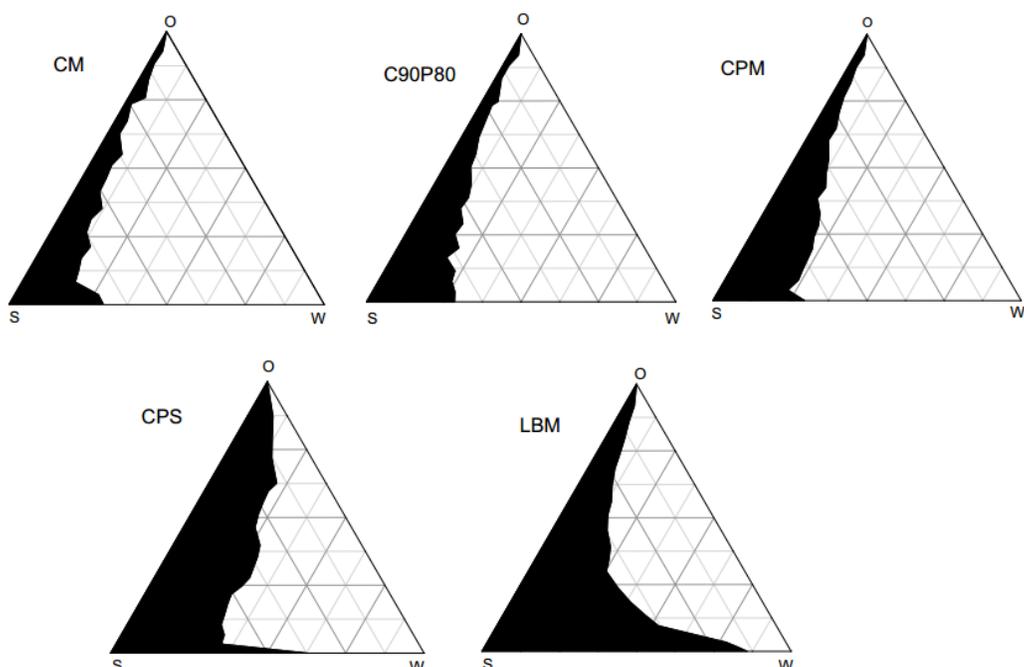


Figura 9. Diagramas de fase ternarios de ME de paclitaxel. CM-capmul MCM:myvacet; CP-P80-capryol 90:tween 80 (30:70):myvacet; CPM-capmul MCM:tween 80 (30:70):myvacet; CPS-centromix CPS:butanol (67:33):myvacet; LBM-lecitina:butanol (67:33):myvacet.

Una nanoemulsión (NE) es una dispersión heterogénea de dos líquidos inmiscibles que tienen un tamaño de partícula promedio en escala nanométrica (20 – 200 nm). En comparación con las emulsiones convencionales, presentan mejor estabilidad, evitando la sedimentación o cremación, además presentan un aspecto óptico transparente o translúcido al diluirse con agua. Sin embargo, son estructuras cinéticamente estables, que existen fuera del equilibrio y pueden sufrir floculación, coalescencia y/o maduración de Ostwald [Wang, 2008; 2009]. Una desventaja de las NE son los métodos para su formación, que son de alta energía y requieren agitadores de alto corte, homogeneizadores de alta presión y generadores de ultrasonidos, lo que genera altos costos [Tadros, 2004]. Por lo tanto, dependen de las condiciones iniciales en su preparación [Singh, *et al*, 2009; Oh, *et al*, 2011].

Ribeiro *et al* [2016] desarrollaron una nanoemulsión que contiene interferón gama (IFN- γ) compuesta de agua destilada (medio dispersante), triglicéridos de ácido caprílico (fase oleosa), oleato de sorbitan y tween 80 (tensoactivos), y propilenglicol (co-tensoactivo), en proporciones de 10%, 80%, 3.5%, 5.5% y 1%, respectivamente. Al evaluar una dosis de 90 ng/ml a través de la NE, observaron que no se afectaba la viabilidad de las células mononucleares, por lo que determinaron que la actividad inmunomoduladora del IFN- γ se veía mejorada.

Es importante recalcar que tanto nano como microemulsiones alcanzan tamaños de partícula < 200 nm, sin embargo, es posible diferenciar entre ambos tipos de emulsión en base a su estabilidad física, es decir la presencia de coalescencia y valores de polidispersión > 0.7 [Martin, 1993; Singh, *et al*, 2009].

4.3.2 Sistemas de Liberación de Fármacos Auto-emulsificantes (SEDDS)

Los SEDDS son mezclas isotrópicas de fármaco, lípido(s), tensoactivo(s) y co-tensoactivo(s); en donde el fármaco se encuentra disuelto en el concentrado lipídico que, al dispersarse en los fluidos gástricos y auxiliado por la motilidad gástrica, favorece la formación *in situ* de una fina emulsión o/w [Porter *et al*, 2008; Nazari-Vanani *et al*, 2017].

A diferencia de las emulsiones, las autoemulsiones no requieren de mezcladores de alta velocidad para su formación y los tamaños de partícula se encuentran alrededor de los

100 nm. Se conocen dos tipos de sistemas auto-emulsificantes: sistemas de liberación de fármacos auto-microemulsificantes (SMEDDS) y sistemas de liberación de fármacos auto-nanoemulsificantes (SNEDDS). Sin embargo, los SNEDDS tienden a no generar una buena estabilidad física durante su manejo y almacenamiento, de manera contraria, los SMEDDS al ser termodinámicamente estable tienden a ser favorecidos en dicho aspecto [Balakrishnan *et al*, 2009; Kim *et al*, 2012]. De manera visual los primeros generan un color blanquecino o turbio al ser dispersado en un medio acuoso, mientras que los segundos al dispersarse forman sistemas coloidales transparentes o traslúcidos.

4.3.2.1 Componentes esenciales

La selección de los excipientes y la optimización de la formulación de los sistemas deben basarse en los siguientes criterios [Wu *et al*, 2008; 2009]:

- 1) La composición de la formulación debe ser simple y segura, e.g. usar la cantidad mínima de tensoactivos en la preparación.
- 2) En el diagrama de fase la nano/microemulsión debe abarcar un área grande y no debe ser visible la separación de fases después de 24 horas de almacenamiento.
- 3) Debe ser capaz de mantener un alto contenido de fármaco, tamaño de partícula pequeño y uniforme (e.g <100 nm), índice de polidispersión pequeño (< 0.7), y rápida dispersión tras dilución con un medio acuoso.

La participación de cada componente en los sistemas autoemulsificantes se describe detalladamente para cada uno en las siguientes subsecciones.

4.3.2.1.1 Aceite/Lípido (fase oleosa)

Los aceites vegetales y las grasas animales son ésteres de glicéridos de ácidos grasos insaturados mixtos de cadena larga, comúnmente conocidos como triglicéridos de cadena larga (LCT). Los triglicéridos son altamente lipófilos y su capacidad para solubilizar fármacos es una función de la concentración efectiva de los grupos éster, de acuerdo con el peso molecular del aceite, los triglicéridos de cadena media (MCT) tienen generalmente una capacidad disolvente mayor que los LCT.

Además, los MCT no están sujetos a la oxidación, por lo que son una buena opción para su uso en productos basados en lípidos. El aceite de ricino es una fuente común de

ricinoleato de glicerilo, que tiene únicamente un grupo hidroxilo acoplado a la cadena de alquilo. Los glicéridos mixtos de cadena media se han convertido en excipientes populares, que tienen una capacidad disolvente aún mayor, y también para promover la emulsión. Sin embargo, existen complicaciones con los excipientes de cadena media en relación con la digestión [Porter *et al*, 2004; 2008].

La selección de la fase lipídica se realiza con base en dos criterios, 1) por su capacidad para disolver al fármaco, lo cual asegura el contenido óptimo de fármaco en la nano/microemulsión, y 2) su capacidad para producir partículas de tamaño adecuado (<200 nm).

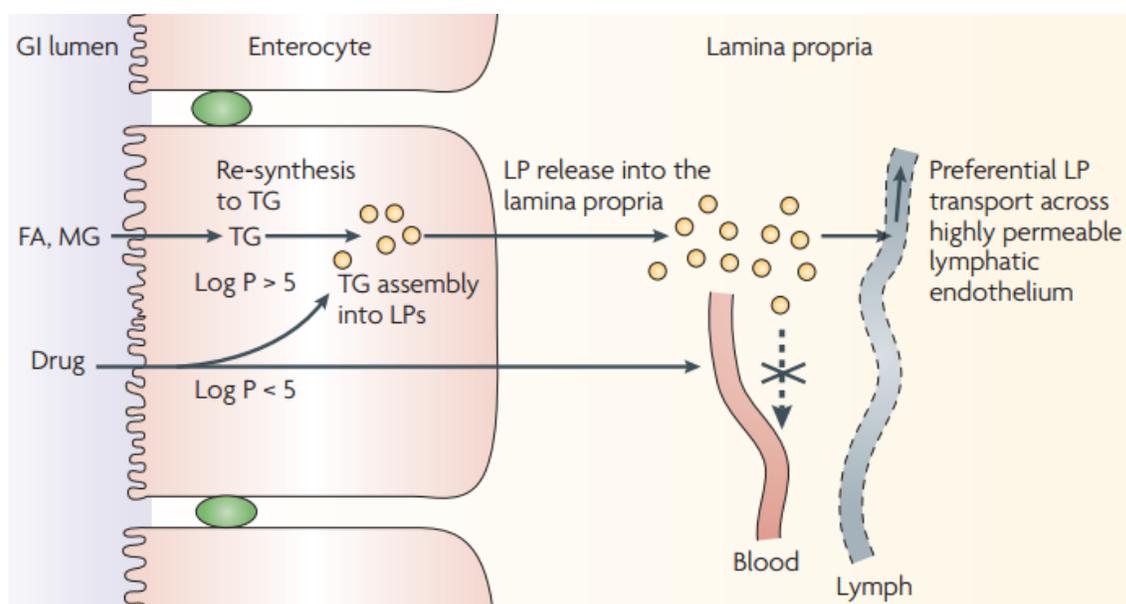


Figura 10. Transporte linfático de fármaco disuelto en lípidos.

Dentro de las ventajas principales que presentan estos sistemas, es que evitan el metabolismo de primer paso (figura 10), propiedad relevante para aquellos fármacos que generan metabolitos tóxicos en el hígado. Esto se debe a que el fármaco disuelto en el medio oleoso se puede liberar directamente al sistema de transporte linfático [Gibaud *et al*, 2012].

4.3.2.1.2 Tensoactivo

Los tensoactivos son moléculas que poseen un grupo hidrofílico y un grupo hidrofóbico. Su función está fuertemente relacionada con su capacidad de estabilizar la interfase lípido-acuosa y dirigir el proceso de emulsificación, así como el tamaño de partícula [Wang, *et al*, 2009; Date & Nagarsenker, 2007; Dixit & Nagarsenker, 2008; Basalious, *et al*, 2010]. Su selección se basa en el HLB, siendo preferidos aquellos con valores > 15. De manera que el tensoactivo debe ser compatible con el lípido y con la solución acuosa donde el proceso de auto-emulsificación ocurrirá [Shah, *et al*, 1994].

Los tensoactivos no iónicos son aquellos que no se ionizan en medio acuoso, se consideran generalmente aceptables para la ingesta oral, debido a que son menos tóxicos y no se ven afectados por el pH y los cambios iónicos en el medio de dispersión [Constantinides, 1995]. En comparación con los tensoactivos iónicos, los cuales provocan irritación gástrica y efectos laxantes [Aulton M.E....]. Algunos ejemplos de ellos son los polisorbatos (Tween) y los poloxámeros son los más comunes en la preparación de emulsiones orales.

4.3.2.1.3 Co-tensoactivo

Estructuralmente los co-tensoactivos poseen cadenas hidrocarbónicas más cortas. Es el componente minoritario del sistema lipídico, cuya participación es vital en la estabilización de la partícula, al modular el efecto de la naturaleza del lípido, la salinidad del medio acuoso, y la solubilidad del fármaco en la nano/microemulsión [Patel & Chen, 2002]. Deben estar presente a una concentración adecuada ya que su presencia se asocia con el riesgo de precipitación del fármaco cuando la formulación se dispersa en un medio acuoso.

Los materiales más populares como co-tensoactivos hidrofóbicos son los ésteres de sorbitan (Span), mientras que los co-tensoactivos hidrofílicos más usados son PEG 400, el propilenglicol, el etanol y el glicerol [Pouton & Porter, 2008].

4.3.2.2 Ventajas de los SEDDS

Las principales ventajas que estos sistemas presentan son las siguientes:

- Mejora de la biodisponibilidad oral.
- Evita el metabolismo hepático de primer paso.
- Procesos de la digestión de lípidos no influyen.
- Incremento de la capacidad de contenido de fármaco.
- Capacidad de administrar fármacos o péptidos que son susceptibles a hidrólisis enzimática en el tracto gastrointestinal (TGI).
- Proceso fácil de manufactura y escalamiento.

Hasta la fecha se han reportado diversos SNEDDS entre los que encontramos al ibuprofeno [Wang *et al*, 2009], la cefpodoxima [Date & Nagarsenker 2007], la ezetimiba, la simvastatina [Dixit & Nagarsenker 2008^a; 2008b] y el valsartán [Beg *et al*, 2012]. Con respecto a la estabilidad de la nanoemulsión, para valsartán la estabilidad *in vitro* se determinó de 2 años y la velocidad de disolución se incrementó hasta 3 veces con respecto a la formulación de tableta convencional.

4.3.2.3 Relevancia científica y comercial de los SEDDS

En las últimas décadas, el auge que han tenido estos sistemas ha ido en aumento hasta el año 2015, como se observa en la figura 11. Actualmente, el interés por este tipo de sistemas ha disminuido lo cual se puede deber al surgimiento de nuevas estrategias de formulación. Sin embargo, la elaboración de estos sistemas es más sencilla de lo que parece.

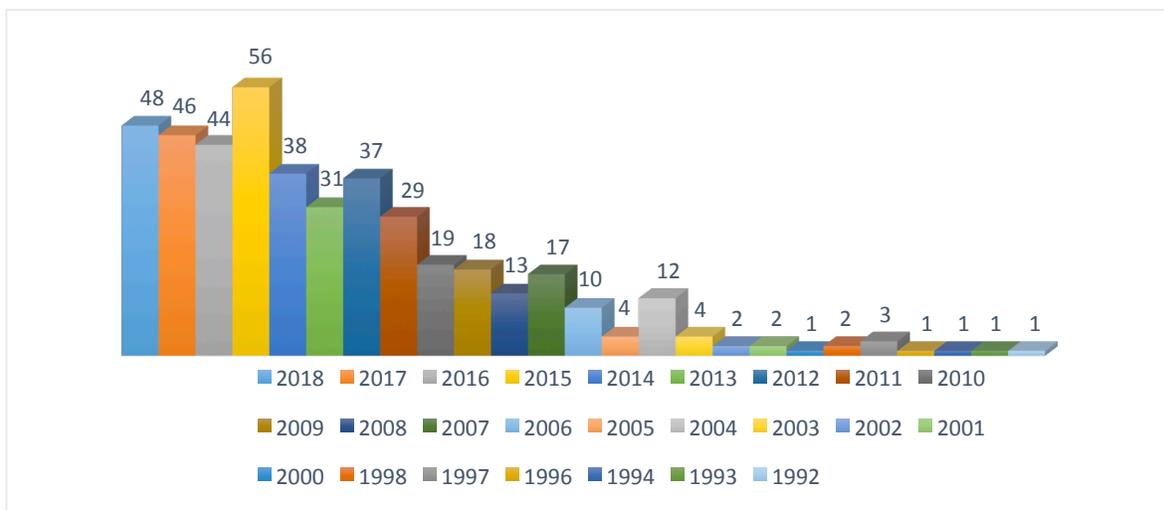


Figura 11. Número de publicaciones anuales sobre SEDDS entre 1992-2018. Información obtenida de web of science, 5 de diciembre de 2018.

Se han comercializado con éxito varios productos basados en SNEDDS, por ejemplo, Sandimmune Neoral (ciclosporina), Norvir (ritonavir) y Fortovase (saquinavir), lo que ha fomentado el interés en aumentar la utilización de esta estrategia que es fácil de escalar a nivel industrial [Gursoy y Benita, 2004].

En la tabla 6 se muestran algunos ejemplos de fármacos que se han probado para mejorar la solubilidad o biodisponibilidad mediante los sistemas autoemulsificantes. La cual incluye los excipientes usados para los sistemas lipídicos, y en algunos casos la s proporciones de cada excipiente en la mezcla.

Tabla 6. Ejemplos de diferentes sistemas de administración de fármacos auto-emulsionantes.

Fármaco/Tipo de sistema	Clase	Lípido	Tensioactivo	Co-tensioactivo	Referencia
Tamoxifen-Quercetina/SNEDDS	II	Labrafil 1944 CS/Capmul MCM EP	Cremophor RH40		[Jain <i>et al</i> , 2014].
Valsartan/Solid-SNEDDS	II	Capmul MCM (117.50 mictol)	Labrasol (171 microl)	Tween 20 (171 microl)	[Beg <i>et al</i> , 2012].
Lacidipina/SNEDDS	-	Labrafil/capmul I (2:1) (34.20%)	Cremophor/Tween 80 (1:1) (40.41%)	Transcutol (25.39%)	[Basalious <i>et al</i> , 2010]
Genisteina/SNEDDS	-	Maisine 35-1/Labrafac Iopophile WL1349 (1:1)	Cremophor EL/Labrasol (3:1)	Transcutol	[Zhu <i>et al</i> , 2009].
Albendazol/SMEDDS	II	Capmul PG-8 (10% w/w)	Cremophor EL Tween 80 (30,15% w/w)	PEG 400 acidificado (45% w/w)	[Mukherje <i>et al</i> , 2010].
Simvastatina/SNEDDS	II	Captex/Capmul I (1:2) (55% w/w)	Cremophor EL (35% w/w)	Etanol (10% w/w)	[Thomas <i>et al</i> , 2013].
Cloruro de Halofentrina/Súper-SNEDDS	-	Captex 300/Capmul MCM (55%)	Cremophor RH40 (35%)	Etanol (10%)	[Thomas <i>et al</i> , 2012].
Gemfibrozilo/SNEDDS	-	Aceite esencial de limón	Cremophor EL	Capmul MCM-C8	[Villar <i>et al</i> , 2012].
Oridonina/SMEDDS	-	Maisine 35-1 Labrafac CC (1:1W/W, 24.2%)	Cremophor EL (37.9%)	Transcutol P (37.9%)	[Liu <i>et al</i> , 2009].
Atorvastatina/SMEDDS	-	Labrafil (0.31g)	Cremophor RH40(0.32g)	Propilenglicol (0.32g)	[Shen & Zhong, 2006].
Coenzima Q10/SEDDES	-	Myvacet 9-45 (188mg/cap)	Labrafac CM-10 (235mg/cap)	Lauroglycol (47mg/cap)	[Kommuru <i>et al</i> , 2005].

4.6 Nanoemulsion de dapsona

Monteiro *et al* [2012] desarrollaron la primer nanoemulsión oral de dapsona, sistema de mejoramiento de la permeación intestinal. Desarrollaron los diagramas de fase pseudo-ternarios con las combinaciones de Tween 40:Span 20 y Tween 20:Span 20 como mezcla de tensoactivos, etanol o propilenglicol como co-tensoactivos, e isopropil miristato como la fase oleosa. Sin embargo, con dichas combinaciones no obtuvieron nanoemulsiones estables, por lo que decidieron probar combinaciones con Tween 80, Span 80, propilenglicol e isopropil miristato, obteniendo las nanoemulsiones estables y que lograrán incorporar la mayor cantidad de agua posible. La formulación resultante está constituida por isopropil miristato (31.64%w/w), propilenglicol (3.95%w/w), tween 80 (26.69%w/w), span 80 (26.69%w/w) y agua (11.03%w/w). Probaron dos métodos diferentes de incorporación de DDS a la formulación y después las caracterizaron, como se muestra en la tabla 7.

Tabla 7. Clasificación de las formulaciones y caracterización a tiempo cero y a 90 días de almacenamiento bajo condiciones de estrés.

NE	DDS	MI	Talla (nm)		Pdl		Índice refracción		Contenido DDS (%)	
	%w/w		0	90	0	90	0	90	0	90
I	2.0	FO	11±0.3	10.6±0.22	0.21	0.28	1.450	1.452	102.09	89.15
II	2.0	FF	9.7±0.21	7.1±0.09	0.19	0.20	1.450	1.454	103.5	89.10
III	2.5	FO	7.4±0.11	10.8±0.17	0.14	0.19	1.451	1.451	106.2	91.61
IV	2.5	FF	6.3±0.13	8.7±0.10	0.23	0.41	1.451	1.452	106.9	91.94

Nota: MI; Método de incorporación; FO: Fase oleosa; FF: Formulación final.

Analizando la talla de las nanoemulsiones a tiempo cero y después de 90 días de almacenamiento, las formulaciones II, III y IV sufren un cambio de tamaño, mientras que la formulación I no muestra cambio significativo. En los casos de Pdl e índice de refracción los valores se muestran más estables en comparación con los resultados de contenido de fármaco, donde observaron una disminución del contenido después de los 90 días de almacenamiento. De acuerdo con los resultados previos, los autores eligieron a la formulación II para la prueba de permeabilidad y los estudios de cinética de liberación.

El perfil de liberación se llevó a cabo en dos medios diferentes, fluido gástrico simulado y fluido intestinal simulado. La liberación de DDS dentro de los primeros 15 min fue de 90 y 91.5%, respectivamente. Además, realizaron un estudio control basado en la prueba de

disolución de DDS contenida en cápsulas, el porcentaje disuelto de fármaco fue de 27.9 y 5.6%, respectivamente, en el mismo tiempo.

Los estudios de permeación se evaluaron en células humana Caco-2, observando que la nanoemulsión tuvo mayor permeación (P_{app} de 11.04×10^{-6} cm/s) en comparación con una solución de DDS a base de buffer de fosfatos (P_{app} de 7.792×10^{-6} cm/s).

Este tipo de formulaciones no requieren métodos de alta energía para su formación, sin embargo, al ser cinéticamente estables, la formulación tiende a separarse provocando una inestabilidad en la misma. Por el contrario, los SEDDS se producen espontáneamente por lo que requieren de muy poca energía para su formación. Además, suelen ser termodinámicamente estables. Lo cual hace que su costo de producción no sea elevado y su escalamiento se lleve a cabo de manera más segura y sencilla.

5. Justificación

Dapsona es un fármaco clase II (BCS), de baja solubilidad acuosa y alta permeabilidad, se emplea principalmente en el tratamiento de la lepra. Se administra en un régimen de polifarmacia debido a la resistencia bacteriana hacia este fármaco. Debido a las altas dosis prescritas, se favorece la formación de metabolitos tóxicos provocando efectos adversos graves que pueden causar la muerte.

Las formulaciones orales comerciales que existen son tabletas convencionales, las cuales presentan problemas de baja solubilidad acuosa y por ende una menor absorción del fármaco. Recientemente se han reportado formulaciones lipídicas orales que incluyen una nanoemulsión de dapsona en la que se ve aumentado la velocidad de disolución en comparación con una solución del fármaco, sin embargo, hasta la fecha ninguna ha sido comercializada.

Los sistemas de liberación autoemulsificantes de fármacos son una vía alterna para mejorar la solubilidad de fármacos poco solubles en agua, reducir la dosis efectiva, y en consecuencia reducir efectos no deseados. Dapsona, al ser más soluble en lípidos, tensoactivos y co-tensoactivos, es un buen candidato para las formulaciones lipídicas. Además, el costo de manufactura es accesible y el escalamiento a nivel industrial es factible.

En este proyecto se proponen los estudios de desarrollo y caracterización de un sistema autoemulsificante, capaz de mantener a dapsona dispersa bajo condiciones del tracto gastrointestinal posterior a su dosificación oral.

6. Hipótesis

La selección sistemática de los componentes con capacidad autoemulsificante, a través de diseños experimentales sobre diagramas de fase pseudo-ternarios, debe dirigirnos hacia la formulación de un sistema de liberación autoemulsificante capaz de soportar una alta carga de DDS y eficiente en la liberación del fármaco en medio acuoso pH 1.2.

7. Objetivos

7.1. Objetivo general

Diseñar los estudios de formulación de un sistema auto-emulsificante para dapsona, desarrollar y caracterizar la formulación auto-emulsificante y evaluar la liberación del fármaco en medio acuoso pH 1.2.

7.2. Objetivos Específicos

- Seleccionar los componentes para los sistemas auto-emulsificantes a partir de sus propiedades emulsificantes reportadas en la literatura científica.
- Establecer miscibilidad entre los componentes seleccionados para establecer que el sistema lipídico sea homogéneo.
- Determinar la solubilidad de DDS en lípidos, tensoactivos y co-tensoactivos seleccionados como lo indica la FEUM.
- Desarrollar los diagramas de fase pseudo-ternarios a través de un diseño experimental de mezclas con vértices extremos para establecer el comportamiento de las mezclas en las diferentes regiones.
- Implementar el método de titulación del agua a mezclas de Lípido:Ts-Cs específicas para establecer su comportamiento frente a la dilución.
- Establecer la apariencia física, determinar el tamaño de gota y el índice de polidispersión de las mezclas preparadas en los estudios de los diagrama de fase pseudo-ternarios.
- Determinar la solubilidad de dapsona en los sistemas auto-emulsificantes. Determinar la cantidad máxima solubilizada de fármaco en las microemulsiones de las regiones auto-emulsificantes.
- Realizar perfil de liberación *in vitro* del fármaco a través de membranas de diálisis en una solución ácida pH 1.2.

8. Metodología

8.1. Equipos y reactivos

La limpieza del material previo a cada experimento realizado se hizo con un lavado de acetona pura, mientras que para la limpieza después de terminados los experimento se lavó con jabón neutro, posteriormente se agregó una cantidad de etanol en cada recipiente y por último se realizó un lavado final con hexano.

Equipo	Marca	Modelo
Parrilla de agitación	IKA®	C-MAG HS7
Balanza analítica	OHAUS CORPORATION ®	PA214
Nano Zetasizer	Malvern	ZS90
Espectrofotómetro UV	Agilent Technologies	Cary 60
Termocirculador	PolyScience	Sous vide
Potenciómetro	OAKTON®	PH 700
Parrilla múltiple de agitación	VARIOMAG-USA	-

Reactivos	Marca	Lote
Dapsona	SIGMA ALDRICH	STBF1825V
Vitamina E acetato	DROGUERIA COSMOPOLITA	201201608102
Ácido oléico	MEYER	A0714388
Aceite de ricino	DROGUERIA COSMOPOLITA	COO1140208
Miristato de isopropilo	DROGUERIA COSMOPOLITA	-
Tween 20	DROGUERIA COSMOPOLITA	39K44012
Tween 80	DROGUERIA COSMOPOLITA	-
Propilenglicol	DROGUERIA COSMOPOLITA	180129
Peg 400	SIGMA ALDRICH	BCBQ6662V
Transcutol	GATTEFOSE	-
Ácido clorhídrico	MEYER	C0113014
Cloruro de potasio	-	-
Agua desionizada	-	-
Membranas de diálisis	SIGMA ALDRICH	3110

8.2. Selección de los componentes del proyecto

La selección de cada uno de los componentes se realizó de acuerdo a lo descrito en la literatura científica además de la facilidad en la adquisición de cada uno de ellos. En la tabla 8 se muestran los vehículos seleccionados, así como su valor de HLB y su referencia en ME.

Tabla 8. Componentes de SEDDS y sus valores de HLB.

Componente	HLB	Referencia
Miristato de isopropilo	11.5	[Monteiro <i>et al</i> , 2012]
Vitamina E acetato	6	[WO2007047237A1]
Ácido oleico	20	[WO2007047237A1]
Tween 80	15	[Mukherje <i>et al</i> , 2010]
Tween 20	16.7	[Beg <i>et al</i> , 2012]
PEG 400	11.6	[Mukherje <i>et al</i> , 2010]
Propilenglicol	11.6	[Shen & Zhong, 2006]
Transcutol	4	[Basalious <i>et al</i> , 2010]

8.3. Solubilidad de DDS en los diferentes componentes

Medir la solubilidad en los diferentes lípidos (Isopropil miristato, Aceite de ricino, Ácido oleico, Vitamina E), tensoactivos (Tween 80 y Tween 20) y co-tensoactivos (PEG 400, Propilenglicol y Transcutol).

Para determinar la solubilidad aparente nos basamos en la monografía descrita en la FEUM. Añadir 1 ml del vehículo correspondiente en un vial, para el caso de los lípidos, agregar 1 mg de DDS, mientras que para los tensoactivos la cantidad a agregar es de 10 mg. Agitar durante 30 s a intervalos de 5 min, en un periodo de 30 min. Registrar los datos de la cantidad agregada de DDS para cada caso. La cantidad de DDS agregada a los lípidos es menor debido a la formación de una pasta que impide el seguimiento del proceso.

8.4. Determinación de la miscibilidad entre lípidos, tensoactivos y co-tensoactivos

Para comprobar la miscibilidad entre los excipientes seleccionados, se analizaron tres proporciones diferentes para las mezclas del lípido con los tensoactivos seleccionados, como se muestran en las tablas 10-14. Mezclar el volumen necesario de cada componente, agitar en vórtex y mantener en reposo durante 24 h. En la tabla 9 se muestran los valores de peso molecular y densidad de cada uno de los componentes, con el fin de determinar el volumen necesario de cada uno para la prueba de miscibilidad.

Tabla 9. Valores de peso molecular y densidad de los componentes seleccionados.

Compuesto	PM (g/mol)	Densidad (mg/ml)
Vitamina E	472.74	952
Propilenglicol	76.09	1040
Tween 20	1227.54	1110
Tween 80	1310	1080
PEG 400	380	1128
Transcutol	134.17	990

Tabla 10. Relación de proporciones binarias para vitamina E y propilenglicol.

Compuesto	% w/w	Moles	Xmolar	Volumen necesario (ml)
Vitamina E	30	0.00063	6.453	0.315
Propilenglicol	70	0.00920	93.547	0.673
Vitamina E	50	0.00106	13.864	0.525
Propilenglicol	50	0.00657	86.136	0.481
Vitamina E	70	0.00148	27.302	0.735
Propilenglicol	30	0.00394	72.698	0.288

Tabla 11. Relación de proporciones binarias para vitamina E y tween 20.

Compuesto	% w/w	Moles	Xmolar	Volumen necesario (ml)
Vitamina E	30	0.00063	52.671	0.315
Tween 20	70	0.00057	47.329	0.630
Vitamina E	50	0.00106	72.196	0.525
Tween 20	50	0.00041	27.804	0.450
Vitamina E	70	0.00148	85.833	0.735
Tween 20	30	0.00024	14.167	0.270

Tabla 12. Relación de proporciones binarias para vitamina E y tween 80.

Compuesto	% w/w	Moles	Xmolar	Volumen necesario (ml)
Vitamina E	30	0.00063	54.288	0.315
Tween 80	70	0.00053	45.712	0.630
Vitamina E	50	0.00106	73.482	0.525
Tween 80	50	0.00038	26.518	0.450
Vitamina E	70	0.00148	86.606	0.735
Tween 80	30	0.00022	13.394	0.270

Tabla 13. Relación de proporciones binarias para vitamina E y PEG 400.

Compuesto	% w/w	Moles	Xmolar	Volumen necesario (ml)
Vitamina E	30	0.00063	25.623	0.315
Peg 400	70	0.00018	74.377	0.620
Vitamina E	50	0.00010	44.562	0.525
PEG 400	50	0.00013	55.438	0.443
Vitamina E	70	0.00148	65.225	0.735
PEG 400	30	0.00078	34.775	0.265

Tabla 14. Relación de proporciones binarias para vitamina E y transcutool.

Compuesto	% w/w	Moles	Xmolar	Volumen necesario (ml)
Vitamina E	30	0.00063	10.844	0.315
Transcutol	70	0.00522	89.156	0.707
Vitamina E	50	0.00106	22.107	0.525
Transcutol	50	0.00373	77.893	0.505
Vitamina E	70	0.00148	39.840	0.735
Transcutol	30	0.00224	60.160	0.303

8.5. Desarrollo de los diagramas de fase pseudo-ternarios

8.5.1. DDE con vértices extremos

Se creó un diseño experimental de mezclas con vértices extremos en el software Statgraphics Centurion XVI.II para establecer el área de emulsificación y generar las proporciones a probar de los componentes, los cuales se identifican como (X1) fase oleosa, (X2) mezcla tensoactivo:co-tensoactivo (Ts-Cs) y (X3) fase acuosa.

Las restricciones del DDE para cada uno de los componentes son: Fase oleosa (20-75%), Ts-Cs (1:1) (20-85%) y Fase acuosa (15-70%). Los co-tensoactivos a probar son propilenglicol y transcutool.

Su preparación consistió en mezclar las cantidades correspondientes de cada componente, primero se agregó el lípido seguido de la adición de la mezcla de Ts-Cs, se agitó para homogenizar y por último se agregó la solución acuosa de HCl pH 1.2 y se agitó en vórtex durante 10 s. Una vez obtenidas las formulaciones se mantuvieron en reposo durante 24 h y se midió el tamaño de partícula e índice de polidispersión en el equipo Malvern® Zetasizer Nano-ZS90 detallado en la sección 8.6.1.

8.5.2. Método de titulación del agua

Primero se establecieron las proporciones de fase oleosa:Ts-Cs a probar: 75:25 y 25:75, respectivamente. Una vez obtenidas las formulaciones, se hizo una prueba piloto en la cual se les agregó la fase acuosa gota a gota hasta observar un cambio físico en la mezcla. El cambio conste en pasar de una mezcla transparente a una mezcla lechosa. Se registraron los datos de la fase acuosa agregada y posteriormente mediante el software OriginPro® 8 se establecieron manualmente las proporciones con base a la prueba piloto para mantener dicha mezcla al agregar la fase acuosa.

8.6. Caracterización de las formulaciones

8.6.1. Determinación de tamaño de partícula e índice de polidispersión

En un vial de vidrio se mezclaron las porciones adecuadas de vitamina E y la mezcla de tween 80:transcutol 1:1, se agitaron en el vórtex para su generar una mezcla homogénea y se dejaron en reposo durante 24 h. Posteriormente, se tomó una cantidad de 50 µl de SEDDS y se agregaron a 25 ml de HCl_{ac} y se agitaron nuevamente. En una celda de plástico se colocaron aproximadamente 1 ml de cada formulación, para su posterior análisis de tamaño de partícula e índice de polidispersión mediante la técnica de dispersión de luz dinámica en el equipo Malvern® Zetasizer Nano-ZS90.

8.7. Solubilidad de DDS en los sistemas autoemulsificantes

Las formulaciones empleadas para determinar la solubilidad de DDS contienen una mezcla de Ts-Cs y lípido bien definido. Para cada formulación, se toma 1 ml y se colocan en un vial de vidrio de 3 ml con agitador magnético. Posteriormente se adiciona DDS en porciones de 10 mg a intervalos de 5 minutos hasta observar que no se disuelve más fármaco.

8.8. Estudios de perfil de liberación *in vitro*

La metodología para los estudios de perfil de liberación involucran la realización de la liberación a través de membranas de dialisis y la posterior cuantificación del fármaco liberado en el medio. A continuación se describen ambos procedimientos.

8.8.1. Procedimiento para la liberación del fármaco

24 h previas al ensayo, dejar remojando la membrana de diálisis en la solución HCl pH 1.2.

El dispositivo para la liberación del fármaco requiere de una parrilla de agitación magnética múltiple que soporta un recipiente de acrílico lleno de agua que se encuentra a 37 °C regulada por un termocirculador. Dentro del tanque de agua se colocan 6 vasos de precipitados de 100 ml dentro de los cuales se colocan 50 ml de la solución HCl_{ac} pH 1.2 y se agita a 150 rpm. Se permite que el medio de liberación se equilibre térmicamente con el baño de agua. Posteriormente se coloca la formulación dentro de un saco preparado con membrana de diálisis, que previamente se ha sumergido en el medio de liberación, y se soporta de una varilla de madera para su inmersión parcial en el medio. La figura 13 muestra el montaje del dispositivo utilizado. Montar el equipo con el termostato para regular temperatura a 37°C.

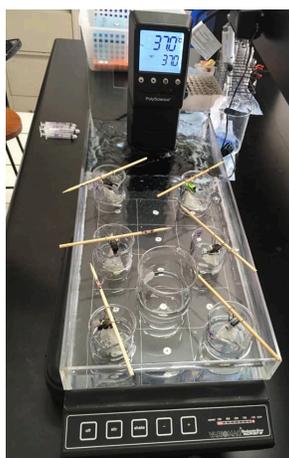


Figura 12. Dispositivo para realizar prueba de liberación *in vitro*.

Una vez que se sumerge el saco con la formulación se toman muestras de 3 ml durante 7 horas a intervalos de 10 minutos en la primer media hora, 15 minutos la segunda primer media hora, y posteriormente a intervalos de 30 minutos hasta las 4 horas y finalmente cada hora hasta completar el tiempo establecido. Después de cada toma de muestra, el medio se repone con solución HCl_{ac} atemperada. Las muestras se analizan por espectrofotometría UV-vis.

8.8.2 Curvas de calibración para cuantificación de DDS

Para cuantificar DDS es necesario realizar las curvas de calibración a través de espectrofotometría UV-vis. Particularmente, DDS presenta un máximo de absorción a 290 nm. El procedimiento para la curva de calibración se describe a continuación.

Se prepara una solución stock de 40 µg/ml a partir de 1 mg de DDS en 25 ml de solución HCl_{ac} se debe pesar 1 mg y aforar a 25 ml con solución HCl_{ac} pH 1.2. Posteriormente, se toma la alícuota necesaria para preparar diluciones de 5 ml y de concentración 30, 20, 15, 10, 7, 5 y 3 µg/ml.

Estas soluciones se analizaron a través del espectrofotómetro UV-vis para obtener la absorbancia a 290 nm.

9. Resultados y Discusión

9.1 Solubilidad aparente de DDS

En la figura 13 se presenta la solubilidad de DDS en los diferentes vehículos, siendo más soluble en tween 20, transcitol, y vitamina E. Seleccionamos transcitol (co-tensoactivo) debido a su gran capacidad para solubilizar DDS, tween 80 (tensoactivo) por sus propiedades emulsificantes y su HLB = 15, que indica la capacidad para formar emulsiones estables del tipo O/W, y vitamina E (lípido) por su antecedente de reducir la hidroxilación de DDS durante el metabolismo hepático [Prussick *et al*, 1992]. A pesar de que no se logra ver una diferencia de la solubilidad de DDS en los lípidos, al comparar todas las mezclas, vitamina E presenta menor precipitación de DDS después del reposo de 24 h.

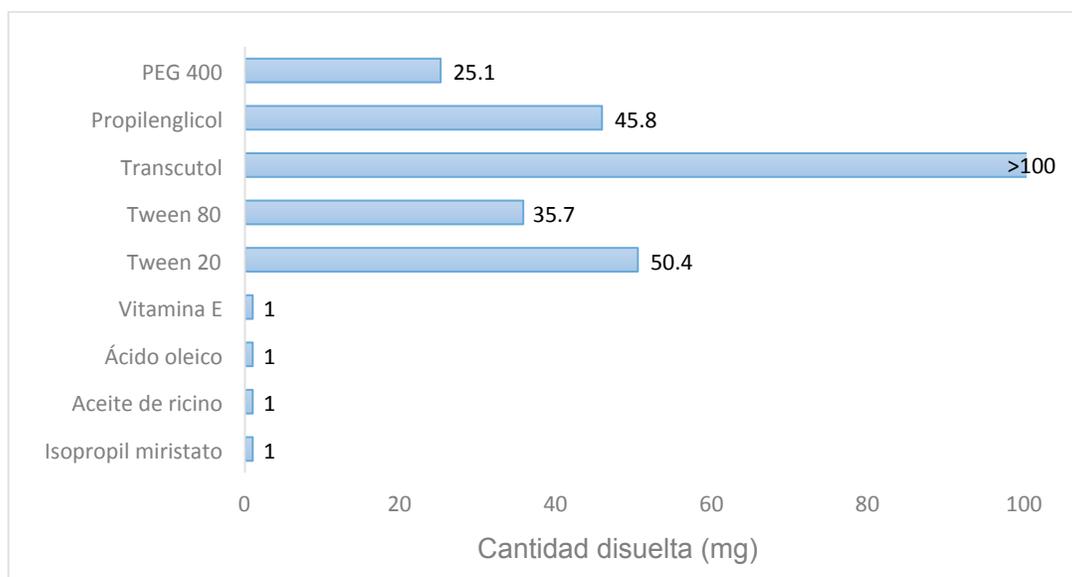


Figura 13. Solubilidad de DDS a temperatura ambiente.

También se decidió probar el propilenglicol como posible co-tensoactivo debido a su gran capacidad de solubilizar dapsona.

9.2. Miscibilidad de los componentes seleccionados

En la evaluación de la miscibilidad de vitamina E con cada tensoactivo por separado, observamos el comportamiento de la mezcla binaria a tres diferentes composiciones.

A pesar de que el comportamiento de una mezcla binaria sea distinto de una mezcla terciaria, esta prueba nos ayuda a comprobar aquel componente miscible con el lípido seleccionado como nuestra fase oleosa.

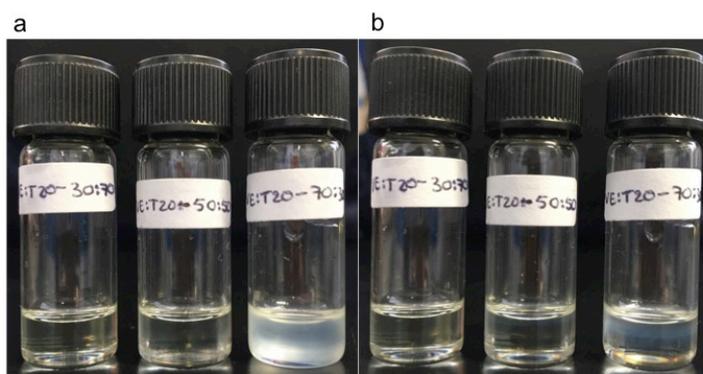


Figura 14. Miscibilidad de la mezcla binaria de vitamina E y tween 20 después de la agitación (a) y en reposo (b) de las proporciones 30:70, 50:50 y 70:30.

En la figura 14 podemos observar que a una mayor proporción de vitamina E existe una tendencia a la separación de fases. De manera similar ocurre en las figuras 15 y 16, donde observamos que la vitamina E no es miscible con el propilenglicol ni con PEG 400 en las diferentes proporciones.

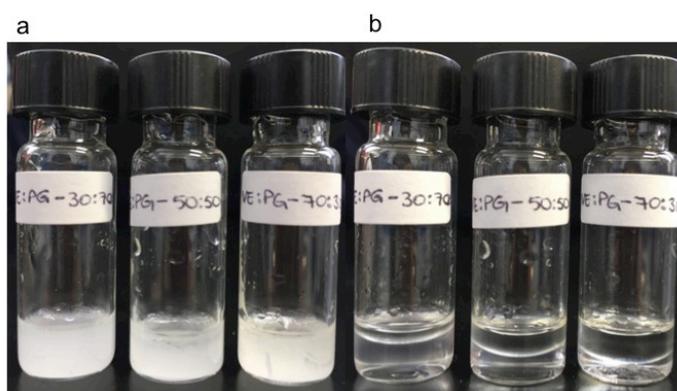


Figura 15. Miscibilidad de la mezcla binaria de vitamina E y propilenglicol después de la agitación (a) y en reposo (b) de las proporciones 30:70, 50:50 y 70:30.

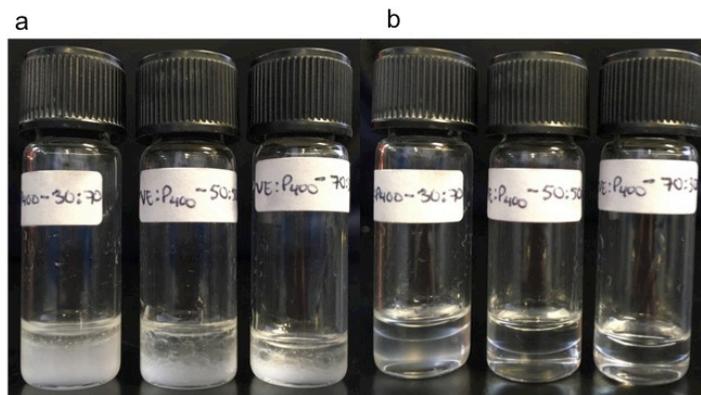


Figura 16. Miscibilidad de la mezcla binaria de vitamina E y PEG 400 después de la agitación (a) y en reposo (b) de las proporciones 30:70, 50:50 y 70:30.

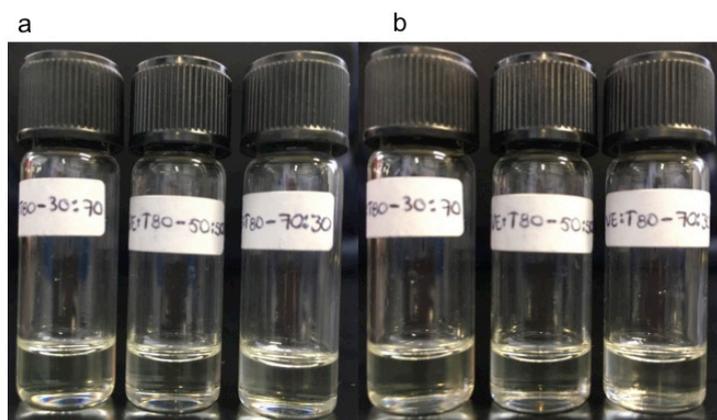


Figura 17. Miscibilidad de la mezcla binaria de vitamina E y tween 80 después de la agitación (a) y en reposo (b) de las proporciones 30:70, 50:50 y 70:30.

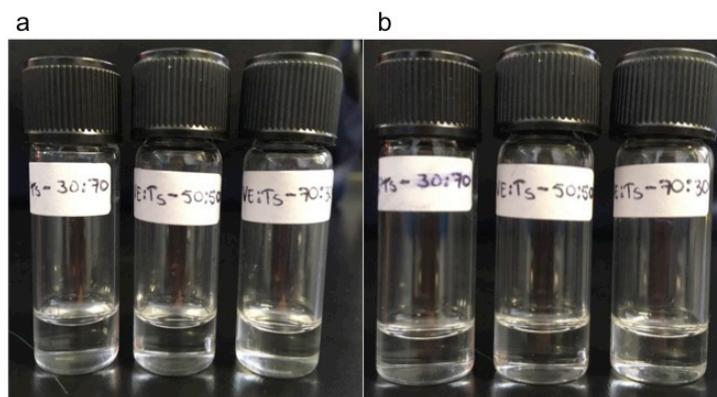


Figura 18. Miscibilidad de la mezcla binaria de vitamina E y transcutool después de la agitación (a) y en reposo (b) de las proporciones 30:70, 50:50 y 70:30.

En las figuras 17 y 18 las mezclas binarias se observan como una mezcla homogénea, además de que fueron las únicas que no sufrieron coalescencia después de haberlas mantenido en reposo.

9.3. Evaluación por el DDE vértices extremos

Los componentes seleccionados para generar los sistemas autoemulsificantes se basaron en los estudios de solubilidad de DDS y miscibilidad que se presentaron en las secciones 6.1 y 6.2. Estos componentes son Vitamina E (lípido), Tween 80 (tensoactivo), transcutil (co-tensoactivo) y propilenglicol (co-tensoactivo).

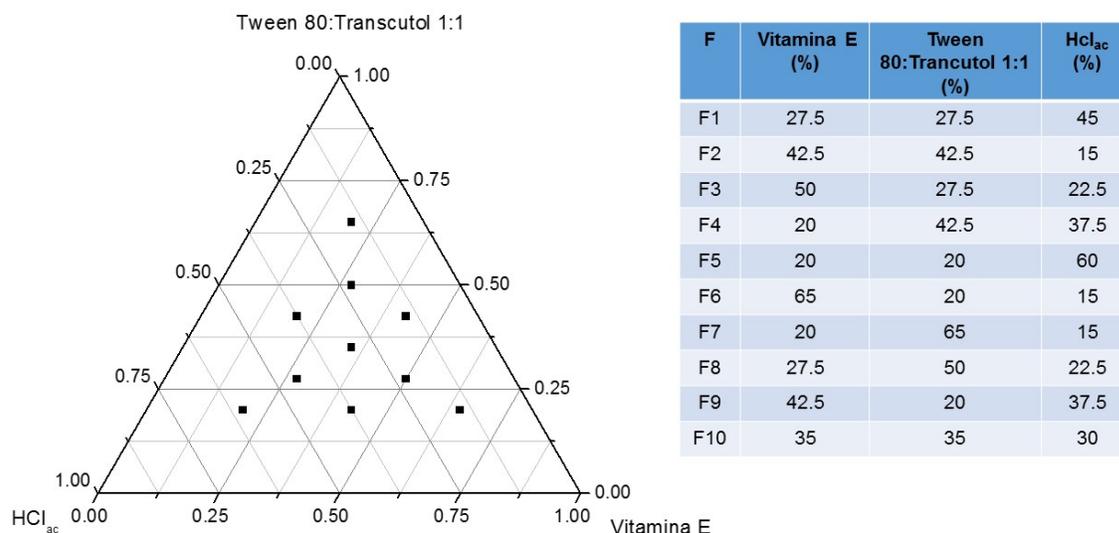


Figura 19. Diagramas pseudoternario y matriz experimental del DDE de mezclas con vértices extremos.

La figura 19 muestra la proporción de cada componente en cada una de las diferentes formulaciones, y el área del diagrama pseudoternario a evaluar con vitamina E y la mezcla de Ts-Cs, Tween 80-Transcutol (1:1).

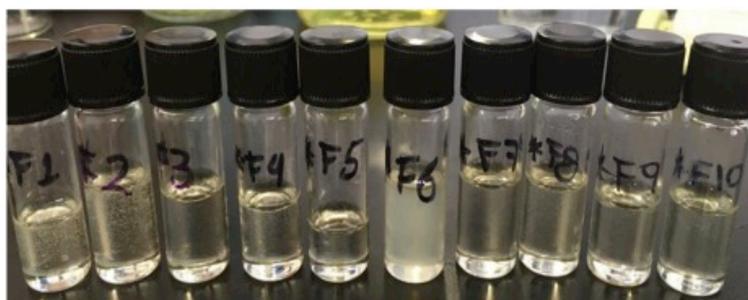


Figura 20. Apariencia visual de las formulaciones con vitamina E + tween80-transcutol 1:1 + HCl_{ac}.

Las figuras 20 y 21 muestran la evaluación visual de las formulaciones preparadas, observando que el cambio de co-tensoactivo afecta la emulsificación del sistema. Al usar transcutool (figura 21) obtenemos emulsiones transparentes indicando la generación de ME, mientras que el uso de propilenglicol (figura 22) genera emulsiones lechosas, las cuales refieren a emulsiones gruesas.

Tabla 15. Valores de talla y Pdl de las formulaciones con vitamina E + tween 80:transcutool 1:1 + HCl_{ac} .

F	Talla (nm)	Pdl
F1	80.95 ± 4.2	0.525 ± 0.11
F2	1772 ± 3017	1
F3	2807 ± 2173	0.471 ± 0.23
F4	2108 ± 1996	0.588 ± 0.39
F5	22.81 ± 2.21	0.358 ± 0.008
F6	144.9 ± 17.1	1
F7	468.8 ± 25.2	0.429 ± 0.05
F8	4673 ± 492.0	1
F9	121.2 ± 14.5	0.388 ± 0.03
F10	1551 ± 1733	0.833 ± 0.01

Observamos que las formulaciones F1, F5 y F9 generan tamaños de gota que entran en el rango de los SNEDDS (<200nm). Este resultado es significativo porque se encuentra orientado a la región donde la solución ácida está en mayor proporción.



Figura 21. Apariencia visual de las formulaciones con vitamina E + tween 80-transcutool 1:1 + HCl_{ac} .

Tabla 16. Valores de talla y Pdl de las formulaciones con vitamina E + tween 80:propilenglicol 1:1 + HCl_{ac}.

F	Talla (nm)	Pdl
F1	79.57 ± 7.48	0.457 ± 0.003
F2	240.3 ± 28.14	0.918 ± 0.07
F3	1523 ± 1528	1
F4	570.3 ± 32.78	0.852 ± 0.10
F5	11.51 ± 0.33	0.326 ± 0.004
F6	428.7 ± 132.4	1
F7	36020 ± 17710	1
F8	1499 ± 1963	0.808 ± 0.26
F9	110.6 ± 20.50	0.439 ± 0.02
F10	491.6 ± 114.4	0.786 ± 0.02

Para el mismo diseño experimental también se probó la proporción Ts-Cs 3:1, sin embargo, los resultados no fueron tan satisfactorios debido a la formación de geles en la mayoría de las formulaciones (figura 22), particularmente la F7 se conserva sin apariencia lechosa pero es un fluido muy viscoso. Por lo tanto, descartamos la proporción 3:1. Al probar la mezcla Ts-Cs 2:1 se observa el mismo efecto.

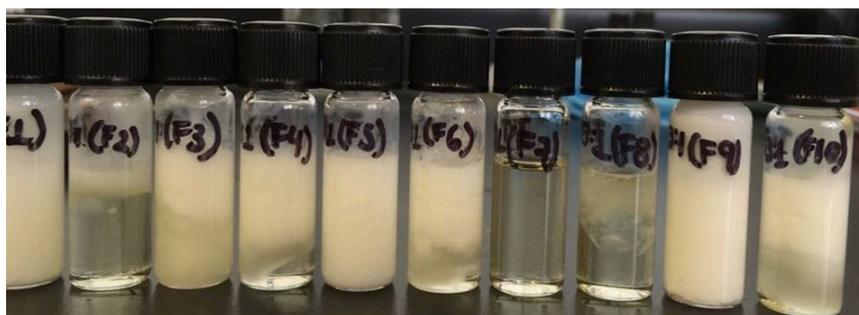


Figura 22. Apariencia visual de las formulaciones con vitamina E + tween 80:transcutol 3:1 + HCl_{ac}.

Debido a la obtención de emulsiones lechosas y de cristales líquidos obtenidos con propilenglicol y a las altas tallas que presentaron las formulaciones, decidimos analizar la mezcla de Ts-Cs Trascutol:Tween 80 1:1 por ser una mezcla homogénea y por su estabilidad física.

Con base a los resultados obtenidos decidimos crear un diagrama de fase ternario que incluyera únicamente a los componentes del sistema lipídico (vitamina E, tween 80 y

transcutol). En la figura 23 se muestran las proporciones de cada componente en las diferentes formulaciones propuestas.

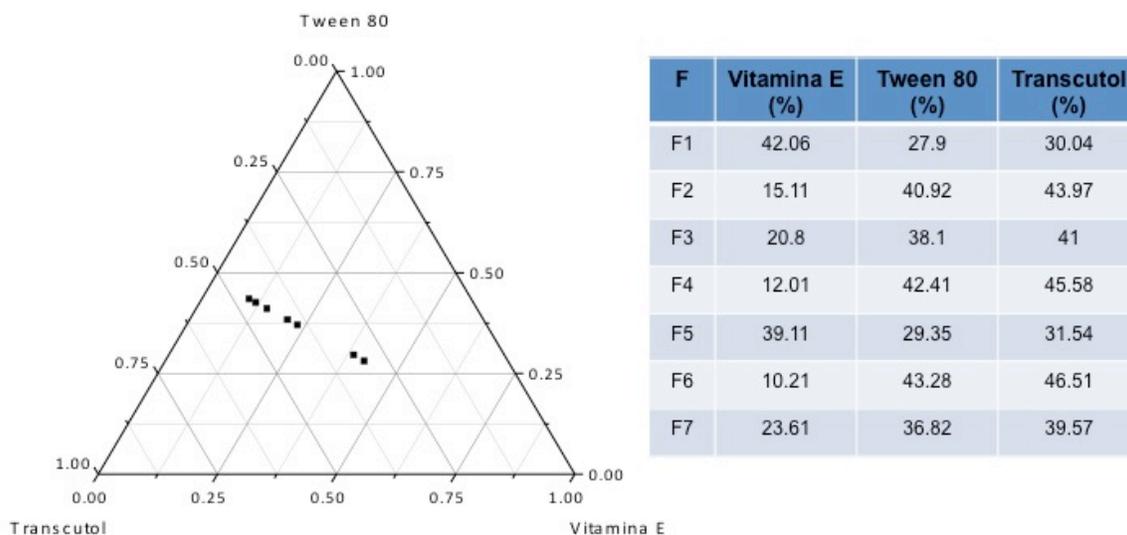


Figura 23. Diagrama de fase ternario y matriz experimental de los sistemas lipídicos propuestos.

Al dispersar las muestras en medio acuoso ácido podemos observar como se genera una NE en F1 y F5 por su aspecto opalescente, mientras que en el resto de las muestras observamos la formación de una ME por su aspecto traslúcido. En la F1 y F5 hay mayor cantidad de vitamina E, razón por la que se ven opacas.

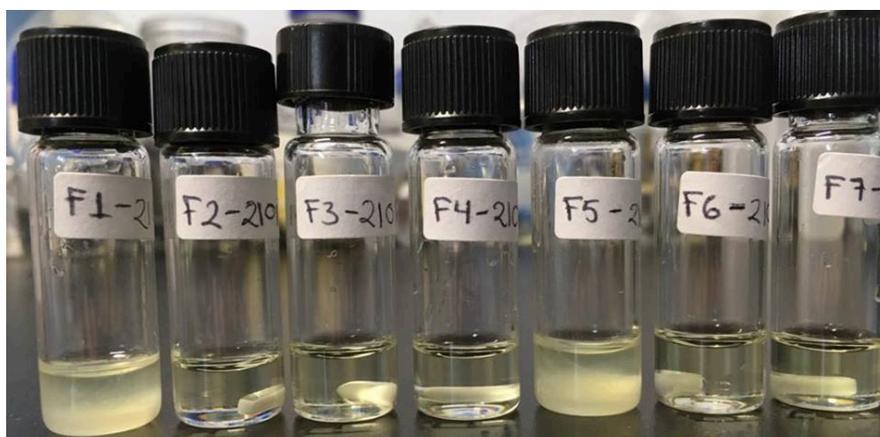


Figura 24. Formulaciones evaluadas con vitamina E, tween 80:transcutol 1:1.

El aspecto lechoso de las formulaciones F1 y F5 en la figura 24, se debe a la alta proporción (>30%) del lípido en el sistema, lo cual afecta la cantidad de DDS que son capaces de solubilizar. Se debe tomar en cuenta que las dosis recomendadas son de 50 y 100 mg.

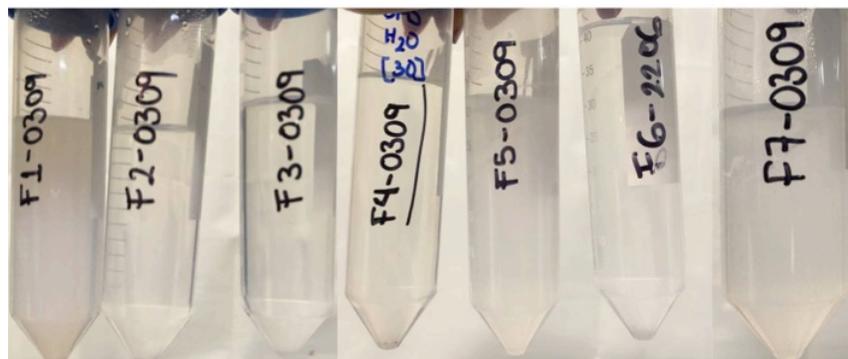


Figura 25. Formulaciones dispersadas en medio acuoso ácido, correspondientes a las mostradas en la figura 24.

Para establecer la cantidad máxima de fármaco que pueden contener las formulaciones una vez que entran en contacto con la fase HCl_{ac} . La figura 26 muestra las solubilidades aparentes de DDS bajo dichas condiciones.

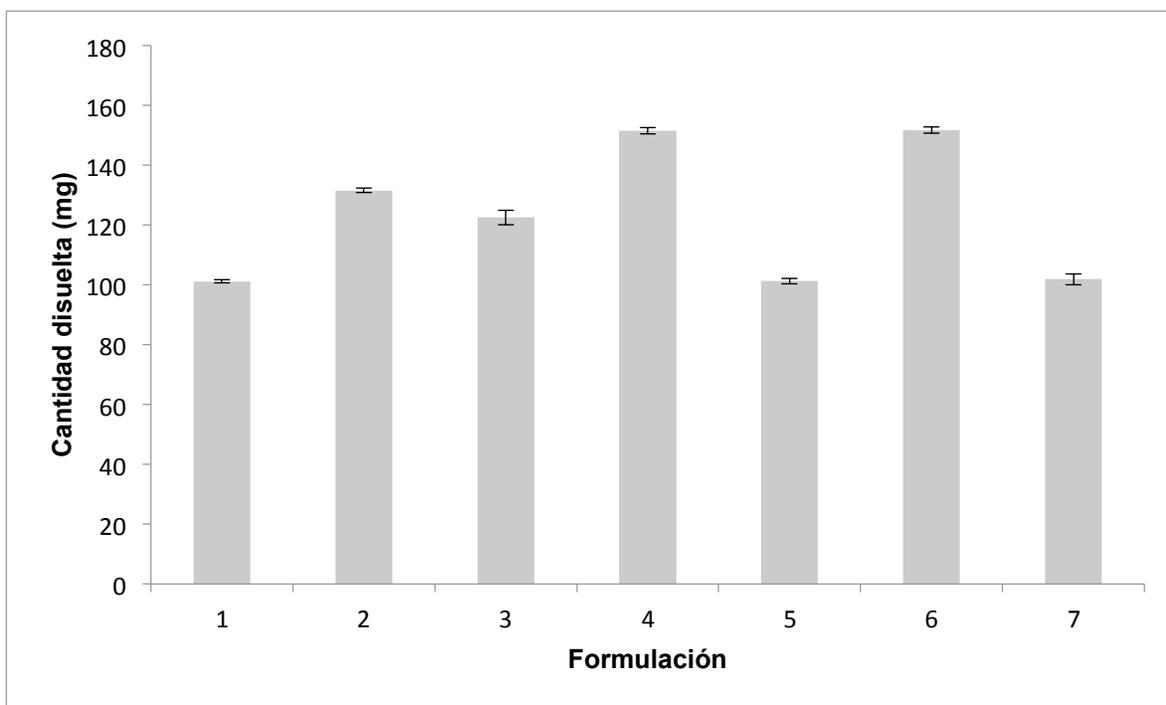


Figura 26. Solubilidad aparente de DDS en las diferentes formulaciones.

En base a nuestros resultados podemos observar que las formulaciones F2, F4 y F6 son las que lograron disolver una mayor cantidad de fármaco, posiblemente debido a que dichas formulaciones presentan una mayor proporción de la mezcla Ts-Cs.

Al emplear una carga de 100 mg de fármaco observamos un incremento en la talla de las formulaciones, siendo más notorio este incremento en las formulaciones F1, F5, F6 y F7 (figura 27). El aumento en el valor de talla esta relacionado con la cantidad de lípido y fármaco contenido en las formulaciones.

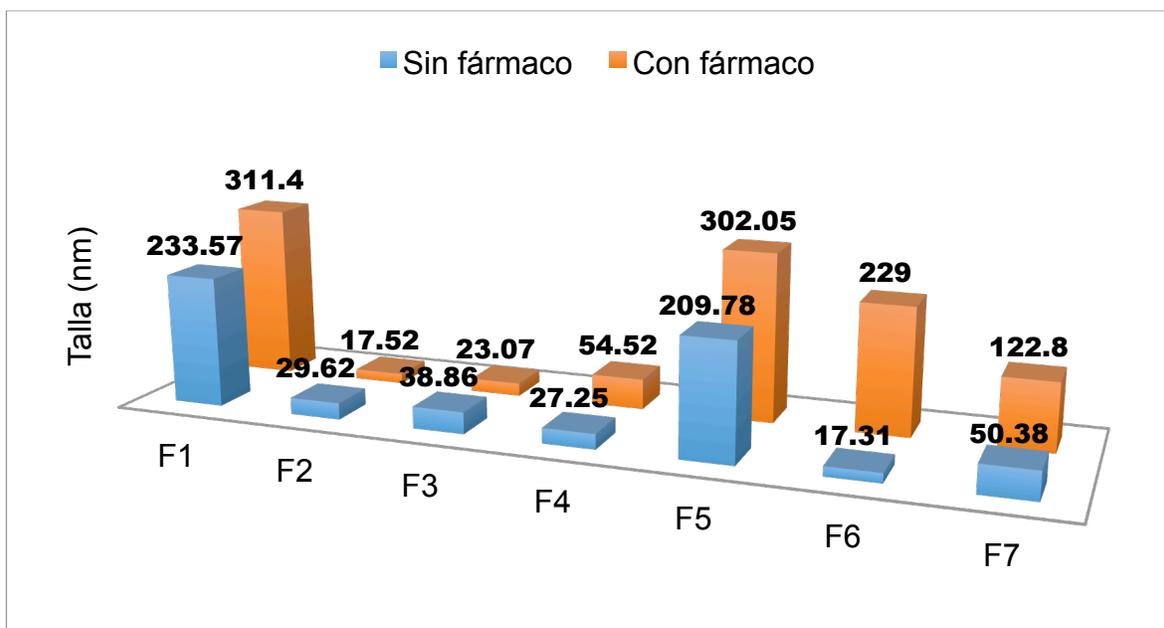


Figura 27. Comparación de los valores de talla de las formulaciones con y sin fármaco.

En el caso del Pdl (figura 28) podemos observar que F1, F3, F6 y F7 sufren un aumento de su valor en presencia del fármaco, mientras que F2 se mantiene sin cambio significativo.

Particularmente F4 y F5 sufren una disminución del valor de Pdl, lo cual se puede atribuir al tiempo transcurrido para realizar la lectura de las muestras.

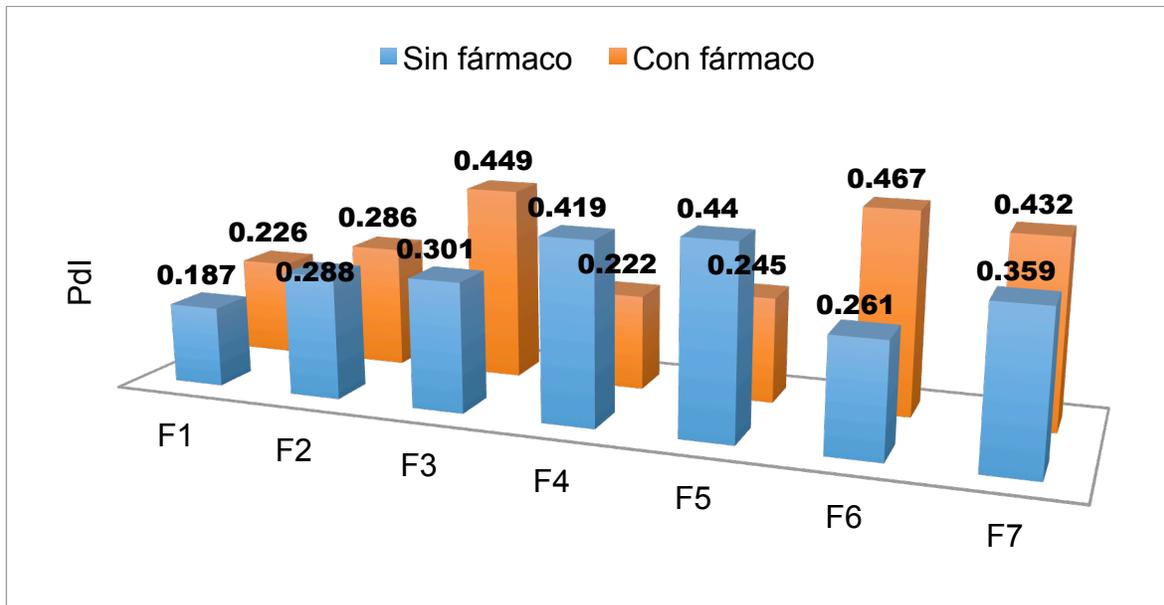


Figura 28. Comparación de los valores de PDI de las formulaciones con y sin fármaco.

En el diagrama de fase pseudo-ternario no se puede apreciar el área de emulsificación debido a que la proporción de solución HCl_{ac} es mayor al 95 % dejando las siete coordenadas cercanas al vértice de la solución ácida y traslapadas entre ellas.

9.4 Evaluación por el método de titulación del agua.

Como parte del desarrollo experimental decidimos explorar el diagrama de fases a través del método de titulación del agua. Lo cual representa el efecto de dilución de las formulaciones con una proporción relativa vitamina E-Ts-Cs constante.

Al seguir experimentalmente el recorrido que representa una línea recta sobre las proporciones 1:3 (25:75) y 3:1 (75:25) de Vitamina E:Ts-Cs (figura 29) observamos que el tamaño de partícula disminuye proporcionalmente al incrementar la cantidad de $HCl_{(ac)}$.

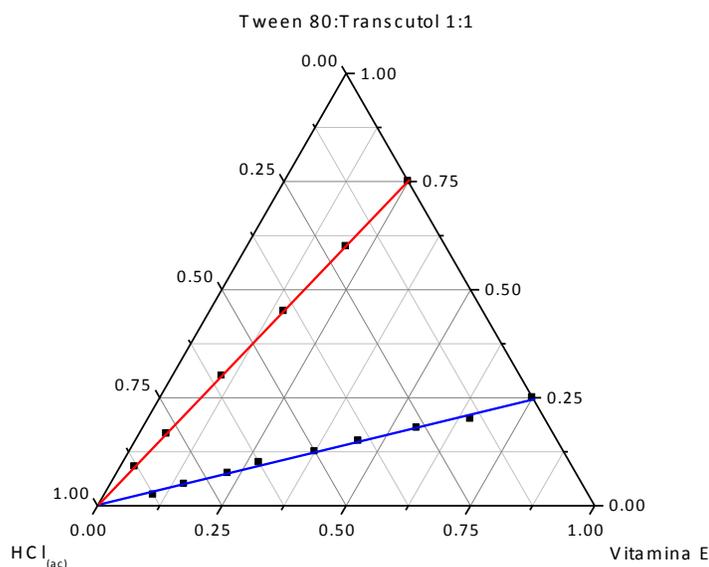


Figura 29. Diagrama de fase pseudoternario de la mezcla vitamina E + tween 80:transcutol 1:1 de HCl(ac).

Para evaluar el efecto de la titulación del agua generamos una matriz experimental que incluye el área deseada, manteniendo la proporción Lípido:Ts-Cs a evaluar. En las tablas 17 y 18 se muestran las tallas y los valores de polidispersión obtenidas en las proporciones evaluadas.

Tabla 17. Proporciones, talla y Pdl de las mezclas Lípido:Ts-Cs (3:1).

Formulación	Vitamina E (%)	Tween 80:Transcutol 1:1 (%)	HCl _{ac} (%)	Tamaño de gota (nm)	Pdl
F1	75	25	0	$3.2 \times 10^4 \pm 1.04 \times 10^4$	0.947 ± 0.092
F2	65	20	15	3911 ± 424.5	1
F3	55.26	18	26.75	680.6 ± 258.3	0.596 ± 0.161
F4	45	15	40	47.22 ± 2.49	0.350 ± 0.004
F5	37.5	12.5	50	40.58 ± 0.592	0.372 ± 0.010
F6	27.5	10	62.5	40.75 ± 7.73	0.371 ± 0.02
F7	22.5	7.5	70	49.39 ± 30.58	0.360 ± 0.127
F8	15	5	80	150.4 ± 115.5	0.473 ± 0.315
F9	10	2.5	87.5	55.65 ± 32.68	0.459 ± 0.246

Los valores altos de Pdl en las F1 son consecuencia de la ausencia del medio dispersante, porque que no se ha adicionado la solución HCl_{ac}. De F4-F9 se encuentran tallas menores a 200 nm y valores de Pdl < 0.7. Sin embargo, hemos descartado las formulaciones que contienen propilenglicol debido a su aspecto lechoso y su posterior floculación.

Tabla 18. Proporciones, talla y PDI de las mezclas Lípido:Ts-Cs (1:3).

Formulación	Vitamina E (%)	Tween 80:Transcutol 1:1 (%)	HCl _{ac} (%)	Tamaño de gota (nm)	Pdl
F1	25	75	0	73.8 ± 20.91	0.948 ± 0.055
F2	20	60	20	802.9 ± 31.62	0.420 ± 0.084
F3	15	45	40	784.9 ± 78.16	0.380 ± 0.091
F4	10	30	60	104.0 ± 12.85	0.343 ± 0.033
F5	5.55	16.66	77.77	177.0 ± 38.02	0.375 ± 0.011
F6	3	9	88	133.2 ± 73.33	0.484 ± 0.003

En consecuencia, decidimos explorar las proporciones vitamina E:Ts-Cs 1:9, 1:3 y 1:1 siendo la proporción de Ts-Cs 1:1, constante en los tres casos, y con transcutol como el co-tensioactivo seleccionado.

En base a la capacidad de solubilización del fármaco, al tamaño de partícula generado y al Pdl de cada formulación, decidimos escoger las formulaciones F6 y F7 que tuvieran los mejores resultados para realizar las pruebas de perfil de liberación *in vitro*.

9.5. Estudios de liberación *in vitro*

Previo a las pruebas de perfil de liberación es necesario establecer la curva de cuantificación de DDS a través de espectrofotometría UV-vis. DDS tiene un máximo de absorción a 290 nm. Su espectro solo sufre interferencia por parte de la vitamina E, sin embargo esta no afecta significativamente la cuantificación del fármaco.

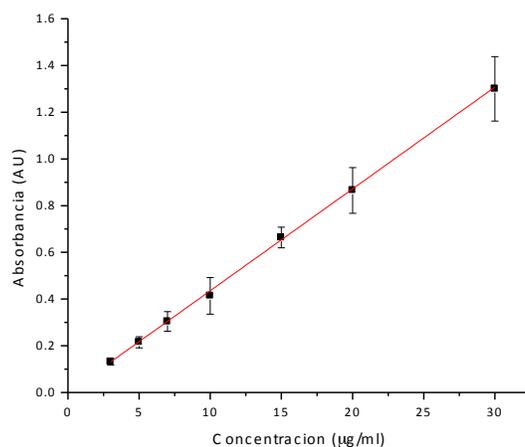


Figura 30. Curva de cuantificación de DDS en HCl_{ac}.

La tabla 19 muestra los valores de la regresión lineal obtenidos a partir de los datos de la figura 30 de solución de DDS en HCl_{ac} como medio de liberación.

Tabla 19. Parámetros de regresión.

Compuesto	Pendiente	Ordenada al origen	R ²
DDS	0.0434 ± 0.0027	1.62x10 ⁻⁵ ± 0.0177	0.99925

A partir del método descrito en la sección 8.8, se realizaron los experimentos de liberación para F6 y F7 en ausencia y presencia de DDS. Los experimentos sin fármaco tenían como objetivo determinar la presencia de aquellos excipientes que son capaces de cruzar la membrana de diálisis, particularmente vitamina E, la cual absorbe en una región UV-vis similar al fármaco.

En el anexo 1 y 2 se muestran las gráficas de absorbancia vs tiempo para ambos casos. A partir de esta concluimos que el excipiente que atraviesa la membrana no contribuye significativamente a la cuantificación del fármaco.

La figura 31 muestra el porcentaje de masa acumulada de DDS en función del tiempo. Y para ambas formulaciones se observa un comportamiento idéntico. En los primeros 50 minutos se observa un incremento ca 30 % y alcanza su valor máximo ca 50 % a los 150 minutos. Posteriormente la masa acumulada disminuye paulatinamente.

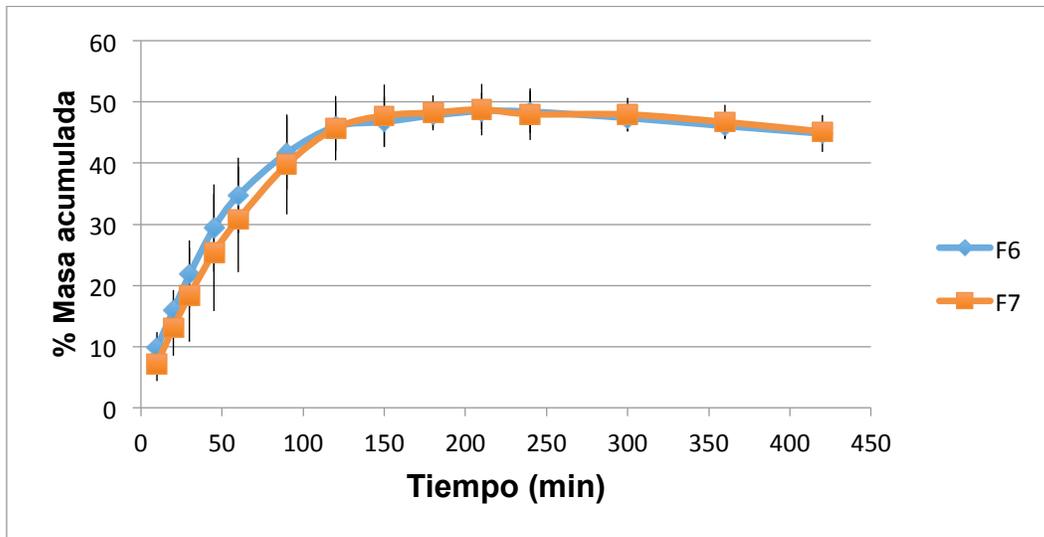


Figura 31. Perfil de liberación del fármaco.

Estudios previos de disolución intrínseca de DDS en HCl_{ac} pH 1.2 muestran que el porcentaje de masa acumulada a 150 minutos es del 20 % [Sanchez-Segoviano, 2018]. Esto implica que la liberación a partir de F6 y F7 incrementa al doble la liberación del fármaco. La solubilidad aparente de DDS en la solución HCl_{ac} a temperatura ambiente es de 5.3 mg/ml, mientras que la del hidrato de DDS bajo las mismas condiciones es de 1.3 mg/ml. Tomando en cuenta los datos anteriores, podemos esperar que al prolongar el tiempo de las liberaciones se observe la formación de un precipitado, el cual correspondería al hidrato de DDS.

Con respecto a la apariencia física de las formulaciones al término del experimento, la figura 33 nos muestra que F6 se mantiene como una solución homogénea transparente (microemulsión) mientras que F7 tiene apariencia turbia homogénea (nanoemulsión). En ambos casos no se observa la presencia de polvo precipitado en el fondo de los recipientes ni floculación después de dos semanas a temperatura ambiente. Esto significa que DDS o su hidrato no están separándose de la formulación. Esto es ventajoso en términos de una nueva formulación para dapsona.



Figura 32. Fotografías del medio de liberación de las formulaciones F6 y F7 al término del experimento de liberación *in vitro*.

La disminución de la masa acumulada puede deberse a la saturación del medio de liberación y el fármaco puede 1) precipitar en el medio o 2) establecer un equilibrio entre las fases separadas por la membrana. Sin embargo, después de 2 semanas de reposo de los recipientes no se observa la presencia de polvo precipitado. Por tanto, y debido a que el experimento no se realiza en condiciones sink, la segunda opción sea factible. Para demostrar esta propuesta de comportamiento sería necesario monitorear la masa de fármaco dentro del saco de dialisis en función del tiempo. Estos experimentos quedan como perspectiva del proyecto.

10. Conclusiones

- A partir de los experimentos de solubilidad y miscibilidad se seleccionaron la vitamina E, Tween 80, propilenglicol y transcitol (lípidos, tensoactivo co-tensoactivo, respectivamente) como los componentes para las formulaciones a evaluar.
- Posteriormente se descartó el uso de propilenglicol como co-tensoactivo debido a la separación de fases líquidas en las formulaciones evaluadas.
- La implementación de un diseño experimental de vértices extremos permitió obtener los diagramas de fase pseudoternarios para la evaluación de las regiones emulsificantes.
- La implementación del método de titulación del agua permitió analizar el comportamiento de las formulaciones ante la dilución con el medio dispersante. Esta metodología comprobó que las regiones establecidas por el diseño experimental anterior se mantienen sin variación.
- Las formulaciones F6 y F7 generan buenos tamaños de partícula y además soportan una adecuada dosis del fármaco evitando su precipitación.
- La prueba de liberación *in vitro* nos permitió ver que el 50 % de la dosis ocurre a las 3 horas. Incrementando dos veces su valor en comparación con la disolución intrínseca del fármaco.
- Las muestras obtenidas de los experimentos de liberación no muestran la presencia de sólido. Esto indica que DDS se mantiene en forma líquida estable (solubilizada) durante tiempos mayores a lo permitido por la precipitación de su hidrato.

11. Perspectivas del proyecto

1. Se sugiere analizar al sistema emulsificante mediante la técnica de microscopía, para poder observar la forma de las gotas generadas durante la autoemulsificación.
2. Establecer el comportamiento del perfil de liberación en un período más largo de tiempo para determinar si la disminución de la masa acumulada en función es afectada por la precipitación de DDS o por un equilibrio de distribución entre la fase interna del saco y el medio dispersante.
3. Llevar a cabo los estudios de estabilidad, establecer el comportamiento termodinámico como micro o nano emulsión de las formulaciones F6 y F7 para observar la separación de fases o la precipitación del fármaco.
4. Preparar cápsulas de gelatina blanda/dura par estudiar la estabilidad de la nueva forma farmaceutica así como las posibles interacciones entre el contenedor con DDS y los excipiente.

12. Referencias

- Acquir-Immun J. Recommendations for prophylaxis against *Pneumocystis carinii* pneumonia for persons infected with human immunodeficiency virus. *Defic Syndr.* **1993**.
- Anton, N and Vandamme, T.F. Nano-emulsions and micro-emulsions: clarifications of the critical differences. *Pharm. Res.* **2011**, 28, 978 – 985.
- Balakrishnan P., Lee B.J., Oh D.H., Kim J.O., Hong M.J., Jee J.P., Kim J.A., Yoo B.K., Woo J.S., Yong C.S. and Choi H.G. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2009**, 72, 539–545.
- Basalious E.B., Shawky N. and Badr-Eldin S.M. SNEDDS containing bioenhancers for improvement of dissolution and oral absorption of lacidipine. I: development and optimization. *Int. J. Pharm.* **2010**, 391, 203-211.
- Beg S., Swain S., Singh H.P., Patra Ch.N. and Rao M.E. Development, optimization, and characterization of solid self-nanoemulsifying drug delivery systems of valsartan using porous carriers. *AAPS PharmSciTech* **2012**, 13, 1416-1427.
- H.-D. Belitz; W. Grosch; P. Schieberle. Food chemistry. **2004**, Tercera edición.
- Boletín Epidemiológico Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica Sistema Único de Información, semana 52 [Consultado el 07 de enero de 2019 en https://www.gob.mx/salud/documentos/_-boletinepidemiologico-sistema-nacional-de-vigilancia-epidemiologica-sistema-unico-de-informacion].
- Booth S.A., Moody Ch.E., Dahl M.V., Herron M.J. and Nelson R.D. Dapsone suppresses integrin mediated neutrophil adherent function. *J Invest Dermatol.* **1992**, 98, 135-40.
- Borges V.R., Simon A., Cuello-Sena A.R., Mendes-Cabral L. and de Sousa V.P. Nanoemulsion containing dapsone for topical administration: a study of in vitro release and epidermal permeation. *International Journal of Nanomedicine.* **2013**, 8, 535-544.
- Chanamai R. **2007**, WO 2001/047237 A1, US, Microemulsions for use in food and beverage products.
- Chougule M., Padhi B. & Misra A. Development of spray dried liposomal powder inhaler of dapsone. *AAPS PharmSciTech.* **2008**, 9, 47-53.
- Cochrane R., Ramanujam H. and Paul H. Two and half years experimental work on sulphone group of drugs. *Leprosy Rev* **1949**, 20, 4-64.
- Concha R., Cossio T., Salazar S., Fich S., Pérez C. and González B. Enfermedad de Hansen: Revisión a propósito de un caso. *Rev Chil Infect.* **2008**, 25, 64-69.
- Constantinides P.P. Lipid microemulsion for improving drug dissolution and oral

- absorption: Physical and biopharmaceutical aspect. *Pharmaceutical Research*. **1995**, 12, 1561-1572.
- Cowdry E, Ruangsiri C. Influence of Promin, starch and heptaldehyde on experimental leprosy in rats. *Arch. Pathol.* **1941**, 32, 632-640.
 - Cuadro Básico Medicamentos del Instituto Mexicano del Seguro Social, 05 de septiembre de **2018**.
 - Date A.A. and Nagarsenker M.S. Design and evaluation of self-nanoemulsifying drug delivery systems (SNEDDS) for cefpodoxime proxetil. *Int. J. Pharm.* **2007**, 329, 166-172
 - Dixit R.P. and Nagarsenker M.S. Formulation and in vivo evaluation of self-nanoemulsifying granules for oral delivery of a combination of ezetimibe and simvastatin. *Drug Dev. Ind. Pharm.* **2008a**, 34, 1285-1296.
 - Dixit R.P. and Nagarsenker M.S. Self-nanoemulsifying granules of ezetimibe: design, optimization and evaluation. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2008b**, 35, 183-192.
 - DrugBank Database: <https://www.drugbank.ca/drugs/DB00250> [Consultado 30 octubre 2018].
 - Ellard G.A. Absorption, metabolism and excretion of di(rhoaminophenyl) sulphone (dapson) and di(rho-aminophenyl)sulphoxide in man. *Br J Pharmacol.* **1966**, 26,
 - Esteves J. and Brandao F. Acerca da accao das sulfamidias e das sulfonas na doenca de Duhring. Trab Soc Portuguesa. *Dermatol Venereol.* **1950**, 8, 209-217.
 - Fitzpatrick. Dermatología En Medicina General. *Médica Panamericana*. **2010**, Pág 2154-2155.
 - Flores P., Mondragón V., Domínguez Ch., Duque M., Torres A. & Rivera I. Preparation, characterization, intrinsic dissolution studies and microbiological assessment of dapson tosylate polymorphs. *Trop J Pharm Res.* **2018**, 17, 2321-2327.
 - Fournau E, Tréfouel J. and Nitti F. Action anti-streptococcique derives sulfurés organiques. *Compt. Rendu. Acad. Sci.* **1937**, 204, 1763-1766.
 - Fromm E, Wittmann J. Dirivate des p-nitrothiophenols. *Berichte Deutsch ChemGes.* **1908**, 41, 2264 –2273.
 - Gaytán B., Morales M., Herrera R., Reyes M. and Rivera I. Sulfonate salts of the therapeutic agent dapson: 4-[(4-aminophenyl)sulfonyl]anilinium benzenesulfonate monohydrate and 4-[(4-aminophenyl)sulfonyl]anilinium methanesulfonate monohydrate. *Acta Cryst. Sec. C.* **2016**, 72, 280-284.
 - Gennaro A.R. and Alfonso R. Remington: Farmacia. *Médica Panamericana*. **2003**, 1, pág. 334-380.

- Gibaud S. and Attivi D. Microemulsions for oral administration and their therapeutic applications. *Expert Opin. Drug Deliv.* **2012**, 9, 937-951.
- Griffin, W.C. Classification of Surface Active Agents by HLB. *J. Soc. Cosmet. Chem.* **1949**, 1, 311-326.
- Gursoy R.N. and Benita S. Self-emulsifying drug delivery systems (SEDDS) for improved oral delivery of lipophilic drugs. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **2004**, 58, 173-182.
- Gutiérrez, J.M., González, C., Maestro, A., Solé, I., Pey, C.M., and Nolla, J. Nanoemulsions: new applications and optimization of their preparation. *Curr. Opin. Coll. Int. Sci.* **2008**, 13, 245-251.
- Hauss D.J., Fogal S.E., Ficorilli J.V., Price C.A., Roy T., Jayaraj A.A. and Keirns J.J. Lipid-based delivery systems for improving the bioavailability and lymphatic transport of a poorly water-soluble LTB4 inhibitor. *J Pharm Sci.* **1998**, 87, 164-169.
- Hauss D.J. Oral lipid-based formulations: enhancing the bioavailability of poorly water soluble drugs. *Informa Healthcare*, **2007**, 1-339.
- Hilal D.R. and Brunton L.L. Goodman & Gilman. Manual de farmacología y terapéutica. *Mc Graw Hill.* **2008**, Capítulo 52.
- Jain A., Thanki K. & Jain S. Solidified self-nanoemulsifying formulation for oral delivery of combinatorial therapeutic regimen: Part I. Formulation development, statistical optimization, and *in vitro* characterization. *Pharmaceutical Research.* **2014**, 31, 923-945.
- Jara I. *Dapsona: Una droga antiinflamatoria enigmática. Sus múltiples usos en dermatología.* *Dermatol.* **1991**, 7, 47-53.
- Jara I. Dapsona sistémica y tópica, *Act Terap Dermatol.* **2007**, 30, 332-333.
- Jiang L., Huang Y., Zhang Q., He H., Xu Y. and Mei X. Preparation and Solid-State Characterization of Dapsone Drug-Drug Co-Crystals. *Cryst. Growth Des.* **2014**, 14, 4562-4573.
- Kim D.W., Kang J.H., Oh D.H., Yong C.S. and Choi H.G. Development of novel flurbiprofen-loaded solid self-microemulsifying drug delivery system using gelatin as solid carrier. *J Microencapsul.* **2012**, 29, 323-330.
- Kommuru T.R., Gurley B., Khan M.A. and Reddy I.K. Self-emulsifying drug delivery systems (SEDDS) of coenzyme Q10: formulation development and bioavailability assessment. *International Journal of Pharmaceutics*, **2001**, 212, 233-246.
- Lam, KW, Ka, MNg, Xu J, Wibowo, C, Lin G, and Luo KQ. Pharmaceutical Salt Formation Guided by Phase Diagrams. *Ind. Eng. Chem. Res.* **2010**, 49, 12503-12512.
- Lee B.L., Medina I. and Benowitz N.L. Dapsone, trimethoprim and sulfamethoxazole

plasma levels during treatment of *Pneumocystis carinii* pneumonia in patients with the acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). Evidence of drug interactions. *Ann Intern Med.* **1989**.

- Lin X., Zhang Z., Chen L., Zeng F., Luo Y. and Xu C. Sinergy in supramolecular chemistry. *J. Organomet. Chem.* **2014**, 749, 251-254.
- Linglei J., Ying H., Qi Z., Hongyan H., Yun H. & Xuefeng M. Preparation and Solid-State Characterization of Dapsone Drug-Drug Co-Crystals. *Crystal Growth & Design.* **2014**, 14, 4562-4573.
- Liu Y., Zhang P., Feng N., Zhang X., Wu S. & Zhao J. Optimization and *in situ* intestinal absorption of self-microemulsifying drug delivery system of oridonin. *Int. J. Pharm.* **2009**, 365, 136-142.
- López-Antuñano F.J. Diagnóstico y tratamiento de la lepra. *Salud Pública de México.* [Consultado el 05 octubre **2018** en <http://saludpublica.mx/index.php/spm/article/view/6059/7063>].
- Martin, A, *Physical Pharmacy*, 4th Ed., Lea Febiger, London **1993**, 127–128.
- Matsouka M. Kashiwabara Y. Namisato M. A *Mycobacterium leprae* Isolate Resistant to Dapsone, Rifampin, Ofloxacin and Sparfloxacin. *International Journal of Leprosy.* **2000**, 68, 452-455.
- Mirochnick M., Clarke D.F., McNamara E.R. and Cabral H. Biequivalence of a propylene glycol-based liquid dapsone preparation and dapsone tablets. *Am J Health Syst Pharm.* **2000**, 57, 1775-1777.
- Mohajeri, E. and Noudeh, G.D. Effect of temperature on the critical micelle concentration and micellization thermodynamic of nonionic surfactants: polyoxyethylene sorbitan fatty acid esters. *E. J. Chem.* **2012**, 9, 2268 – 2274.
- Molesworth B.D., Narayanaswami P.S. & Simpson I.A. The treatment of lepromatous leprosy with 4:4'-diaminodiphenyl sulfone in oil; findings in 100 cases treated for one year. *Internat J. Leprosy.* **1949**, 17, 197-210.
- Monteiro L.M., Lione V.F., do Carmo F.A., do Amaral L.H., da Silva J.H., Nasciutti L.E., Rodrigues C.R., Castro H.C., de Sousa V.P. and Cabral L.M. Development and characterization of a new oral dapsone nanoemulsion system: permeability and *in silico* bioavailability studies. *International Journal of Nanomedicine.* **2012**, 7, 5175-5182.
- Mukherjee T. and Plakogiannis F.M. Development and oral bioavailability assessment of a supersaturated self-microemulsifying drug delivery system (SMEDDS) of albendazole. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, **2010**, 62, 1112-1120.

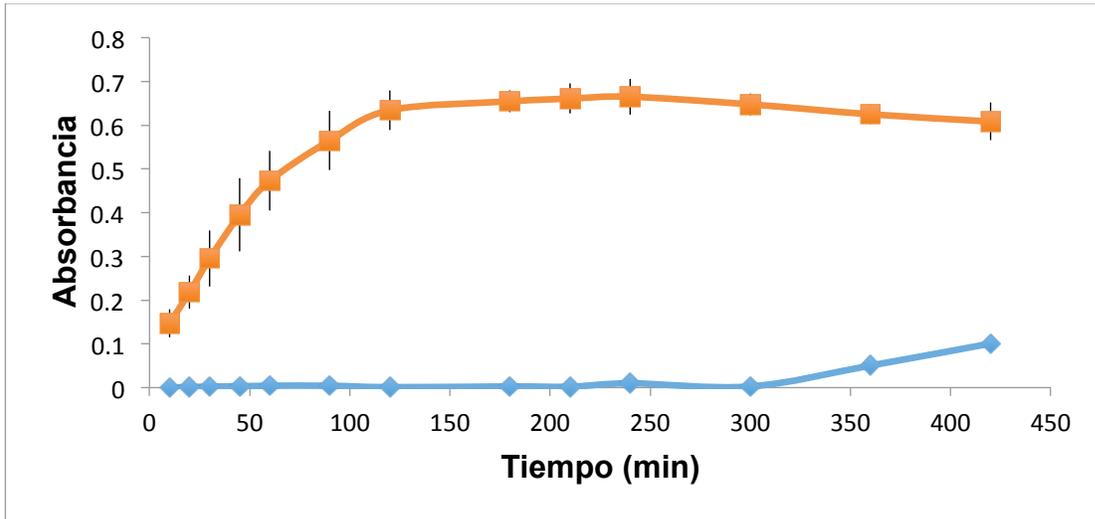
- Nazari-Vanani R., Moezi L. and Heli H. *In vivo* evaluation of a self-nanoemulsifying drug delivery system for curcumin. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. **2017**, 88, 715-720.
- Norma Oficial Mexicana NOM-027-SSA2-2007 Para la prevención y control de la lepra.
- Nornoo A.O., Zheng H., Lopes L.B., Johnson-Restrepo B. Kannan K. and Reed R. Oral microemulsions of paclitaxel: In situ and pharmacokinetic studies. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. **2009**, 71, 310-317.
- Oh, H.D., Kang, H.J., Kim, W.D., Lee, J.B., Kim, O.J., Yong, S.C., and Choi, G.H. Comparison of solid self-microemulsifying drug delivery system (solid SMEDDS) prepared with hydrophilic and hydrophobic solid carrier. *Int. J. Pharm.* **2011**, 420, 412 – 418.
- Organización Mundial de la Salud
- Patel M.V. and Chen F.J. Compositions and methods for improved delivery of hydrophobic agents *US Patent 6451339*, **2002**.
- Pieters F.A. and Zuidema J. The pharmacokinetics of dapsone after oral administration to healthy volunteers. *Br J Clin Pharmacol* **1986**, 22, 491-494.
- Pieters F.A. and Zuidema J. The absolute oral bioavailability of dapsone in dogs and humans. *Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol*. **1987a**, 25, 396-400.
- Pieters F.A. Vincken B.J. Zuidema J: Dapsone and monoacetyldapsone determined in serum and saliva by a sensitive high-performance liquid chromatographic method with a single extraction step. *Journal of Chromatography*. **1987b**, 422, 322-327.
- Pochopin N.L., Charman W.N. and Stella V.J. Amino acid derivatives of dapsone as water-soluble prodrugs. *Int. J. Pharm.* **1995**, 121, 157-167.
- Porter C.J.H., Kaukonen A.M., Boyd B.J., Edwards G.A. and Charman W.N. Susceptibility to lipase-mediated digestion reduces the oral bioavailability of danazol after oral administration as a medium-chain lipid based microemulsion formulation, *Pharm. Res*. **2004**, 21, 1405–1412.
- Porter C.J.H., Pouton C.W., Cuine J.F. and Charman W.N. Enhancing intestinal drug solubilisation using lipid-based delivery systems. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2008**, 60, 673–691.
- Porter H.J.C., Trevaskis L.N. and Charman W.N. Lipids and lipid-based formulations: optimizing the oral delivery of lipophilic drugs. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2007**, 6, 231 – 248.
- Porter C.J., Pouton C.W., Cuine J.F. & Charman W.N. Enhancing intestinal drug solubilisation using lipid-based delivery systems. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2008**, 60, 673-691.
- Pouton C.W. Self emulsifying drug delivery systems: assessment of the efficiency of emulsification. *Int. J. Pharm.* **1985**, 27, 335-348.

- Pouton C.W. Lipid formulations for oral administration of drugs: nonemulsifying, self-emulsifying and 'self microemulsifying' drug delivery systems. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2000**, 11, 93–98.
- Pouton C.W. Formulation of poorly water-soluble drugs for oral administration: physicochemical and physiological issues and the lipid formulation classification system. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2006**, 29, 278–287.
- Pouton C.W. and Porter C.J. Formulation of lipid-based delivery systems for oral administration: materials, methods and strategies. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2008**, 60, 625-637.
- Ribeiro E.B., Honorio-França A.C., França E.L. and Soler M.A. Design and development of nanoemulsion system containing interferon gamma. *Protein & Peptide Letters.* **2016**, 23, 7.
- Routledge, Handbook of microemulsion Science and Technology. **2018**
- Sánchez-Saldaña L. Medicamentos Antiguos y Agentes en Dermatología. *Dermatología peruana.* **2008**, 18 (3).
- Shah N.H., Carvajal M.T., Patel C.I., Infeld M.H. and Malick A.W. Self-emulsifying drug delivery systems (SEDDS) with polyglycolyzed glycerides for improving in vitro dissolution and oral absorption of lipophilic drugs. *Int. J. Pharm.* **1994**, 106, 15-23.
- Shen H & Zhong M. Preparation and evaluation of self-microemulsifying drug delivery system containing atorvastatin. *Journal of Pharmacy and Pharmacology.* **2006**, 58, 1183-1191.
- Shepard CC. Combinations involving dapsone, rifampin, clofazimine, and ethionamide in the treatment of *M. leprae* infections in mice. *Int J Lepr Other Mycobact Dis.* **1976**,44, 135-139.
- Singh B., Bandopadhyay S., Kapil R., Singh R. and Katare O. Self-emulsifying drug delivery systems (SEDDS): Formulation development, characterization, and applications. *Crit. Rev. Ther. Drug.* **2009**, 26, 427-521.
- Sneddon I. and Wilkinson D. Subcorneal Pustular Dermatitis. *Br J Dermatol.* **1956**, 68, 385-394.
- Solans C. Izquierdo P. Nolla J. Azemar N. and Garcia-Celma M.J. Nano-emulsions. *Current Opinion in Colloid and Interface Science.* **2005**, 10, 102-110.
- Tadros T. Izquierdo P. Esquena J. and Solans C. Formation and stability of nanoemulsions. *Colloid Interface Sci.* **2004**, 108, 303-318.
- Thomas N., Holm R., Müllertz A. & Rades T. In vitro and in vivo performance of novel supersaturated self-nanoemulsifying drug delivery systems (super-SNEDDS). *Journal of*

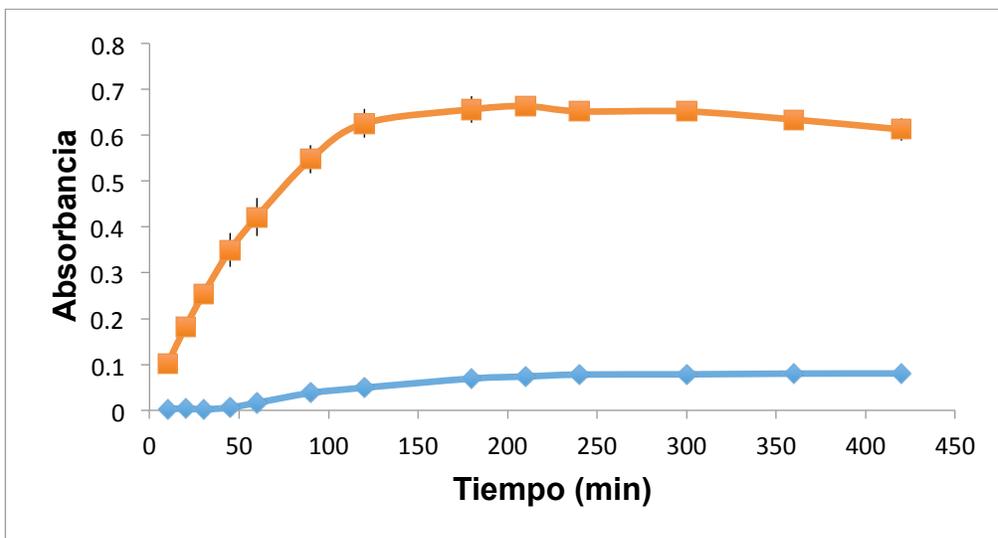
Control Release. **2012**, 160, 25-32.

- Thomas N., Holm R., Garmer M., Karlsson J., Müllertz A. & Rades T. Supersaturated self-nanoemulsifying drug delivery systems (Super-SNEDDS) enhance the bioavailability of the poorly water soluble drug Simvastatin in dogs. *The APPS Journal*. **2013**, 15, 219-227.
- Toro A., Vielma S., Petrosino P. & Milano M. Lepra lepromatosa. A propósito de un caso clínico. *Avances en Biomedicina*. **2014**, 3, 158-164.
- Una guía para el control de la lepra, 2ª ed. Madrid, Ministerio de Salud y Consumo, 1990, y OMS, Serie de Informes Técnicos, N° 768, 1988 (Comité de Expertos de la OMS en Lepra: sexto informe).
- Valdivia L. Sulfonas. *Dermatol peru*. **1996**; 6:28-36.
- Villar A.M., Naveros B.C., Campmany A.C., Trenchs M.A., Rocabert C.B and Bellowa L.H. Design and optimization of self-nanoemulsifying drug delivery systems (SNEDDS) for enhanced dissolution of gemfibrozil. *International Journal of Pharmaceutics*, **2012**, 431, 161-175.
- Wang L., Mutch K.J., Eastoe J., Heenan R.K. and Dong J. Nanoemulsions prepared by a two-step low-energy process. *Langmuir*. **2008**, 24, 6092-6099.
- Wang, L. Dong, J. Chen J. Eastone J. and Li X. Design and optimization of a new self-nanoemulsifying drug delivery system. *J. Colloid Interface Sci*. **2009**, 330, 443-448.
- Wozel G. The story of sulfones in tropical medicine and dermatology. *Int J Dermatol*. **1989**, 28, 17-21.
- Wolf R. Tüzün B. and Tüzün Y. Clinics in dermatology. **2000**, 18, 37-53.
- Yalkowsky S.H. Solubility and Solubilization in Aqueous Media. *American Chemical Society*. **1999**.
- Zhou S.F., Zhou Z.W., Yang L.P. and Cai JP: Substrates, inducers, inhibitors and structure-activity relationships of human Cytochrome P450 2C9 and implications in drug development. *Curr Med Chem*. **2009**, 16, 3480-675.
- Zhu Y.I. and Stiller M.J. Dapsone and sulfones in dermatology: Overview and update. *J Am Acad Dermatol*. **2001**, 45, 420-434.
- Zhu S., Hong M., Liu Ch. & Pei Y. Application of Box-Behnken design in understanding the quality of genistein self-nanoemulsified drug delivery systems and optimize its formulation. *J. Pharm. Dev. Tech*. **2009**, 14.
- Zuidema J., Hilbers-Modderman E.S. and Merkus F.W. Clinical pharmacokinetics of dapsone. *Clin Pharmacokinet*. **1986**, 11, 299-315.

13. Anexos



Anexo 1. Comparación de los perfiles de liberación de las formulaciones correspondientes a F6 en presencia (-) o ausencia (-).



Anexo 2. Comparación de los perfiles de liberación de las formulaciones correspondientes a F7 en presencia (-) o ausencia (-).



**VOTO APROBATORIO
PROGRAMA DE POSGRADO EN FARMACIA
FACULTAD DE FARMACIA, UAEM**

Nombre del alumno: Nancy Sarahy Gaytán Barrientos

Título de la tesis: "Desarrollo y caracterización de una formulación autoemulsificante para Dapsona"

Grado a obtener:

Maestría en Farmacia
 Doctorado en Farmacia

Miembro del jurado: Dra. Virginia Flores Morales

La tesis fue leída y se le hicieron las observaciones pertinentes, de tal forma que mi decisión es:

La tesis:

Si se aprueba tal como se presenta
 Se rechaza

Observaciones (solo en caso de rechazo):


Firma del miembro del jurado

19/03/2019

Fecha



**VOTO APROBATORIO
PROGRAMA DE POSGRADO EN FARMACIA
FACULTAD DE FARMACIA, UAEM**

Nombre del alumno: Nancy Sarahy Gaytán Barrientos

Título de la tesis: "Desarrollo y caracterización de una formulación autoemulsificante para Dapsona"

Grado a obtener:

Maestría en Farmacia
 Doctorado en Farmacia

Miembro del jurado: Dr. Jorge Armando Moreno Escobar

La tesis fue leída y se le hicieron las observaciones pertinentes, de tal forma que mi decisión es:

La tesis:

Si se aprueba tal como se presenta
 Se rechaza

Observaciones (solo en caso de rechazo):

Jorge A. Moreno E.
Dr. Jorge Armando Moreno Escobar
Firma del miembro del jurado

22MA419
Fecha



**VOTO APROBATORIO
PROGRAMA DE POSGRADO EN FARMACIA
FACULTAD DE FARMACIA, UAEM**

Nombre del alumno: Nancy Sarahy Gaytán Barrientos

Título de la tesis: "Desarrollo y caracterización de una formulación autoemulsificante para Dapsona"

Grado a obtener:

Maestría en Farmacia
 Doctorado en Farmacia

Miembro del jurado: Dra. Karina Mondragón Vásquez

La tesis fue leída y se le hicieron las observaciones pertinentes, de tal forma que mi decisión es:

La tesis:

Si se aprueba tal como se presenta
 Se rechaza

Observaciones (solo en caso de rechazo):

Firma del miembro del jurado

17 de mayo del 2019
Fecha



**VOTO APROBATORIO
PROGRAMA DE POSGRADO EN FARMACIA
FACULTAD DE FARMACIA, UAEM**

Nombre del alumno: Nancy Sarahy Gaytán Barrientos

Título de la tesis: "Desarrollo y caracterización de una formulación autoemulsificante para Dapsona"

Grado a obtener:

Maestría en Farmacia
 Doctorado en Farmacia

Miembro del jurado: Dra. Adriana Valladares Méndez

La tesis fue leída y se le hicieron las observaciones pertinentes, de tal forma que mi decisión es:

La tesis:

Si se aprueba tal como se presenta
 Se rechaza

Observaciones (solo en caso de rechazo):

Adriana Valladares Méndez
Firma del miembro del jurado

22 may 19
Fecha



**VOTO APROBATORIO
PROGRAMA DE POSGRADO EN FARMACIA
FACULTAD DE FARMACIA, UAEM**

Nombre del alumno: Nancy Sarahy Gaytán Barrientos

Título de la tesis: "Desarrollo y caracterización de una formulación autoemulsificante para Dapsona"

Grado a obtener:

Maestría en Farmacia
 Doctorado en Farmacia

Miembro del jurado: Dr. Sergio Alcalá Alcalá

La tesis fue leída y se le hicieron las observaciones pertinentes, de tal forma que mi decisión es:

La tesis:

Si se aprueba tal como se presenta
 Se rechaza

Observaciones (solo en caso de rechazo):


Firma del miembro del jurado

22-Mayo-2019
Fecha